

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA

MARCIA BENACCHIO GIACAGLIA

**COMPOSIÇÃO DA LIPOPROTEÍNA DE DENSIDADE ALTA (HDL) E
SUA CAPACIDADE EM REMOVER COLESTEROL CELULAR ESTÃO
ASSOCIADAS AO RISCO REDUZIDO DE DESENVOLVIMENTO DE
ARTRITE REUMATOIDE ATIVA**

São Paulo

2024

MARCIA BENACCHIO GIACAGLIA

**COMPOSIÇÃO DA LIPOPROTEÍNA DE DENSIDADE ALTA (HDL) E
SUA CAPACIDADE EM REMOVER COLESTEROL CELULAR ESTÃO
ASSOCIADAS AO RISCO REDUZIDO DE DESENVOLVIMENTO DE
ARTRITE REUMATOIDE ATIVA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina da Universidade Nove de Julho, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Medicina.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marisa Passarelli

São Paulo

2024

Giacaglia, Marcia Benacchio.

Composição da lipoproteína de densidade alta (HDL) e sua capacidade em remover colesterol celular estão associadas ao risco reduzido de desenvolvimento de artrite reumatoide. / Marcia Benacchio Giacaglia. 2024.

103 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2024.

Orientador (a): Profa. Dra. Marisa Passarelli.

1. Artrite reumatoide. 2. HDL. 3. Inflamação. 4. Aterosclerose. 5. Efluxo de colesterol.

I. Passarelli, Marisa.

II. Título.

CDU 615.8

São Paulo, 27 de novembro de 2024.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluna: **MÁRCIA BENACCHIO GIACAGLIA**

Título da tese: **COMPOSIÇÃO DA LIPOPROTEÍNA DE DENSIDADE ALTA (HDL) E SUA CAPACIDADE EM REMOVER COLESTEROL CELULAR ESTÃO ASSOCIADAS AO RISCO REDUZIDO DE DESENVOLVIMENTO DE ARTRITE REUMATOIDE ATIVA.**

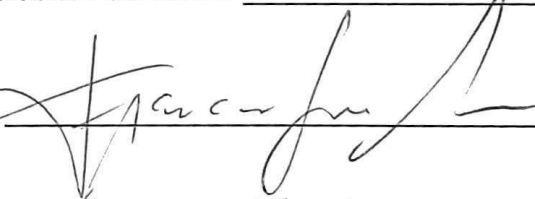
Presidente: PROFA. DRA. MARISA PASSARELLI



Membro: PROFA. DRA. FERNANDA MARCIANO CONSOLIM COLOMBO



Membro: PROF. DR. FRANCISCO GARCIA SORIANO



Membro: PROFA. DRA. ROSILENE MOTTA ELIAS



Membro: PROFA. DRA. MARIA LUCIA CARDILLO CORRÊA GIANELLA



Dedico esta tese a Deus, pelos milagres em minha vida; aos meus pais, Nelson e Edi, pelos exemplos de caráter e de trabalho, e por sempre ensinarem o valor do estudo; ao Amor e parceiro da minha vida, Luciano, pelo amor, compreensão e estímulo; aos meus irmãos e melhores amigos, Marcelo e Marcos, pelo apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar a minha profunda gratidão a todas estas pessoas que contribuíram para a conclusão desta tese:

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Marisa Passarelli, por sua orientação excepcional, conselhos valiosos e apoio constante ao longo desta jornada. Seu imenso conhecimento e grande experiência me incentivaram em todos os momentos da minha pesquisa acadêmica e são inspiração em minha vida diária.

Aos professores do departamento de pós-graduação em medicina da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) por seu ensino e disponibilidade, e em especial ao Prof. Dr. Cleber Pinto Camacho, cuja experiência e orientação em bioestatística foram fundamentais na execução desta tese.

À Dr^a. Perola Goberstein Lerner, médica reumatologista e coordenadora do serviço de reumatologia do Hospital do Servidor Público Municipal (HSPM), pela ajuda no recrutamento dos participantes com artrite reumatoide deste estudo; e à biomédica Sibelle D Elia Fernandes, coordenadora do laboratório de análise clínicas do HSPM.

Ao Laboratório de Lípidos (LIM10) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo acesso aos equipamentos e recursos essenciais que tornaram possível a minha pesquisa. Gratidão especial às queridas Monique Mello, Valeria Nunes e Claudia Cristina de Souza pela inestimável ajuda.

À aluna de iniciação científica Vitória Pires Félix, pelo valioso apoio na coleta de dados e de material dos participantes deste estudo.

À Dr^a. Mozânia Reis (UNINOVE e UBS Dra. Ilza W. Hutzler), pela ajuda no recrutamento dos voluntários saudáveis.

Aos colegas médicos da Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo, pelo apoio e incentivo, em especial ao Dr. Marcos Issamu Harunari.

À Universidade Nove de Julho (UNINOVE) pelo fornecimento de bolsa de estudos.

À minha família pelo apoio inabalável e aos meus amigos pela compreensão e paciência durante os momentos de realização da tese.

A todos os voluntários que participaram da pesquisa, minha sincera admiração e eterna gratidão.

RESUMO

Giacaglia MB. Composição da lipoproteína de densidade alta (HDL) e sua capacidade em remover colesterol celular estão associadas ao risco reduzido de desenvolvimento de artrite reumatoide ativa. Na artrite reumatoide (AR), o risco de morte cardiovascular é 50% maior em comparação à população geral. Este risco aumentado deve-se, em parte, à inflamação sistêmica característica da AR e às alterações no perfil de lipoproteínas. Este estudo investigou as concentrações lipídicas plasmáticas, a composição e funcionalidade da lipoproteína de densidade alta (HDL) em indivíduos com AR com base no escore inflamatório da doença (DAS28) e em indivíduos controle. A HDL foi isolada do plasma, por ultracentrifugação, de indivíduos com AR ($n=56$) e indivíduos controles (CTR; $n=50$) pareados por idade, sexo e índice de massa corporal (IMC). Dos 56 participantes com AR, 13 (23%) estavam em remissão/baixa atividade da doença e 43 (77%) com doença ativa. Os lipídes plasmáticos (colesterol total, CT; triglicérides, TG) e a composição da HDL (CT; TG; fosfolipídes, FL) foram determinados por métodos enzimáticos; apolipoproteína B (apoB) e apolipoproteína A-1 (apoA-1) foram medidas por imunoturbidimetria. Macrófagos diferenciados a partir de células obtidas da medula óssea de camundongos foram sobrecarregados com colesterol e, a seguir, expostos à HDL dos indivíduos dos grupos AR e controle, por 24 h. Após lavagem, as células foram incubadas com lipopolissacarídeos (LPS), como insulto inflamatório, por 24 h. As concentrações de interleucina-6 (IL-6) e de fator de necrose tumoral (TNF) foram determinadas no meio de cultura por ELISA. A remoção de colesterol celular pela HDL foi determinada em macrófagos previamente sobrecarregados com colesterol e ^{14}C -colesterol. As comparações foram feitas pelo teste de Mann-Whitney e regressão logística binária foi utilizada para identificar os preditores para AR ativa. O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. As concentrações plasmáticas de lipoproteína de densidade baixa (LDLc), apolipoproteína B (apoB) e TG, e a razão TG/HDLc foram semelhantes entre os grupos AR e CTR. As concentrações plasmáticas de CT e HDLc; a razão CT/apoB; o conteúdo da HDL em FL e em apoA-1 foram maiores nos indivíduos com AR em comparação ao grupo CTR. Indivíduos com doença ativa exibiram valores mais elevados de TG e razão TG/HDLc; e valores mais baixos do HDLc, razão CT/apoB, e conteúdo da HDL em CT e apoA-1, em comparação com

aqueles com AR de remissão/baixa atividade. Concentrações aumentadas do HDLc [*odds ratio* (OR) 0,931; IC 95% = 0,882–0,984], CT/apoB (OR 0,314; IC 95% = 0,126–0,78), conteúdo da HDL em CT (OR 0,912; IC 95% = 0,853–0,976), FL (OR 0,973; IC 95% = 0,947–1,000) e apoA-1 (OR 0,932; IC 95% = 0,882–0,985) foram associados à diminuição do risco para doença ativa, enquanto IMC (OR 1,169; IC 95% = 1,004–1,360) e TG (OR 1,031; IC 95% = 1,005–1,057) foram positivamente associados à doença ativa. Não foram observadas diferença nas concentrações de IL-6 e TNF entre os grupos. Redução no efluxo de colesterol mediado pela HDL aumentou o OR para AR ativa em 26,2%. As concentrações plasmáticas do HDLc, juntamente com a composição e funcionalidade da HDL, influenciam o escore inflamatório na AR e podem potencialmente afetar o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

Palavras-chave: artrite reumatoide; HDL; inflamação; aterosclerose; efluxo de colesterol

ABSTRACT

Giacaglia MB. High-density lipoprotein (HDL) composition and its ability to remove cellular cholesterol are associated with reduced risk of developing active rheumatoid arthritis. In rheumatoid arthritis (RA), the risk of cardiovascular death is 50% higher compared to the general population. This increased risk is partly due to the systemic inflammation characteristic of RA and changes in the lipoprotein profiles. This study investigated plasma lipid levels, lipid ratios, and the composition and functionality of high-density lipoprotein (HDL) in control individuals and RA subjects based on the disease's inflammatory score (DAS28). HDL was isolated from fasting plasma by ultracentrifugation from individuals with RA ($n=56$) and control individuals ($n=50$) matched by age, sex and body mass index (BMI). Of the 56 participants with RA, 13 (23%) were in remission/low disease activity and 43 (77%) had active disease. Plasma lipids (total cholesterol, TC; triglycerides, TG) and HDL composition (TC; TG; phospholipids, PL) were determined using enzymatic methods; apolipoprotein B (apoB) and apolipoprotein A-1 (apoA-1), by immunoturbidimetry. Macrophages differentiated from cells obtained from the bone marrow of mice were loaded with cholesterol and then exposed to HDL from individuals in the RA and control groups for 24 h. After washing, the cells were incubated with lipopolysaccharides (LPS), as an inflammatory insult, for 24 h. The concentration of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor (TNF) was determined in the culture medium by ELISA. Cellular cholesterol removal by HDL was determined in macrophages previously overloaded with cholesterol and ^{14}C -cholesterol. Comparisons were made using the Mann–Whitney test, and binary logistic regression was used to identify the predictors of active RA. A p -value < 0.05 was considered significant. Plasma concentrations of low-density lipoprotein (LDLc), apoB and TG, and TG/HDLc were similar between the RA and CTR groups. Higher plasma concentrations of TC and HDLc, TC/apoB, and higher content of PL and apoA-1 in HDL were observed in total RA group. Subjects with active disease exhibited higher levels of TG and the TG/HDLc ratio; and lower levels of HDLc, the TC/apoB ratio, and TC and apoA-1 content in HDL particles compared to those with remission/low-activity RA. Increased levels of HDLc [odds ratio (OR) 0.931, 95% CI = 0.882–0.984], TC/apoB (OR 0.314, 95% CI = 0.126–0.78), and HDL particle content in TC (OR 0.912, 95% CI = 0.853–0.976), PL (OR 0.973, 95% CI = 0.947–1.000), and

apoA-1 (OR 0.932, 95% CI = 0.882–0.985) were associated with a decreased risk of active disease, but BMI (OR 1.169, 95% CI = 1.004–1.360) and TG (OR 1.031, 95% CI = 1.005–1.057) were positively associated with active disease. There was no difference in IL-6 and TNF concentrations between the groups. A reduction in HDL-mediated cholesterol efflux increased the OR for active RA by 26.2%. The plasma levels of HDLc, along with the composition and functionality of HDL, influence the inflammatory score in RA and may affect the development of cardiovascular disease.

Keywords: rheumatoid arthritis; HDL; inflammation; atherosclerosis; cholesterol efflux

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Artrite reumatoide e aterosclerose	16
Figura 2 – Comprometimento articular na artrite reumatoide	18
Figura 3 – Composição da HDL	21
Figura 4 – Transporte reverso do colesterol (TRC)	23
Figura 5 - Funcionalidade da lipoproteína de densidade alta	25
Figura 6 – Concentrações de IL-6 e de TNF nos grupos CTR e AR, e nos grupos AR com doença em remissão/baixa atividade da doença ($DAS28 < 3,2$) e com doença ativa ($DAS28 \geq 3,2$)	52
Figura 7 – Efluxo de colesterol mediado pela HDL nos grupos CTR e AR, e nos grupos AR com doença em remissão/baixa atividade da doença ($DAS28 < 3,2$) e com doença ativa ($DAS28 \geq 3,2$)	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Idade, dados antropométricos e clínicos dos grupos CTR e AR	43
Tabela 2 – Índice DAS28 no grupo AR ($n = 56$)	44
Tabela 3 – Medicamentos utilizados no grupo AR	45
Tabela 4 – Idade, dados antropométricos e clínicos dos grupos AR em remissão/baixa atividade da doença e com doença ativa	46
Tabela 5 – Índice DAS28 nos grupos AR em remissão/ baixa atividade da doença e com doença ativa	47
Tabela 6 – Perfil lipídico dos grupos CTR e AR	48
Tabela 7 – Perfil lipídico dos grupos AR em remissão/baixa atividade de doença e com doença ativa	49
Tabela 8 – Composição da HDL nos grupos CTR e AR	50
Tabela 9 – Composição da HDL nos grupos AR em remissão/baixa atividade de doença e com doença ativa	51
Tabela 10 – Modelo de regressão logística binária para o grupo AR com doença ativa	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCA-1.	Transportador cassete ligado ao trifosfato de adenosina, subfamília ABCA, membro 1
ABCG-1	Transportador cassete ligado ao trifosfato de adenosina, subfamília ABCG, membro 1
ACR	Colégio Americano de Reumatologia
Anti-CCP	Anticorpos contra peptídeo citrulinado cíclico
ApoA-1	Apolipoproteína A-1
ApoA-2	Apolipoproteína A-2
ApoA-4	Apolipoproteína A-4
ApoB	Apolipoproteína B
ApoC	Apolipoproteína C
ApoE	Apolipoproteína E
ApoM	Apolipoproteína M
AR	Artrite reumatoide
ATF3	Fator ativador de transcrição 3
CA	Circunferência abdominal
CD-36	Cluster de diferenciação 36 – membro do receptor <i>scavenger</i> classe B
CEC	Capacidade de efluxo de colesterol
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CETP	Proteína de transferência de colesterol esterificado
CT	Colesterol total
CTR	Controle
DAS28	Escore de atividade da doença com contagem de 28 articulações
DCV	Doença cardiovascular
DMCD	Drogas modificadoras do curso da doença
EDTA	Ácido etileno-diamino-tetra-acético
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
EULAR	Aliança Europeia de Associações de Reumatologia
FL	Fosfolípides

FR	Fator reumatoide
FXR	Receptor farnesóide X
HDL	Lipoproteína de densidade alta
HDLc	Colesterol na lipoproteína de densidade alta
HLA	Antígeno leucocitário humano
ICAM-1	Molécula 1 de adesão intercelular
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-18	Interleucina 18
IMC	Índice de massa corporal
JAK/STAT3	Janus quinase/Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3
LCAT	Lecitina colesterol aciltransferase
LDL	Lipoproteína de densidade baixa
LDLc	Colesterol na lipoproteína de densidade baixa
LES	Lúpus eritematoso sistêmico
LOX-1	Receptor-1 da lipoproteína de densidade baixa (LDL) oxidada do tipo lectina
Lp(a)	Lipoproteína (a)
LPL	Lipoproteína lipase
LPS	Lipopolissacarídeos
MDL	Microdomínios lipídicos
MHC-2	Complexo principal de histocompatibilidade de classe 2
MPO	Mieloperoxidase
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatase
NFκB	Fator nuclear K B
NLRP3	Proteína receptora semelhante a NOD
NOD	Domínio de ligação e oligomerização de nucleotídeos
PBS	Tampão fosfato
PCR	Proteína C reativa
PCSK9	Pró-proteína convertase subtilisina quexina tipo 9
PLTP	Proteína de transferência de fosfolípidos
PON1	Paraoxonase 1
PPAR	Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma

RCV	Risco cardiovascular
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RXR	Receptor do retinoide X
S1P	Esfingosina-1-fosfato
SAA	Amiloide A sérico
sPLA2	Fosfolipase A2 secretora
SR-B1	Receptor <i>scavenger</i> classe B tipo 1
TG	Triglicérides
TLR	Receptor <i>toll-like</i>
TNF	Fator de necrose tumoral
TRC	Transporte reverso de colesterol
VCAM-1	Molécula 1 de adesão celular vascular
VHS	Velocidade de hemossedimentação
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 ARTRITE REUMATOIDE	17
1.2 LIPOPROTEÍNAS DE DENSIDADE ALTA	20
1.3 ARTRITE REUMATOIDE, LIPOPROTEÍNAS DE DENSIDADE ALTA E DOENÇA CARDIOVASCULAR	28
2. JUSTIFICATIVA	34
3. OBJETIVOS	35
4. MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1 CASUÍSTICA	36
4.2 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS E DEMAIS DADOS CLÍNICOS	37
4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA DOS INDIVÍDUOS COM ARTRITE REUMATOIDE	38
4.4 COLETA DE SANGUE E PROCESSAMENTO	38
4.5 DOSAGENS BIOQUÍMICAS	39
4.6 ISOLAMENTO DAS LIPOPROTEÍNAS	39
4.7 ACETILAÇÃO DA LIPOPROTEÍNA DE DENSIDADE BAIXA (LDL)	39
4.8 OBTENÇÃO DE MACRÓFAGOS DA MEDULA ÓSSEA DE CAMUNDONGOS	40
4.9 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DA HDL EM MACRÓFAGOS	41
4.10 DETERMINAÇÃO DA REMOÇÃO DE COLESTEROL DE MACRÓFAGOS PELA HDL	41
4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
5. RESULTADOS	43
5.1 CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS E CLÍNICAS	43
5.2 PERFIL LIPÍDICO	47
5.3 COMPOSIÇÃO DA HDL	50
5.4 FUNÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DA HDL	51
5.5 ELUXO DE COLESTEROL MEDIADO PELA HDL	52
5.6 PREDITORES PARA ARTRITE REUMATOIDE ATIVA	54
6. DISCUSSÃO	55

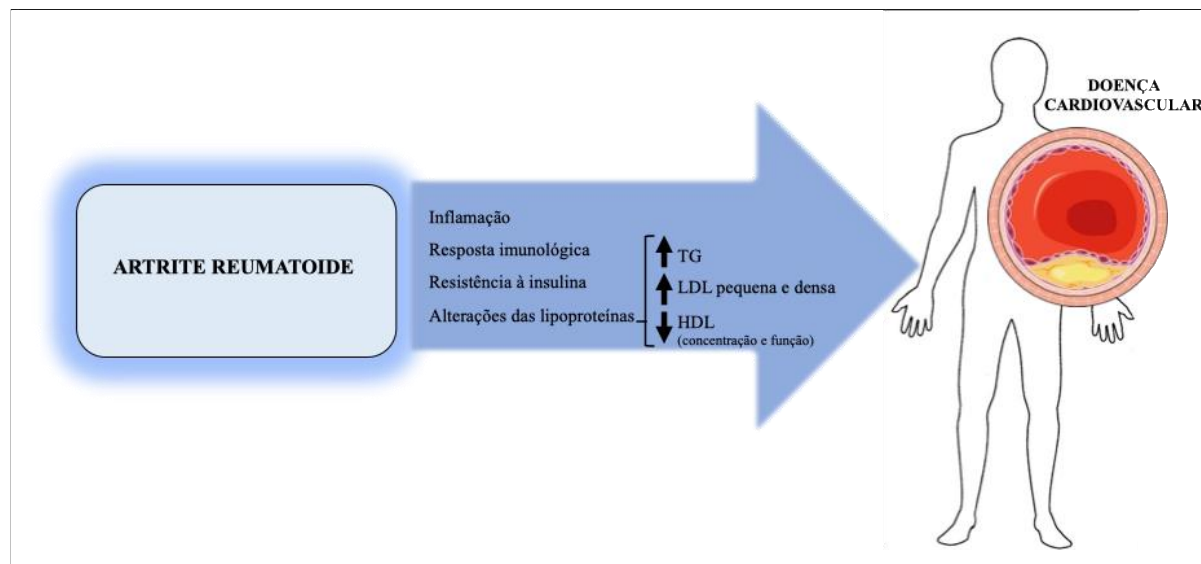
7. CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXO A – APROVAÇÕES DOS COMITÊS DE ÉTICA	75
ANEXO B – TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	90
ANEXO C – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	102
ANEXO D – FOLHA DE AVALIAÇÃO PARA O CÁLCULO DO DAS28 APLICADA AOS PARTICIPANTES DO GRUPO AR	103

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares, representadas principalmente pelo infarto do miocárdio e pelo acidente vascular encefálico, são as principais causas do aumento da mortalidade visto nos indivíduos com artrite reumatoide (AR). Diversos fatores contribuem para o aumento da morbimortalidade cardiovascular nesta condição, particularmente a agregação de fatores de risco clássicos para doença cardiovascular (DCV) e inflamação crônica. Os fatores de risco tradicionais, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, obesidade, tabagismo e sedentarismo, são parcialmente responsáveis pelo excesso de risco para DVC observado nos indivíduos com AR¹.

As alterações no perfil de lípidos e de lipoproteínas plasmáticas modulam o risco cardiovascular, por atuarem como fatores de risco primários para a aterosclerose. Em particular, o conteúdo de colesterol das lipoproteínas de densidade alta (HDLc) associa-se negativamente ao risco cardiovascular, por traduzir a habilidade das HDL em remover colesterol da íntima arterial. Além disso, as HDL exercem outras ações antiaterogênicas que incluem sua habilidade em minimizar a oxidação das lipoproteínas de densidade baixa (LDL), favorecer a vasodilatação dependente do endotélio e inibir a inflamação (figura 1).

Figura 1 - Artrite reumatoide e aterosclerose



Fonte: Partes da figura foram obtidas em <https://smart.servier.com>. A artrite reumatoide está associada com risco elevado para doença cardiovascular. Isto é impulsionado principalmente por inflamação crônica, resposta autoimune exacerbada, resistência à insulina e alterações nos perfis lipídicos plasmáticos. Essas anormalidades lipídicas são caracterizadas por aumento da concentração plasmática de triglicérides (TG), formação de partículas de LDL pequenas e densas, redução das concentrações plasmáticas de colesterol da HDL e comprometimento da funcionalidade das partículas de HDL.

Diversos estudos populacionais clássicos, como o estudo Framingham, e estudos clínicos evidenciam associação inversa entre a concentração plasmática do HDLc e doença macrovascular coronariana²⁻⁵. Entretanto, vale ressaltar que trabalhos mais recentes, com terapia farmacológica para elevação do HDLc ou estudos de randomização mendeliana, mostraram que, em algumas circunstâncias, concentrações elevadas do HDLc não necessariamente se refletem em desfecho cardiovascular favorável. Ansell *et al.*⁶ evidenciaram que indivíduos com doença coronariana e HDLc elevado (≥ 84 mg/dL) tinham HDL não protetora, levando à suposição de que a avaliação da função da HDL pudesse ser um melhor preditor de aterosclerose que a medida padrão de sua concentração plasmática⁷. Estes achados sugerem que a função da HDL nem sempre se correlaciona com métricas clássicas de determinação do HDLc ou apolipoproteína A-1 (apoA-1) - o principal componente proteico da HDL -, dosadas na rotina clínica^{8,9}. Deste modo, considera-se a funcionalidade das HDL, refletida pelas ações descritas acima, as quais podem ser determinadas por outros componentes de sua estrutura.

O processo inflamatório permeia a fisiopatologia da AR, com picos de maior ou menor intensidade de acordo com o estágio da doença e seu grau de atividade

inflamatória. Neste aspecto, evidencia-se associação entre índices de atividade de doença mais elevados, ou seja, AR mais ativa, com maior inflamação, e presença de maior risco para DCV¹⁰.

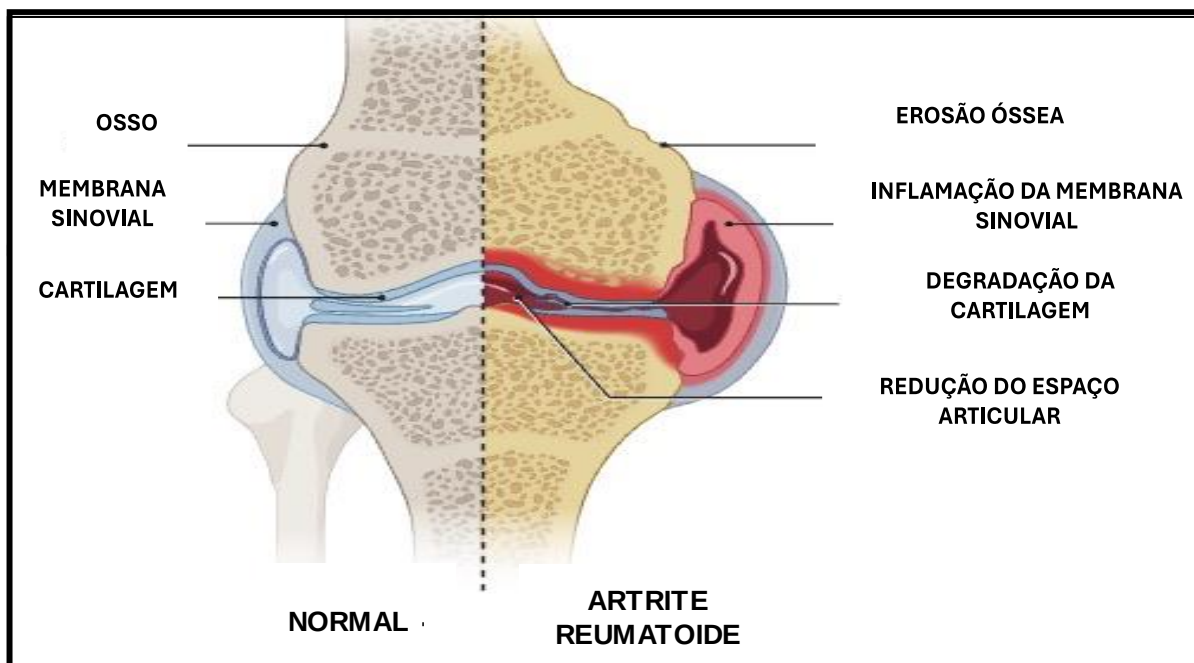
Em doenças inflamatórias, as funções antioxidante, anti-inflamatória e antitrombótica da HDL são comprometidas, independentemente do HDLc. Embora existam alguns estudos a respeito da função anti-inflamatória da HDL na AR, não há consenso nos seus achados, provavelmente devido às diferenças nas populações dos estudos e na metodologia utilizada. Não há concordância entre os trabalhos científicos se a capacidade antioxidante da HDL está significativamente comprometida nos indivíduos com AR em relação aos controles saudáveis. No entanto, parece que o grau da atividade inflamatória da doença leva à piora da função da HDL. Não há unanimidade, também, em relação à capacidade de efluxo do colesterol, se ela está reduzida na AR ou modificada pela inflamação e atividade da doença¹¹.

1.1 ARTRITE REUMATOIDE

A AR é uma doença autoimune cuja característica mais distinta é a poliartrite simétrica e erosiva crônica que afeta principalmente as mãos e os pés, e pode acometer as demais articulações sinoviais. Ela está associada à incapacidade física progressiva, complicações sistêmicas, morte precoce e elevados custos socioeconômicos. É uma das doenças autoimunes mais comuns, com prevalência em até 1% da população, nos países desenvolvidos^{12,13}. Há poucos dados epidemiológicos de AR em países em desenvolvimento¹². Um estudo brasileiro, baseado em amostras da população de 4 regiões do país (Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sul), relatou a prevalência de AR com variação entre 0,2% e 1% da população adulta nestas regiões^{14,15}. A AR é mais frequente em mulheres, afetando-as duas a três vezes mais que em homens, e acomete, principalmente, os indivíduos nas 4^{as.} a 6^{as.} décadas de vida¹⁴.

AAR é caracterizada pela inflamação e hiperplasia sinovial, pela produção dos autoanticorpos fator reumatoide (FR) e antipeptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP), destruição da cartilagem e do osso periarticular, e comprometimento sistêmico, com manifestações extra-articulares incluindo cardiovasculares, pulmonares, cutâneas, oculares, hematológicas, neurológicas e osteometabólicas^{16,17}(figura 2).

Figura 2 – Comprometimento articular na artrite reumatoide



Fonte: Adaptado de BioRender, 2024¹⁸. Comparação da articulação do joelho saudável (à esquerda na figura) com articulação acometida por artrite reumatoide (à direita na figura). Na artrite reumatoide, a hiperplasia das células sinoviais são acontecimentos iniciais em sua patogênese que levam à inflamação descomedida, com consequente destruição da cartilagem e do osso (erosão óssea), resultando em perda do espaço articular, o que resultará em limitação da mobilidade articular.

A etiologia da AR ainda é desconhecida, sendo que o complexo mecanismo patogênico foi apenas parcialmente elucidado. No desenvolvimento da AR, há uma intrincada ação de fatores ambientais, modificação epigenética e susceptibilidade genética, que deflagram uma reação autoimune. Portanto, acredita-se que em um indivíduo geneticamente susceptível à AR, fatores externos (tabagismo, poluição, infecção) possam ser o gatilho para o desenvolvimento da doença. Há alteração da regulação pós-transcricional, acarretando a perda da tolerância às proteínas autológicas, as quais contêm um resíduo citrulinado, por exemplo. Esta resposta anticitrulina ocorre por meio dos linfócitos T e B, e depois na medula óssea ou tecidos linfoides. Várias citocinas, quimiocinas e outros mediadores inflamatórios são anormalmente produzidos na AR, incluindo fator de necrose tumoral (TNF), interleucinas 1, 6 e 8 (IL-1, IL-6, IL-8), entre outros. Esta resposta inflamatória determina a hipertrofia sinovial e a inflamação articular crônica, podendo, também, ocorrerem manifestações extra-articulares por mecanismos que envolvem vias microvasculares, neurológicas e reações bioquímicas diretas. A sinovite é iniciada e mantida por retroalimentação positiva, deflagrando um processo inflamatório crônico,

levando à destruição de inúmeros tecidos, tais como, cartilagem, osso, tendões, ligamentos, e vasos sanguíneos, determinando assim alterações tanto articulares como sistêmicas¹⁹.

O diagnóstico da AR é baseado nos achados clínicos e nos exames laboratoriais e de imagem. Embora não exista um resultado de exame laboratorial que seja patognomônico para AR, a presença de FR e de anti-CCP é muito específica para a doença. Em 2010, o Colégio Americano de Reumatologia (ACR) e a Aliança Europeia de Associações de Reumatologia (EULAR) publicaram, em conjunto, critérios para a classificação da AR que ajudam a identificar casos precoces de AR e auxiliam a classificar indivíduos com AR, principalmente para uniformizar a inclusão destes indivíduos em diferentes estudos clínicos²⁰.

O prognóstico da AR é pior quando o diagnóstico e o tratamento são feitos tardiamente. A doença evolui geralmente com períodos intercalados de ativação e de remissão. Algumas pessoas apresentam um quadro leve e outras podem ter uma doença crônica progressiva. Sexo feminino, tabagismo, baixo nível socioeconômico, início da doença em idade mais jovem, altos títulos de FR e/ou de anticorpo anti-CCP, elevação persistente da velocidade de hemossedimentação (VHS) e/ou da proteína C reativa (PCR), acometimento de grande número de articulações, presença de manifestações extra-articulares, alta atividade da doença medida por um dos índices de atividade de doença (por exemplo, o *Disease Activity Score* em 28 articulações - DAS28), existência de erosões ósseas articulares precocemente, e presença de *shared epitope* (uma determinada sequência de aminoácidos em um dos alelos do locus DRB1 dos antígenos leucocitários humanos – HLA-DRB1, por exemplo) são fatores associados com pior prognóstico¹⁴.

Na AR há aumento da morbidade e mortalidade por doenças cardiovasculares. O risco cardiovascular na AR é aproximadamente 1,5 vezes maior que na população geral. Comparada com a população geral, a taxa de mortalidade é maior entre os sujeitos com AR¹⁹. Eles têm cerca de 50% maior risco de morte prematura e a expectativa de vida está diminuída em 3 a 10 anos²¹. Os indivíduos com AR têm 50% maior risco do que a população geral de morte por doenças cardiovasculares, principalmente por acidentes vasculares cerebrais e por doença cardíaca isquêmica, sem haver diferença entre os gêneros²². A doença cardiovascular é a principal causa desta maior mortalidade na AR, seguida por infecção, doença pulmonar e neoplasias. Os fatores de risco cardiovascular tradicionais, como obesidade, diabetes, tabagismo

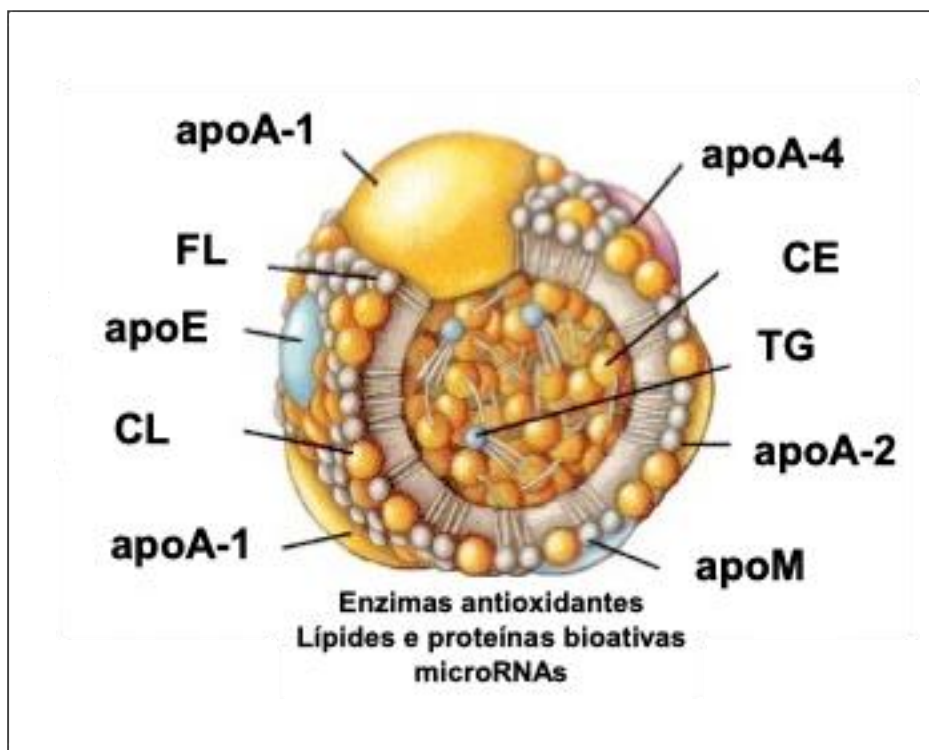
e hipertensão arterial sistêmica também estão presentes nos indivíduos com AR, e são responsáveis por cerca de 50% do risco total de DVC na AR²³. Indivíduos com AR apresentam risco aumentado para DCV, comparável ao risco dos indivíduos com diabetes mellitus²⁴. O tabagismo, além de ser um fator de risco clássico para aterosclerose, é associado com aumento de risco para o desenvolvimento da AR e pior prognóstico da AR, nos indivíduos com presença de anti-CCP e que apresentam alelos de epítomos compartilhados¹⁰.

O desenvolvimento de novas medicações biológicas para o tratamento da AR melhorou muito seu prognóstico. A estratégia de tratamento atual, que reflete este progresso, é iniciar terapia agressiva logo após o diagnóstico e escalonar a terapia norteando-se pela avaliação da atividade da doença, com o objetivo de atingir a remissão ou, ao menos, baixa atividade inflamatória da doença¹⁹. Esta estratégia terapêutica intensiva, para se atingir o alvo terapêutico (*treat to target*), visa reduzir de forma rápida e eficaz a inflamação crônica.

1.2 LIPOPROTEÍNAS DE DENSIDADE ALTA

As lipoproteínas de densidade alta (HDL) constituem uma classe heterogênea de partículas, predominantemente esféricas, cuja estrutura básica compreende um núcleo contendo lípidos apolares, como o colesterol esterificado (CE) e os triglicérides (TG), e uma camada externa composta por colesterol livre (CL), fosfolípidos (FL) e apolipoproteínas (figura 3). As apolipoproteínas estabilizam essas partículas, conferem solubilidade e afinidade a diversos receptores e são capazes de inibir ou ativar enzimas fundamentais neste metabolismo. As HDL são lipoproteínas mais ricas em proteínas e com menor conteúdo lipídico do que as outras lipoproteínas, e por isso têm maior densidade que as demais. Têm densidade entre 1,063 e 1,210 g/mL e, são as lipoproteínas plasmáticas menores (7,6 a 10,6 nm) e mais densas. São representadas por subpopulações de diferentes partículas que variam em forma, tamanho, carga de superfície, densidade, composição lipídica e de apolipoproteínas. Elas são divididas em subfrações com propriedades metabólicas diferentes: pré-beta-HDL, HDL₃ (menores e mais densas) e HDL₂ (maiores e menos densas)²⁵.

Figura 3 – Composição da HDL



Fonte: Adaptado de Forti N, Diament J. 2006²⁶. A partícula de HDL é formada por FL, CL e apolipoproteínas de superfície, sendo a principal delas a apoA-1, seguida de apoA-2, apoA-4, apoC, apoE e apoM. Em seu núcleo encontram-se CE e pequena quantidade de TG. Ela também carrega enzimas antioxidantes, lipídeos, proteínas bioativas e microRNAs. Abreviaturas: apoA-1, apolipoproteína A-1; apoA-2, apolipoproteína A-2; apoA-4, apolipoproteína A-4; apoE, apolipoproteína E; apoM, apolipoproteína M; CE, colesterol esterificado; CL, colesterol livre; FL, fosfolípide; TG, triglicérides.

As partículas nascentes de HDL, chamadas de pré-beta-HDL, são partículas discoidais pobres em lipídeos e constituídas principalmente de apoA-1, de FL e de CL liberados durante o remodelamento intravascular de lipoproteínas ricas em TG, o qual é mediado pela lipoproteína lipase (LPL). A partícula de HDL também é originada pela apoA-1 secretada pelo intestino e pelo fígado, ou dissociada das lipoproteínas, que capta colesterol e FL da célula²⁵.

A enzima lecitina colesterol aciltransferase (LCAT) transfere o ácido graxo do FL para o CL, esterificando o CL na pré-beta-HDL. O CE formado é hidrofóbico, portanto, ele é levado para o interior da partícula, formando partículas esféricas de HDL, chamadas HDL3²⁵. A esterificação do CL pela LCAT diminui o colesterol da superfície da HDL, ocasionando um gradiente de concentração que leva ao aumento da remoção do colesterol de membranas celulares²⁷.

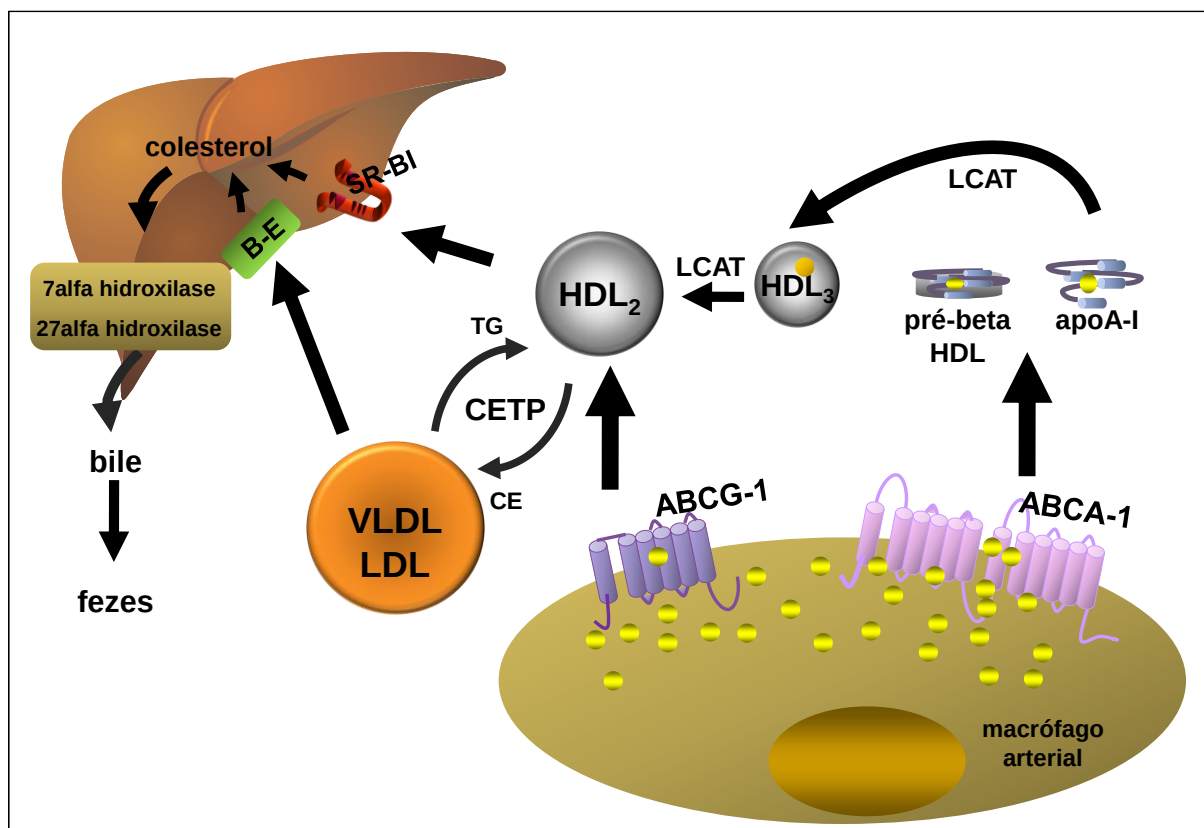
As principais apolipoproteínas das HDL são a apoA-1 e apoA-2, seguidas por apolipoproteína A-4 (apoA-4), apolipoproteínas C (apoC), E (apoE) e M (apoM). As HDL também transportam proteínas envolvidas em processos imunológicos, na coagulação e na inflamação. As HDL contêm proteínas proteolíticas (alfa-1-antitripsina), proteínas envolvidas com a hemostasia (alfa-2-HS-glicoproteína), proteínas envolvidas com a imunidade (proteína amiloide A sérica - SAA), proteínas envolvidas com a ativação do complemento (C3) e proteínas envolvidas com inflamação (haptoglobina)²⁸. Estas proteínas presentes nas partículas de HDL apontam a relevância das HDL na modulação dos processos de oxidação e inflamação.

A proteína que é marca registrada da membrana superficial da HDL é a apoA-1, inserida na camada externa de FL. A apoA-1 é sintetizada tanto pelo fígado como pelo intestino delgado e representa na HDL a principal responsável pela capacidade de efluxo de colesterol (CEC). A apoA-1 se liga a receptores de células e de outras lipoproteínas, promovendo um intercâmbio lipídico, além de interagir como cofator de diversas enzimas da superfície da HDL, associadas ao controle do metabolismo lipídico e da modulação de respostas imuno-inflamatórias^{25,27,29,30}.

A HDL é um fator de proteção para doença aterosclerótica. Ela tem papel chave no transporte reverso de colesterol (TRC), que é um dos responsáveis por esse efeito antiaterogênico. O TRC é o processo pelo qual o excesso de colesterol dos macrófagos da parede arterial é captado pela apoA-1 e pela HDL e, então transportado para o fígado para ser excretado como componente da bile^{28,29,31}. Além da eliminação hepatobiliar, identificou-se uma via alternativa, trans-intestinal, que efetua a excreção direta do plasma ao lúmen intestinal²⁹.

O TRC pode ser, didaticamente, dividido em 5 etapas: (1) efluxo do colesterol, onde o colesterol é retirado das células pela HDL; (2) transformação do CL em CE pela LCAT na HDL; (3) transferência de colesterol para lipoproteínas que contêm apolipoproteína B (apoB) pela proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP); (4) remodelação da HDL; e (5) recaptura do HDL colesterol pelo fígado e intestino através de receptores de lipoproteínas^{27,32} (figura 4).

Figura 4 – Transporte reverso do colesterol (TRC)



Fonte: Figura cedida por Passarelli, M. Acervo pessoal, 2022. ApoA-1 interage com o receptor ABCA-1 retirando o excesso de colesterol celular. Forma-se a pré-beta HDL e seu amadurecimento, devido à esterificação do colesterol, resulta no surgimento de partículas maiores de HDL (HDL3 e HDL2). As HDL₂ também retiram colesterol por meio do receptor ABCG-1. O colesterol esterificado (CE) na HDL pode ser transferido para lipoproteínas que contêm apoB, por intermédio da CETP. O CE da HDL é removido pelos receptores SR-B1, ou as lipoproteínas que contêm apoB são captadas pelos receptores B-E do fígado. Desta forma, o colesterol é eliminado na bile, na forma livre ou após conversão em ácidos biliares pelas enzimas 7- e 27-alfa hidroxilase, sendo excretado nas fezes. ABCA-1, transportador cassete ligado ao trifosfato de adenosina, subfamília ABCA, membro 1; ABCG-1, transportador cassete ligado ao trifosfato de adenosina, subfamília ABCG, membro 1; apoA-1, Apolipoproteína A-1; CETP, proteína de transferência de colesterol esterificado; LCAT, lecitina colesterol aciltransferase; SR-B1, receptor *scavenger* classe B tipo 1.

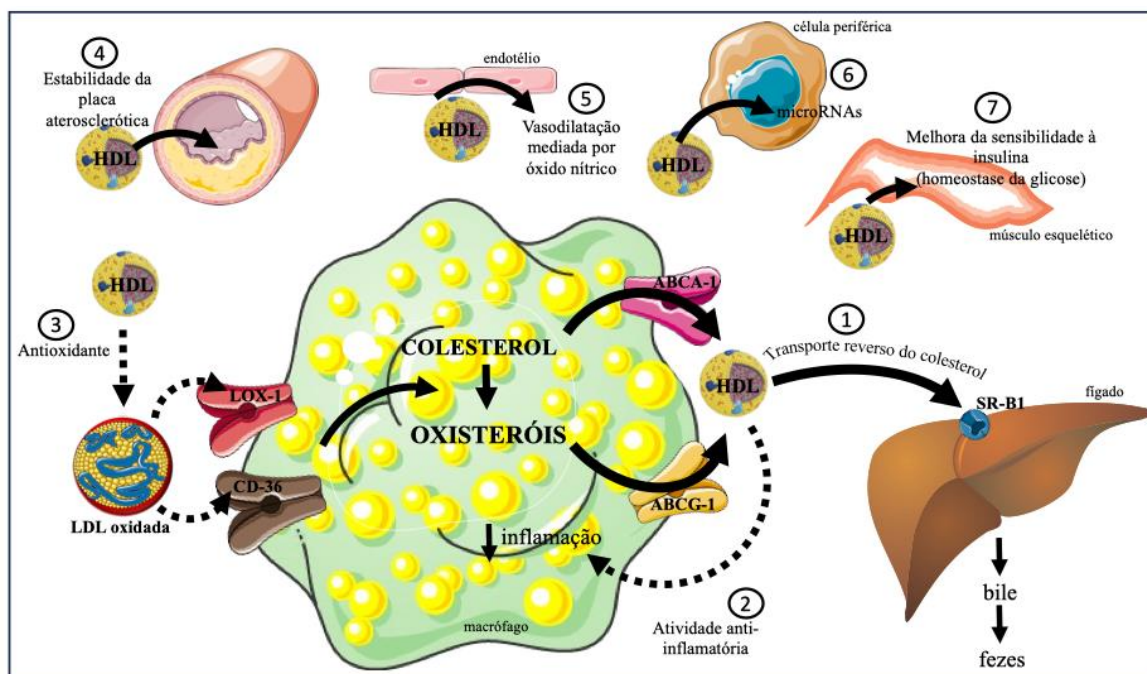
O efluxo de colesterol livre, ocorre por meio de 4 vias: (1) transporte ativo mediado pelo transportador cassete de ligação ao trifosfato de adenosina, subfamília ABCA, membro 1 (ABCA-1) para a apoA-1 pobre em lípidos; (2) transporte ativo mediado pelo transportador cassete de ligação ao trifosfato de adenosina, subfamília ABCG, membro 1 (ABCG-1) para HDL grandes e esféricas; (3) transporte passivo mediado pelo receptor *scavenger* classe B tipo I (SR-BI) para HDL esféricas; e (4) difusão aquosa passiva pela membrana celular^{25,29,33,34}.

Apesar de estudos correlacionarem inversamente a concentração do HDLc e risco cardiovascular (RCV), estratégias terapêuticas, almejando a elevação da HDL,

mostraram-se infrutíferas em termos preventivos^{35,36}. Nem sempre a elevação do HDLc representa benefício cardiovascular. No *Copenhagen City Heart Study* demonstrou-se que indivíduos com HDLc elevado apresentavam um aumento paradoxal da mortalidade por todas as causas³⁷. O benefício do HDLc parece ser proporcionalmente crescente, mas apenas até patamares ao redor de 80 a 90mg/dL pois, quando este limite é ultrapassado, o benefício deixa de existir. Tal aspecto determina uma curva em padrão “U”, onde os valores extremos da concentração do HDLc associam-se com RCV aumentado. Este padrão também é visto na associação do HDLc com a incidência de doenças infecciosas e autoimunes³⁸.

Em indivíduos saudáveis e de baixo RCV, verificou-se que o tamanho da partícula de HDL, mais que o valor absoluto do HDLc, era o parâmetro mais fidedigno para predizer a aterosclerose subclínica, quando avaliados pela presença de espessamento carotídeo ao ultrassom com doppler arterial. Partículas de HDL > 8,22 nm foram associadas à menor espessura da camada médio-intimal carotídea, definida como < 0,9 mm³⁹. Além da participação no TRC, a HDL possui outras atividades ateroprotetoras (figura 5), como a inibição da oxidação LDL, a inibição da quimiotaxia de monócitos e a prevenção da disfunção endotelial e da apoptose. Essas atividades antioxidante, anti-inflamatória, antiagregante, anticoagulante e pró-fibrinolítica são exercidas por diferentes componentes da HDL, como apolipoproteínas e enzimas^{40,41}.

Figura 5 - Funcionalidade da lipoproteína de densidade alta



Fonte: Partes da figura foram obtidas em <https://smart.servier.com>. A HDL desempenha várias funções que não podem ser inferidas apenas pela medição das concentrações plasmáticas do colesterol da HDL (HDLc) ou da apolipoproteína A-1. Estas funções associam a HDL à proteção cardiovascular e ao seu papel na fisiopatologia de diversas doenças crônicas e agudas. 1) A HDL medeia o transporte reverso do colesterol, removendo o excesso de colesterol celular e oxisteróis (inclusive de macrófagos infiltrados na íntima arterial), e promove seu tráfego para o fígado para eliminação pela bile e fezes; 2) diminui a resposta inflamatória ao minimizar a transcrição de genes inflamatórios; 3) reduz a oxidação da LDL, diminuindo sua captação pelos macrófagos; 4) estabiliza lesões ateroscleróticas por carregar inibidores de protease; 5) promove vasodilatação ao aumentar a liberação de óxido nítrico do endotélio; 6) transporta microRNAs e os entrega às células-alvo, regulando a expressão proteica; 7) apoia a homeostase glicêmica modulando positivamente a sensibilidade à insulina. Estas funções podem estar comprometidas na artrite reumatoide e contribuir para o risco para doença cardiovascular. ABCA-1, transportador de cassete de ligação ATP A-1; ABCG-1, transportador cassete ligado ao trifosfato de adenosina, subfamília ABCA, membro 1; CD-36, cluster de diferenciação 36 – membro do receptor scavenger classe B; LOX-1, receptor-1 da lipoproteína de densidade baixa (LDL) oxidada do tipo lectina; SR-B1, receptor scavenger classe B tipo 1.

A HDL se mostrou capaz de interferir na reorganização do citoesqueleto de monócitos, etapa esta que precede a migração destas células após o estímulo quimiotático. Ela modifica a diferenciação fenotípica e reduz a capacidade dos monócitos de se ligarem às moléculas de adesão da parede endotelial. A expressão do transportador cassete ligado ao trifosfato de adenosina, subfamília ABCA, membro 1 (ABCA1) em monócitos é ativada pela HDL, e inibida por IL-6, IL-1, interferon gama e o fator de crescimento derivado de plaquetas⁴².

A paraoxonase 1 (PON1) é uma enzima capaz de neutralizar as espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas por macrófagos ativos e, desta forma, reduz a oxidação do colesterol da lipoproteína de densidade baixa (LDLc), bem como a oxidação da própria HDL. A PON1 também participa na regulação do tônus arterial por estimular a óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), além de inibir proteínas de adesão endotelial, reduzir a apoptose de células endoteliais e aumentar o reparo da integridade endotelial a partir de precursores hematopoiéticos^{38,42,43}.

A esfingosina-1-fosfato (S1P) é um esfingolípide ativo, ancorado na HDL pela apolipoproteína M (apoM) potencializando sua ação e impedindo a ação de enzimas que degradam a apoM. A S1P reduz a apoptose de células endoteliais, promove vasodilatação por estímulo da eNOS e inibe a expressão endotelial da molécula 1 de adesão celular vascular (VCAM-1) e da molécula 1 de adesão intercelular (ICAM-1)⁴⁴. A S1P modula a proteína de fase aguda pentraxina 3, além de modificar a diferenciação de células linfocitárias e reduzir a ativação de células dendríticas, determinando assim um fenótipo anti-inflamatório^{38,45}. A S1P é capaz de inibir a produção da proteína quimio-atrativa de macrófagos 1, reduzir a geração de ROS, e bloquear a ativação oxidativa da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatase (NADPH)⁴⁶.

O efeito antioxidante da HDL pode ocorrer devido à sua capacidade em participar no processo de quelação de metais de transição e na retirada de produtos de oxidação lipídica de lipoproteínas oxidadas ou de membranas celulares. A habilidade de acumular hidroperóxidos lipídicos permite que a HDL atue como carreadoras destes compostos, removendo das LDL os produtos de sua oxidação e carregando-os até o fígado, onde são destoxificados⁴¹. A competência da HDL em inibir a oxidação da LDL pode ser atribuída à presença de proteínas e enzimas com capacidade antioxidante na HDL, como a apoA-1, PON1, LCAT e glutational peroxidase⁴¹.

Na membrana de todas as células encontramos os microdomínios lipídicos (MDL), que servem como plataforma para proteínas e receptores específicos, agrupados espacialmente para facilitar a interação com estímulos exógenos. Os MDL são ricos em esfingomiéline, gangliosídeos e colesterol livre, além de proteínas específicas compartimentalizadas nestes sítios da membrana celular. Nos MDL ancoram-se receptores de linfócitos e de diversos antígenos, incluindo o complexo principal de histocompatibilidade classe 2 (MHC-2)^{47,48}. A interação dos MDL das

células do sistema imunológico, incluindo monócitos e linfócitos T, com as partículas de HDL, pode levar à inibição da resposta imuno-inflamatória^{49,50}. A HDL e a apoA-1 mostraram-se capazes de inibir a ativação linfocitária, por extração do colesterol dos MDL de células apresentadoras de antígeno⁴⁸.

A HDL reduz a ativação dos receptores *toll-like* (TLR) nos MDL e aumenta a expressão do fator ativador de transcrição 3 (ATF3), inibindo a resposta imune, e é capaz de se conjugar aos lipopolissacarídeos (LPS), sequestrando-os e neutralizando-os, prevenindo assim a ativação de macrófagos. A ApoA-1 é capaz de prevenir a translocação do receptor de TNF nos MDLs, bloqueando a resposta aos TLR e inibindo a via do fator nuclear kappa B (NFκB). E, por sua ligação ao ABCA-1 dos macrófagos, potencializa a transdução da via janus quinase/transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (JAK/STAT3), que em última análise, suprime a liberação de citocinas⁴².

A capacidade anti-inflamatória da HDL ocorre em vários tipos de células, tais como células endoteliais e macrófagos. Nas células endoteliais, a HDL inibe a inflamação ao diminuir a ativação do fator nuclear KB (NF-KB) e da 3beta-hidroxiesteroide-alfa 24 redutase, ao ativar a enzima citoprotetora heme oxigenase-1 e ao inibir a ativação do inflamassoma²⁸.

Estudos iniciais evidenciaram os efeitos anti-inflamatórios da HDL, mas trabalhos recentes têm mostrado que a apoA-1 e a HDL também podem ser pró-inflamatórias. No processo inflamatório observa-se na HDL uma parcial substituição de ApoA-1 por proteínas de fase aguda, incluindo SAA e ceruloplasmina, transformando a HDL em partícula pró-inflamatória⁵¹. A HDL afeta diretamente o processo inflamatório, que por sua vez, modifica a função da HDL. Estados pró-inflamatórios fazem com que a apoA-1 se desligue da HDL, deixando a apoA-1 na circulação numa forma livre de lípide ou pobre de lípide. Esta apoA-1 dissociada da HDL, diretamente ativa receptores TLR. O papel anti-inflamatório ou pró-inflamatório da apoA-1 e da HDL depende de suas características estruturais e funcionais, tais como a composição da HDL, o conteúdo de colesterol do macrófago e as vias de sinalização²⁸.

1.3 ARTRITE REUMATOIDE, LIPOPROTEÍNAS DE DENSIDADE ALTA E DOENÇA CARDIOVASCULAR

A presença de dislipidemia em indivíduos com AR é comum, ainda que as características da mesma sejam por vezes conflitantes. Na AR em atividade, pode haver redução tanto do HDLc como do LDLc, o chamado “paradoxo dos lípidos”¹. Isto foi descrito em indivíduos com AR com concentrações séricas mais baixas de colesterol total (CT) e do LDLc, e que demonstraram aumento do RCV, ou seja, uma associação paradoxal entre concentração plasmática de lípides aterogênicos e DCV⁵². No entanto, alguns estudos também em AR evidenciam a relação entre baixo RCV e aumento do HDLc, exatamente como é visto na população geral^{10,52,53}.

Em um estudo no qual foram avaliados 150 indivíduos com AR, demonstrou-se que aqueles com LDLc menor que 70 mg/dL apresentaram maior presença de placa coronariana, maiores concentrações de anticorpos anti-LDL oxidada, lipoproteína (a) [Lp(a)], IL-6 e pró-proteína convertase subtilisina quexina tipo 9 (PCSK9). A maior produção de Lp(a), propensa à oxidação, e de anti-LDL oxidada resultam em aumento da captação de LDL oxidada e da formação de placa, o que explicaria a associação paradoxal entre LDLc reduzido e avanço da aterosclerose⁵⁴.

O escore de cálcio coronário foi 4 vezes superior em pessoas com AR e LDLc < 70 mg/dL, comparados a controles sem AR e com o mesmo patamar de LDLc. Entretanto, outros estudos não identificaram esta associação do LDLc com DCV, em indivíduos com AR⁵⁴. Portanto, na AR a avaliação da função das lipoproteínas pode ser mais interessante que a análise de sua concentração plasmática⁷.

Alguns escores de RCV populacional, como o de *Framingham* e o do *Systematic Coronary Risk Evaluation* (SCORE), contemplam somente os fatores de risco tradicionais e subestimam o risco em indivíduos com AR. As recomendações do EULAR 2015/2016 sugerem adotar um fator de correção dos escores, multiplicando-os por 1,5. Isto foi corroborado nas recomendações de 2018 da *American Heart Association/American College of Cardiology* (AHA/ACC), que propõe, desta maneira, elevar a hierarquia de risco na presença de AR²³. Até o momento, a literatura carece de um escore de risco de DCV específico, validado para AR, e a dificuldade existe por ter que se considerar muitos fenótipos variados da doença, com espectro de manifestações bem diverso.

O cenário inflamatório sinovial da AR é muito semelhante ao encontrado no território endotelial, o que concorre para determinar a DCV aterosclerótica⁵⁵. A AR é uma doença onde há aumento da expressão de citocinas inflamatórias (TNF, IL-6, dentre outros) por macrófagos da membrana sinovial e onde os receptores TLR participam da progressiva e contínua ativação de macrófagos. O TNF e a IL-6 são preditores independentes de DCV, parecendo haver uma repercussão direta destas citocinas sobre o endotélio. Inclusive, estas citocinas liberadas na membrana sinovial inflamada podem ativar os macrófagos distantes, na placa de ateroma²⁴. Popova *et al.*⁵⁶ estudaram a expressão de TNF *in vivo* em placas de ateroma de indivíduos com síndrome coronariana aguda com e sem AR. A expressão de TNF foi avaliada a partir de amostras de artérias coronárias, colhidas durante cirurgia de revascularização do miocárdio. O estudo sugeriu uma expressão mais forte de TNF nas placas ateroscleróticas daqueles com AR, inferindo um agravamento da resposta pró-inflamatória.

Macrófagos são células com papel fundamental na aterogênese. Macrófagos e monócitos fagocitam LDL oxidada, originando células espumosas, e convocam mais macrófagos e monócitos para a parede vascular. A ativação de macrófagos está aumentada na AR em comparação aos controles. A presença de plasma de indivíduos com AR ocasionou alterações pró-aterogênicas na expressão de genes, e foram associadas ao acúmulo de lípidos e formação de células espumosas. Isto sugere que a exposição continuada ao plasma de sujeitos com AR altera a habilidade dos macrófagos e monócitos, na parede vascular, de metabolização do colesterol, levando a aterosclerose²⁴.

A disfunção endotelial é a base da doença aterosclerótica. Nos mecanismos inflamatórios da AR participam autoanticorpos, células linfo-monocitárias abundantes, e a liberação de citocinas inflamatórias, quimiocinas e moléculas de adesão, que diminuem a formação de óxido nítrico vascular, e desencadeiam a DCV. Em dados de 2 meta-análises, indivíduos com AR apresentavam disfunção endotelial, demonstrada por piora da dilatação fluxo-mediada da artéria braquial, que é um fator de risco independente para DCV²⁴. Indivíduos com AR, comparados a controles saudáveis, apresentam maiores concentrações de selectinas E e P, de VCAM-1 e de ICAM-1, repercutindo uma situação de desregulação e ativação endotelial, tendo como pano de fundo um estado de inflamação e estresse oxidativo⁵⁷.

A inflamação presente nas doenças autoimunes afeta a composição e a função da HDL⁹. Nestas situações ocorre mudança na composição da HDL, que compromete a sua função. Ela se torna uma HDL disfuncional, e passa a ser denominada HDL pró-inflamatória, com piora da CEC da HDL, aumento de fosfolípidos oxidados no LDLc e indução da migração de monócitos, reduzindo sua função ateroprotetora⁷. Índices mais altos de inflamação sistêmica correlacionam-se com piora da habilidade protetora da HDL. As HDL dos indivíduos com AR com alta atividade da doença apresentam diminuição da CEC, em comparação àqueles com baixa atividade da doença⁵⁸. Estudos mostram associação entre a atividade da doença na AR e risco para doença coronariana e cardiovascular, ou seja, quanto maior o grau de atividade da doença, maior o risco cardiovascular⁵⁹⁻⁶¹.

McMahon *et al.*⁶² descreveram a presença de uma maior concentração de HDL pró-inflamatória em indivíduos com AR, em comparação a controles saudáveis. Este estudo envolveu 154 mulheres com lúpus eritematoso sistêmico (LES), 48 mulheres com AR e 72 mulheres controles saudáveis com o objetivo de determinar se as concentrações de HDL pró-inflamatória eram diferentes entre indivíduos com doenças inflamatórias crônicas e controles saudáveis. Foi medida a habilidade da HDL das participantes com AR e LES em prevenir a oxidação do LDLc normal. Assim, LDL normal foi adicionada à HDL isolada do plasma das mulheres a serem testadas, depois uma solução de diclorofluoresceína (DCFH) foi adicionada e posteriormente foi avaliada a fluorescência. As mulheres participantes com AR apresentaram HDL mais pró-inflamatória em comparação aos controles saudáveis ($p < 0,016$). Os indivíduos com AR em relação aos controles saudáveis apresentaram *odds ratio* para HDL pró-inflamatória de 6,18 (IC 95%: 1,19 - 32,12)⁶².

Um estudo que avaliou as relações entre estrutura e função da HDL, em indivíduos normolipêmicos, sendo 12 com AR ativa (escore de atividade da doença com contagem de 28 articulações - DAS28 > 3,2) e 10 controles, evidenciou que a atividade antioxidante e a porcentagem em peso da composição química da HDL pequena e densa não apresentaram diferença entre ambos os grupos. Nas partículas de HDL pequenas e densas, o grupo com AR apresentou maior quantidade de ácido fosfatídico e menores quantidades de fosfatidilinositol e de fosfatidilglicerol em comparação aos controles. O subgrupo de pessoas com AR e PCR > 10 mg/L apresentou menor atividade antioxidante das HDL pequenas e densas. Estes achados

evidenciaram alterações no lipidoma das HDL pequenas e densas e que o grau de inflamação pode ter influência na capacidade antioxidativa das HDL pequenas e densas na AR⁶³.

O tocilizumabe (TCZ) é um inibidor do receptor da IL-6 usado para tratar AR. Ele eleva a concentração sérica do LDLc sem aumentar o risco de DCV nos indivíduos com AR. Um estudo avaliou 8 indivíduos com AR no antes, 4 e 12 semanas após tratamento com TCZ. Neste trabalho foram analisadas a capacidade de carga de colesterol (CLC) do soro destes indivíduos, medida por ensaio fluorimétrico do conteúdo de colesterol intracelular em macrófagos humanos e a CEC, mediada pelos receptores *scavenger* classe B tipo 1 (SR-B1), e pelos transportadores ABCG-1 e ABCA-1, usando modelos celulares específicos. Após 12 semanas do tratamento com TCZ, a concentração do LDLc apresentou aumento significativo, enquanto a CLC apresentou redução não estatisticamente significativa ($p = 0,07$) em comparação aos valores basais. A concentração do HDLc não se alterou, mas a CEC aumentou por intermédio das vias mediadas pelos SR-B1 ($p = 0,018$) e do ABCG-1 ($p = 0,06$) em relação aos valores pré-tratamento. Estes dados sugerem que o TCZ melhora a função da lipoproteína em indivíduos com AR, reduzindo o potencial pró-aterogênico do LDLc, apesar da maior concentração sérica do LDLc, e aumenta a atividade protetora da HDL⁶⁴.

A liberação de ROS das células endoteliais e dos monócitos é estimulada pela excessiva secreção de TNF, vista nos indivíduos com AR, o que acentua o processo de oxidação do LDLc, e acarreta maiores danos celulares e aumento na formação de placas aterogênicas⁶⁵.

As alterações oxidativas desencadeadas pelo processo inflamatório crônico da AR levam a alterações estruturais da HDL que deterioram suas funções anti-inflamatória, antioxidante e cardioprotetora, isto significa, reduzem sua capacidade de remover o colesterol das lesões ateroscleróticas²⁴. A função antioxidante da HDL é exercida principalmente pela PON1, prevenindo a formação da LDL oxidada, inativando os FL oxidados já formados e prevenindo a oxidação da própria HDL, desta forma, retardando a aterosclerose. Rodríguez-Carrio *et al.*⁶⁶ estudaram se anticorpos anti-PON1 afetariam os mediadores inflamatórios e o painel lipídico; se estes anticorpos alterariam a funcionalidade da PON1 e suas associações com as variantes genéticas rs662 PON1; e se os anticorpos anti-PON1 alterariam o tratamento da AR.

Foram avaliados 212 participantes com AR, 175 controles saudáveis, 54 indivíduos com fatores de risco clássicos para DCV e um subgrupo de 13 indivíduos com AR foram seguidos 3 meses após tratamento com anti-TNF. O trabalho revelou que a concentração de anti-PON1 estava elevada na AR, em comparação tanto com os controles saudáveis, como com os indivíduos com fatores de risco para DCV. Não houve associação destes anticorpos com o perfil lipídico. Os anticorpos foram associados com redução da atividade sérica da PON1 na AR e com diminuição da capacidade antioxidante total na AR em comparação aos outros 2 grupos. Foi observada associação positiva dos anticorpos anti-PON1 com concentração sérica de ICAM-1. Estes anticorpos não apresentaram influência sobre o tratamento com anti-TNF⁶⁶.

A mieloperoxidase (MPO) está envolvida na oxidação das HDL⁶⁷ e, observa-se concentração e atividade aumentadas da MPO nas articulações de indivíduos com AR⁶⁸. A oxidação da apoA-1 pela MPO compromete a capacidade da apoA-1 na CEC com macrófagos³⁵.

Foram mensurados anticorpos IgG anti-HDL e a concentração total de IgG em 212 participantes com AR, além de 131 controles saudáveis, 52 indivíduos sem AR e com fatores de risco clássicos para DCV, e um subgrupo de 13 indivíduos com AR, seguidos 3 meses após tratamento com anti-TNF. As concentrações de anti-HDL foram maiores no grupo AR comparados aos demais grupos. A razão anti-HDL/IgG mostrou associação negativa com as concentrações do HDLc no grupo AR. Os participantes com AR com concentração elevada de anti-HDL/IgG (n=40) apresentaram maior concentração de mediadores pró-inflamatórios. O tratamento com anti-TNF promoveu redução dos anticorpos anti-HDL, o que se associou com elevação do HDLc. Assim, estes anticorpos poderiam contribuir para o aumento da DCV na AR⁶⁹.

Sugere-se uma estreita associação entre a via de sinalização do inflamassoma NLRP3 (proteína receptora semelhante a NOD - domínio de ligação e oligomerização de nucleotídeos) e doença cardiovascular aterosclerótica na AR. A ativação da NLRP3 e a decorrente liberação de IL-1 beta estão envolvidas na patogênese da AR. Em decorrência do estímulo do NLRP3 intracelular pelos TLRs e pelo fator nuclear kappa B (NFkB) há ativação da caspase-1, a qual faz a clivagem da IL-1 beta e da interleucina 18 (IL-18) para suas formas ativas, e que estimulam a produção e a

desestabilização das placas aterogênicas. A susceptibilidade genética e o aumento do colesterol podem ativar o inflamassoma NLRP3. A cristalização do colesterol liberado na placa aterosclerótica pode ativar o inflamassoma NLRP3 desencadeando a produção de IL-1 beta e IL-18^{24,70}.

A HDL também atua inibindo a imunidade inata. O efluxo de colesterol mediado pela HDL reduz o conteúdo e a sinalização dos receptores *toll-like 4* (TLR-4) nos macrófagos, levando à diminuição da liberação de citocinas inflamatórias. É importante ocorrer um equilíbrio entre a ativação e a inativação dos TLR-4, a fim de evitar uma resposta inflamatória excessiva. Na resposta inflamatória aguda ocorre redução da CEC em macrófagos e do TRC. Enquanto esta resposta aguda é favorável em termos da imunidade antiviral e antibacteriana, ela torna-se disfuncional quando cronicamente perpetuada⁷¹.

Concentrações mais baixas do HDLc são geralmente consequência das doenças autoimunes e da atividade inflamatória. No entanto, alguns estudos dão suporte à possibilidade de que a HDL poderia estar envolvida no desencadeamento da doença autoimune. A HDL pode controlar a proliferação das células-tronco hematopoiéticas na medula óssea. A HDL, também, tem a capacidade de modular diretamente a função da célula imunológica nas fases tardias da resposta imune. Além disso, mudanças na concentração e na função da HDL levam ao desenvolvimento de fenótipos autoimunes em modelos animais. No *Copenhagen General Population Study*, indivíduos com HDLc reduzido (< 39 mg/dL) apresentaram razão de risco (*hazard ratio*) de 1,51 (IC 95%: 0,94-2,42) para desenvolver AR quando comparados com indivíduos com HDLc elevado (≥ 77 mg/dL)⁷².

Conforme relatado nesta introdução, na AR, a dislipidemia parece estar associada ao estado inflamatório intrínseco da doença. Estudos demonstraram um vínculo entre índices elevados de atividade da doença, indicativos de inflamação, com risco aumentado de DCV¹⁰. Isso suscita a possibilidade de que a funcionalidade da HDL possa estar alterada na AR e estar relacionada ao estado inflamatório da doença.

2. JUSTIFICATIVA

Na AR observa-se maior incidência de aterosclerose, o que contribui para a mortalidade aumentada por DCV nesta população, muitas vezes, a despeito de perfil lipídico dentro dos valores de normalidade. Esta observação traz à tona a participação de fatores de risco não tradicionais, os quais incluem alterações na funcionalidade das lipoproteínas. Não há consenso sobre a funcionalidade da HDL na AR, embora algumas evidências apontem para o prejuízo em sua função antioxidante e de remoção de colesterol celular. Vale destacar que, dos poucos estudos realizados, a maioria avaliou a função da HDL por meio da utilização do soro isento de apoB. Neste caso, a única lipoproteína presente no soro é a HDL, embora outras proteínas e componentes séricos possam interferir nas variáveis estudadas *in vitro*, especialmente em modelos de cultura celular. Além disso, o soro contendo HDL embute variações na concentração destas lipoproteínas o que também pode criar um viés nas análises. Desta forma, considera-se que a análise da capacidade intrínseca das HDL em mediar suas diversas ações antiaterogênicas, a partir do isolamento destas lipoproteínas, seja uma abordagem mais fidedigna de suas funções antiaterogênicas.

Na presente investigação foi testada a hipótese de que o perfil de lípides plasmáticos e a composição da partícula de HDL, bem como sua funcionalidade (atividade anti-inflamatória e de remoção de colesterol celular) possam ser diferentes em indivíduos com AR em comparação a controles, e entre a atividade inflamatória da AR, inferida pelo *Disease Activity Score with 28-joint counts with ESR - DAS 28-ESR* (escore de atividade da doença com contagem de 28 articulações com velocidade de hemossedimentação - DAS28-VHS).

3. OBJETIVOS

Avaliar em indivíduos com AR, comparados a controles:

- 1) o perfil lipídico plasmático;
- 2) a composição da HDL em colesterol total, triglicérides, fosfolípidos e apoA-1;
- 3) a função anti-inflamatória da HDL, representada por sua capacidade em inibir a produção de citocinas IL-6 e TNF, em macrófagos desafiados com LPS;
- 4) a capacidade da HDL em mediar a remoção de colesterol de macrófagos;
- 5) a associação destas variáveis com o grau de atividade inflamatória na AR.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os participantes foram incluídos no estudo somente após serem adequadamente informados a respeito dos procedimentos, terem lido, concordado e assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexos A e B). O presente projeto de pesquisa foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Nove de Julho (# 5.453.948; junho de 2022), do Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo (# 5.517.590; julho de 2022) e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (# 5.647.034; setembro de 2022).

4.1 CASUÍSTICA

Estudo de coorte transversal composto por um grupo de indivíduos com AR e outro grupo de indivíduos controles. O cálculo do tamanho da amostra foi realizado por meio do *software* G*Power versão 3.1, Düsseldorf, Alemanha⁷³; baseado na utilização do teste t de *Student* com duas amostras independentes, bicaudal, na probabilidade de cometer erro tipo I (α) de 0,05 e de cometer erro tipo II (β) de 0,20 e no tamanho de amostras iguais nos dois grupos (AR e controle). Foi estimado o tamanho do efeito (d) de forma conservadora em 0,5 pois não foi encontrado estudo prévio na linha do que foi abordado em nosso estudo. Este cálculo resultou no tamanho da amostra (n) de 64 indivíduos para o grupo AR e de 64 indivíduos para o grupo controle. O n foi aumentado em cerca de 10% em cada grupo em razão de possíveis perdas, portanto, ao final estimou-se um número de 70 indivíduos em cada grupo.

Para o grupo com AR foram selecionados 70 indivíduos com AR atendidos no Ambulatório de Reumatologia do Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo (HSPM). Foi realizada uma pré-seleção a partir da análise dos prontuários do ambulatório de reumatologia de pessoas com AR, e escolhidos os indivíduos que preencheram os seguintes critérios: idade a partir de 18 anos; ambos os sexos; com AR diagnosticada de acordo com os critérios de classificação para AR de 2010 do ACR/EULAR²⁰ e ausência de diabetes mellitus, gravidez, insuficiência hepática, hipotireoidismo descompensado, doença renal crônica (taxa de filtração glomerular

estimada $< 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$), síndrome nefrótica, obesidade mórbida (índice de massa corporal - IMC ≥ 40), outras doenças do tecido conectivo, tabagismo, etilismo. Estes indivíduos pré-selecionados foram convidados por contato telefônico a participarem do estudo.

Foram selecionados 70 indivíduos controles saudáveis, oriundos da comunidade local (pessoas que trabalhavam e/ou estudavam na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e que trabalhavam ou eram atendidas na Unidade Básica de Saúde Dra. Ilza Weltman Hutzler, São Paulo), pareados por idade, sexo e IMC com o grupo com AR, e foram convidados a participarem por contato telefônico. No grupo controle foram considerados como critérios de não inclusão a presença de qualquer doença autoimune, diabetes mellitus, gravidez, insuficiência hepática, hipotireoidismo descompensado, doença renal crônica (taxa de filtração glomerular estimada $< 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$), síndrome nefrótica, obesidade mórbida (IMC ≥ 40), tabagismo e etilismo.

Após a exclusão dos voluntários por não atenderem aos critérios de elegibilidade e daqueles que recusaram a participar do estudo, 50 indivíduos foram incluídos no grupo controle e 56 no grupo AR.

4.2 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS E DEMAIS DADOS CLÍNICOS

Em todos os participantes foram realizadas as medidas antropométricas. Altura e peso foram mensurados para o cálculo do IMC, obesidade foi definida como IMC $\geq 30 \text{ Kg/m}^2$. A circunferência abdominal (CA) foi determinada com fita métrica posicionada na metade da distância entre a crista ilíaca e o rebordo costal inferior. Foram considerados como baixo risco para as alterações relacionadas à resistência insulínica e à adiposidade visceral implicadas no diagnóstico da síndrome metabólica, os valores de $\leq 88 \text{ cm}$ para as mulheres e $\leq 102 \text{ cm}$ para os homens⁷⁴⁻⁷⁶.

Foram coletadas as informações a respeito dos dados demográficos (idade e sexo); da realização de atividade física (foi considerada a realização de qualquer intensidade de atividade física regular e quantificada em minutos por semana). No grupo AR foi verificado o uso de anti-inflamatórios não hormonais, uso e dose de prednisona e de DMCD; e nas participantes do sexo feminino foram questionados estado menopausal, uso de terapia de reposição hormonal e uso de anticoncepcionais hormonais.

4.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INFLAMATÓRIA DOS INDIVÍDUOS COM ARTRITE REUMATOIDE

Nos participantes com AR, no dia da coleta da amostra de sangue, foi usado o DAS28-VHS para medir o grau de atividade da doença, o que reflete o grau de inflamação presente (o anexo D mostra a folha de avaliação para o cálculo do DAS28). Este escore, DAS28-VHS⁷⁷, é um índice composto contínuo, que foi bem documentado e validado, produzido pela avaliação do VHS, pela avaliação global da saúde pelo próprio indivíduo e pelo exame médico de 28 articulações onde se verifica se há inflamação, dor ou normalidade nestas articulações. Foi usada uma calculadora *on-line* para a realização dos cálculos dos índices DAS28 para os indivíduos com AR⁷⁸. Foram considerados os seguintes valores de corte para o DAS28^{77,79}:

- Doença em remissão: $< 2,6$;
- Baixa atividade da doença: $2,6$ a $< 3,2$;
- Moderada atividade da doença: $3,2$ a $5,1$;
- Alta atividade da doença: $> 5,1$.

O DAS28 é frequentemente usado como limite para classificar AR ativa nos estudos científicos, ou seja, para separar aqueles indivíduos com AR que necessitam tratamento intensivo⁸⁰⁻⁸². Desta forma, no presente estudo, o grupo AR também foi classificado em 2 grupos conforme os parâmetros abaixo:

- Indivíduos com doença ativa, com $\text{DAS28} \geq 3,2$, compreendendo os com moderada e alta atividade da doença ($n = 43$);
- Indivíduos em remissão e com baixa atividade da doença, com $\text{DAS28} < 3,2$ ($n = 13$).

4.4 COLETA DE SANGUE E PROCESSAMENTO

Foram coletados 25 mL de sangue venoso periférico de todos os participantes, por punção venosa, em apenas uma vez, em tubo seco e em tubo contendo ácido etileno-diamino-tetra-acético (EDTA 0,1%; 10 mL), após 8 h de jejum noturno. Plasma e soro foram, imediatamente, separados por centrifugação a 4°C, 20 min, 3000 rpm. Para obtenção da fração de plasma que contém apenas as HDL, as lipoproteínas que contêm apoB (VLDL - lipoproteína de densidade muito baixa - e LDL) foram precipitadas por meio da adição de solução de sulfato de dextrana/cloreto de

magnésio (1:1) ao plasma (100 $\mu\text{L/mL}$). Após incubação a temperatura ambiente por 30min, o plasma foi isolado mediante centrifugação, durante 20 min, 3000 rpm. As amostras de plasma total e plasma contendo apenas HDL foram mantidas a -80°C .

4.5 DOSAGENS BIOQUÍMICAS

Os lípides plasmáticos (CT, HDLc e TG) e na fração isolada de HDL (CT, TG e FL) foram determinados por métodos enzimáticos colorimétricos (Roche do Brasil, São Paulo, SP, Brasil). A concentração plasmática do LDLc foi determinada pela fórmula de Friedewald⁸³, e a de não-HDLc, pela subtração CT – HDLc. Os índices aterogênicos foram calculados pelas razões TG/HDL e CT/apoB, os quais indicam a formação de LDL pequenas e densas.

4.6 ISOLAMENTO DAS LIPOPROTEÍNAS

A densidade das amostras de plasma foi ajustada com brometo de potássio para 1,21 g/mL. As LDLs ($d = 1,019\text{-}1,063$ g/mL) e as HDLs ($d = 1,063\text{-}1,21$ g/mL) foram isoladas a partir do plasma, por ultracentrifugação em gradiente descontínuo de densidade, a 40.000 g , por 24 h, 4°C ⁸⁴. Após o isolamento, as amostras foram dialisadas contra solução de tampão fosfato (PBS) e apenas as HDL armazenadas em solução de sacarose a -80°C . A concentração de apoA-1 na HDL e de apoB no plasma foram determinadas determinada por imunoturbidimetria (Randox Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil).

4.7 ACETILAÇÃO DA LIPOPROTEÍNA DE DENSIDADE BAIXA

A LDL foi acetilada como previamente descrito por Basu *et al.*⁸⁵. Em 1 mL de 0,15 M de cloreto de sódio contendo 16 mg de proteína de LDL foi adicionado 1 mL de uma solução saturada de acetato de sódio, sob constante agitação e banho de gelo. Posteriormente múltiplas pequenas quantidades de anidrido acético foram adicionadas por um período de 1 h, seguido por 30 min de agitação em banho de gelo. Após a adição de um volume total de anidrido acético equivalente a 1,5 vezes a massa de proteína de LDL, a mistura foi agitada por mais 30 min. Subsequentemente,

realizou-se diálise intensa contra PBS com EDTA (pH = 7,4) por 24 h a 4°C e esterilizada em filtro 0,22 µm. A concentração final de proteína foi determinada pelo método de Lowry *et al.*⁸⁶.

4.8 OBTENÇÃO DE MACRÓFAGOS DA MEDULA ÓSSEA DE CAMUNDONGOS

Os experimentos com animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Nove de Julho (# 6647311023; dezembro de 2023). Os protocolos experimentais encontraram-se de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal, adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL).

Células derivadas da medula óssea foram isoladas de camundongos C57Bl/6 e os macrófagos foram diferenciados. Os animais sofreram eutanásia com injeção intraperitoneal de sobredose da associação de cloridrato de cetamina (300 mg/kg de peso corporal) e cloridrato de xilazina (30 mg/kg de peso corporal), de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI).

Tecidos dos fêmures e das tíbias foram limpos e isolados no nível da articulação do joelho. Uma seringa de 20 mL com agulha tamanho 26 e ½ contendo um meio de cultura para medula óssea (DMEM com baixa glicose com 10% de soro fetal bovino, 0,8% de penicilina/estreptomicina e 10% de célula L929 cultivada em meio de cultura) foram utilizadas para cortar o final de cada osso e para expelir a medula óssea de ambas as extremidades ósseas. A medula óssea foi aspirada e expelida utilizando-se uma seringa de 20 mL com agulha tamanho 18 ½. As células foram centrifugadas (1000 rpm à temperatura ambiente por 6 min), ressuspensas no meio de cultura, colocadas em placas de cultura e incubadas por 5 dias a 37°C sob CO₂ a 5%. Então, o meio de cultura foi mudado para DMEM, com baixa glicose contendo 10% de soro fetal bovino, 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina.

4.9 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DA HDL EM MACRÓFAGOS

Os macrófagos foram sobrecarregados com LDL acetilada (50 µg/mL DMEM) e tratados por 24 h com HDL (50 µg/mL DMEM) dos indivíduos com AR ou dos controles. A sobrecarga celular com colesterol advindo das LDL sensibiliza à resposta inflamatória, tornando a metodologia mais sensível. Após lavagem, as células foram desafiadas com LPS, 1 µg/mL DMEM, por 24 h. O meio de cultura foi coletado, e a quantidade de TNF e de IL-6 foi determinada por ELISA (R&D Diagnostics, Mineápolis, MN, EUA). Incubações controles foram realizadas na ausência de HDL, seguindo-se exposição ao LPS⁸⁷.

4.10 DETERMINAÇÃO DA REMOÇÃO DE COLESTEROL DE MACRÓFAGOS PELA HDL

Os macrófagos foram incubados com DMEM (Low Glucose, Gibco, Grand Island, Nova Iorque, EUA) contendo 1 mg de albumina isenta de ácidos graxos (FAFA) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemanha), na presença de com 50 µg de LDL acetilada/mL e 0,3 µCi de ¹⁴C-colesterol/ mL (Amersham Biosciences, Buckinghamshire, Reino Unido), durante 48 h. Após lavagem com tampão fosfato (PBS - NaCl 150 mmol/L, Na₂HPO₄ 20 mmol/L, NaH₂PO₄ 14 mmol/L, NaOH 1mmol/L - pH 7,4) contendo FAFA, as células foram mantidas em DMEM/FAFA, de modo a garantir o equilíbrio do *pool* intracelular de colesterol radioativo, durante 18 h. A seguir, foram lavados com PBS/FAFA e incubados, por 6h, com HDL (50 µg/mL) isolada dos grupos controle e AR. O meio de cultura foi removido das placas e centrifugado a 1500 rpm durante 10 min a 4°C para remoção de debris celulares, sendo transferido para tubos de cintilação, com adição de solução contadora (Perkin Elmer, Turko, Finlândia) e determinação da radioatividade em contador beta (Beckman Coulter, Brea, CA, EUA). Os poços das placas foram lavados com solução fisiológica gelada (4°C) por 2 vezes e os lípides celulares extraídos com solução de hexana:isopropanol (3:2) (Merck, Darmstadt, Alemanha). Após evaporação do solvente, a radioatividade remanescente nas células foi determinada. As células foram solubilizadas em 250 µL

de NaOH 0,2 N, durante 3 h, à temperatura ambiente, e a determinação de proteína realizada.

A porcentagem de efluxo de colesterol foi calculada como:

$$\frac{{}^{14}\text{C-colesterol no meio}}{{}^{14}\text{C-colesterol no meio} + {}^{14}\text{C-colesterol na célula}} \times 100$$

O efluxo específico mediado pela HDL foi subtraído daquele obtido com incubações apenas com DMEM/FAFA (efluxo basal)⁸⁸.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste de Shapiro-Wilk foi usado para avaliar a normalidade das variáveis quantitativas. Os dados não paramétricos foram representados por mediana e intervalos interquartílicos (25% e 75%) e a comparação entre dois grupos realizada pelo teste de Mann-Whitney. As frequências das variáveis categóricas foram comparadas pelo teste exato de Fisher e as associações entre as variáveis foram analisadas pela correlação de Pearson ou Spearman, para dados paramétricos ou não paramétricos, respectivamente. A regressão logística univariada foi realizada para avaliar a relação entre as variáveis clínicas e laboratoriais e a atividade da doença (AR ativa ou em remissão/baixa atividade). A regressão logística utilizou cada variável independente isolada para calcular o *odds ratio* e o intervalo de confiança de 95%. Os valores de R-quadrado de Cox e Snell foram utilizados para expressar a importância de cada variável no modelo. Todas as variáveis independentes utilizadas tiveram o mesmo tamanho e nenhuma transformação foi aplicada. Embora não tenhamos realizado análise multivariada, nenhuma variável apresentou multicolinearidade perfeita com as demais variáveis estudadas. Para todo o estudo foi considerado para todo o estudo risco alfa menor ou igual a 5% de cometer erro tipo I ou de 1ª espécie e risco beta menor ou igual a 20% de cometer erro tipo II ou de 2ª espécie. O poder estatístico foi calculado utilizando o *software* G*Power⁷⁸ (versão 3.1, Düsseldorf, Alemanha). Os *softwares* IBM® SPSS Statistics for Mac (versão 29 lançada em 2023 pela IBM Corp., Armonk, Nova Iorque, EUA) e Microsoft® Excel for Mac 2023 (versão 16.77.1) foram utilizados para tabulação e análise dos dados.

5. RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS E CLÍNICAS

Os grupos controle (CTR) e AR apresentaram distribuição semelhante em relação a idade, sexo, IMC e CA. A presença de obesidade, dislipidemia, uso de estatinas, estado menopausal, uso de terapia de reposição hormonal, uso de contraceptivo hormonal e prática de atividade física não diferiram significativamente entre os grupos (tabela 1).

Tabela1 - Idade, dados antropométricos e clínicos dos grupos CTR e AR

	CTR n = 50	AR n = 56	p
Idade (anos)	56,5 (49,8-65,3)	62,5 (54,5-6,.0)	0,116
Sexo feminino	46 (92,0)	52 (92,9)	1,000
IMC (Kg/m²)	28,2 (25,9-31,3)	28,6 (25,4-31,7)	0,651
CA (cm)	96,0 (91,0-102,5)	96,0 (89,3-106,0)	0,761
Obesidade	16 (32,0)	21 (37,5)	0,684
Dislipidemia	22 (44,0)	18 (32,1)	0,233
Uso de estatinas	10 (20,0)	10 (17,9)	0,808
Pós-menopausa	34 (73,9)	45 (86,5)	0,132
Terapia de reposição hormonal	5 (10,9)	10 (19,2)	0,277
Contraceptivo hormonal	3 (6,5)	0 (0,0)	0,100
Atividade física ≥ 150 min/semana	10 (20,0)	10 (17,9)	0,808

AR, grupo artrite reumatoide; CA, circunferência abdominal; CTR, grupo controle; IMC, índice de massa corporal. Os resultados são expressos como mediana e intervalo interquartilico (25% e 75%) ou n (%). Os dados contínuos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney e as variáveis categóricas pelo teste exato de Fisher, conforme apropriado, sempre como análises bilaterais.

A tabela 2 demonstra a frequência de indivíduos com AR em remissão de doença, baixa atividade de doença, moderada atividade de doença e alta atividade de doença, conforme o valor do índice DAS28, onde nota-se que a maioria dos indivíduos apresentava doença ativa.

Tabela 2 - Índice DAS28 no grupo AR ($n = 56$)

DAS28	4,15 (3,28-5,03)
Remissão	7 (12,5)
Baixa atividade da doença	6 (10,7)
Moderada atividade da doença	31 (55,4)
Alta atividade da doença	12 (21,4)

AR, grupo artrite reumatoide; DAS28, escore de atividade da doença com contagem de 28 articulações. Os resultados são expressos como mediana e intervalo interquartilico (25% e 75%) ou n (%).

No grupo AR, 94,6% de seus integrantes estavam em uso de alguma droga modificadora do curso da doença e 14,3% estavam em uso de corticosteroide (prednisona). Apenas 2 participantes (3,6%) estavam em uso de corticosteroides em doses iguais ou maiores que 7,5 mg/dia, um em uso de 7,5 mg/dia e outro com 10 mg/dia. A tabela 3 destaca as medicações usadas.

Tabela 3 - Medicamentos utilizados no grupo AR

AR (n = 56)	
Drogas	n (%)
Prednisona	8 (14,3)
Prednisona dose $\geq$ 7,5 mg/dia	2 (3,6)
DMCD sintéticas convencionais	48 (85,7)
Hidroxicloroquina	10 (17,9)
Leflunomida	15 (26,8)
Metotrexato	40 (71,4)
DMCD biológicas	21 (37,5)
Anti-TNF	16 (28,6)
Abatacepte	1 (1,8)
Tocilizumabe	2 (3,6)
Rituximabe	2 (3,6)
DMCD sintéticas alvo-específicas	2 (3,6)
Tofacitinibe	2 (3,6)
Total	53 (94,6)

AR, grupo artrite reumatoide; DMCD, drogas modificadoras do curso da doença. Os resultados são expressos como n (%).

A divisão do grupo AR entre participantes com doença ativa ($\text{DAS28} \geq 3,2$) e com doença em remissão/baixa atividade de doença ($\text{DAS28} < 3,2$) revelou que idade, sexo, CA e características clínicas não apresentaram diferença estatisticamente significativa. O IMC foi significativamente maior no grupo com doença ativa. A maioria dos indivíduos com doença ativa (72,1%) apresentava valores de DAS28 compatíveis com moderada atividade da doença (tabelas 4 e 5).

Tabela 4 - Idade, dados antropométricos e clínicos dos grupos AR em remissão/baixa atividade da doença e com doença ativa

	AR (n = 56)		
	Remissão/Baixa atividade da doença DAS28 < 3,2 (n = 13)	Doença Ativa DAS28 ≥ 3,2 (n = 43)	p
Idade (anos)	61 (42,5-63,0)	63 (56,0-68,0)	0,105
Sexo feminino	11 (84,6)	41 (95,3)	0,227
IMC (Kg/m²)	26,5 (23,6-28,8)	29,2 (26,3-33,4)	0,032
CA (cm)	91 (89,5-97,5)	97 (89,0-108,0)	0,072
Obesidade	2 (15,4)	19 (44,2)	0,101
Dislipidemia	4 (30,8)	14 (32,6)	1,000
Uso de estatinas	1 (7,7)	9 (20,9)	0,424
Pós-menopausa	9 (81,8)	36 (87,8)	0,630
Terapia de reposição hormonal	0	10 (24,4)	0,096
Contraceptivo hormonal	0	0	-
Atividade física ≥ 150 min/semana	3 (23,1)	7 (16,3)	0,682

AR, grupo artrite reumatoide; CA, circunferência abdominal; DAS28, escore de atividade da doença com contagem de 28 articulações; IMC, índice de massa corporal. Os resultados são expressos como mediana e intervalo interquartil (25% e 75%) ou n (%). Os dados contínuos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney e as variáveis categóricas pelo teste exato de Fisher, conforme apropriado, sempre como análises bilaterais.

Tabela 5 - Índice DAS28 nos grupos AR em remissão/ baixa atividade da doença e com doença ativa

	AR (n = 56)	
	Remissão/Baixa atividade da doença DAS28 < 3,2 (n = 13)	Doença Ativa DAS28 ≥ 3,2 (n = 43)
DAS28	2,55 (2,20-2,94)	4,63 (3,75-5,74)
Remissão	7 (53,8)	0
Baixa atividade da doença	6 (46,2)	0
Moderada atividade da doença	0	31 (72,1)
Alta atividade da doença	0	12 (27,9)

AR, grupo artrite reumatoide; DAS28, escore de atividade da doença com contagem de 28 articulações. Os resultados são expressos como mediana e intervalo interquartilico (25% e 75%) ou *n* (%).

5.2 PERFIL LIPÍDICO

As concentrações plasmáticas de LDLc, não-HDLc, TG e apoB, bem como a razão TG/HDL foram semelhantes entre os grupos CTR e AR. As concentrações de CT, HDLc e a razão CT/apoB foram maiores no grupo AR em comparação ao CTR (tabela 6).

Tabela 6 - Perfil lipídico dos grupos CTR e AR

	CTR n = 50	AR n = 56	p
CT (mg/dL)	174 (147-195)	194 (171-206)	0,007
HDLc (mg/dL)	47 (38-54)	55 (43-62)	0,015
LDLc (mg/dL)	103 (83-128)	117 (98-127)	0,125
apoB (mg/dL)	35 (28-40)	35 (30-40)	0,874
não-HDLc (mg/dL)	122 (103-145)	139 (118-148)	0,630
TG (mg/dL)	87 (64-119)	96 (71-122)	0,362
TG/HDLc	1,8 (1,2-3,1)	1,8 (1,2-2,4)	0,735
CT/apoB	5,0 (4,6-5,7)	5,5 (5,0-6,0)	0,002

apoB, apolipoproteína B; AR, grupo artrite reumatoide; CT, colesterol total; CTR, grupo controle; HDL, lipoproteína de densidade alta; LDL, lipoproteína de densidade baixa; TG, triglicérides. Os resultados são expressos como mediana e intervalo interquartilico (25% e 75%). Os dados foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, sempre como análises bilaterais.

A análise das concentrações plasmáticas de lípidos dos grupos com doença ativa e em remissão/baixa atividade da doença evidenciou menor concentração do HDLc, maiores concentrações de TG, maiores valores da razão TG/HDL e menores valores da razão CT/apoB nos indivíduos com doença ativa em comparação aos em remissão/baixa atividade de doença, conforme apresentado na tabela 7.

Tabela 7 - Perfil lipídico dos grupos AR em remissão/baixa atividade de doença e com doença ativa

AR (n = 56)			
	Remissão/Baixa atividade de doença DAS28 < 3.2 (n = 13)	Doença Ativa DAS28 ≥ 3.2 (n = 43)	p
CT (mg/dL)	192 (177-211)	194 (169-204)	0,719
HDLc (mg/dL)	60 (51-75)	50 (43-60)	0,021
LDLc (mg/dL)	109 (100-132)	122 (96-126)	0,662
apoB (mg/dL)	34 (28-37)	35 (30-41)	0,196
não-HDLc (mg/dL)	121 (115-146)	140 (120-149)	0,221
TG (mg/dL)	80 (56-88)	104 (77-135)	0,007
TG/HDL	1,1 (0,9-1,7)	1,9 (1,5-3,2)	0,003
CT/apoB	5,8 (5,4-6,7)	5,3 (4,9-5,8)	0,014

apoB, apolipoproteína B; AR, grupo artrite reumatoide; DAS28, escore de atividade da doença com contagem de 28 articulações; HDL, lipoproteína de densidade alta; LDL, lipoproteína de densidade baixa; CT, colesterol total; TG, triglicérides. Os resultados são expressos como mediana e intervalo interquartilico (25% e 75%). Os dados foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, sempre como análises bilaterais.

5.3 COMPOSIÇÃO DA HDL

A análise da composição da partícula de HDL entre os grupos CTR e AR evidenciou maior conteúdo de FL (HDL-FL) e de apoA-1 (HDL-apoA-1) no grupo AR. As concentrações de CT (HDL-CT) e de TG (HDL-TG) foram semelhantes entre os grupos (tabela 8).

Tabela 8 - Composição da HDL nos grupos CTR e AR

	CTR n = 50	AR n = 56	p
HDL-CT (mg/dL)	42 (32-53)	46 (39-54)	0,216
HDL-TG (mg/dL)	8 (6-10)	8 (6-11)	0,401
HDL-FL (mg/dL)	84 (67-111)	103 (83-116)	0,002
HDL-apoA-1 (mg/dL)	44 (34-54)	53 (42-60)	0,009

apoA-1, apolipoproteína A-1; AR, grupo artrite reumatoide; CT, colesterol total; CTR, grupo controle; HDL, lipoproteína de densidade alta; FL, fosfolípidos; TG, triglicérides. Os resultados são expressos como mediana e intervalo interquartilico (25% e 75%). Os dados foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, sempre como análises bilaterais.

Os indivíduos do grupo com doença ativa apresentaram menores conteúdos de CT (HDL-CT) e de apoA-1 (HDL-apoA-1) em comparação ao grupo em remissão/baixa atividade de doença. As concentrações na HDL de TG (HDL-TG) e de FL (HDL-FL) foram semelhantes entre os dois grupos (tabela 9).

Tabela 9 - Composição da HDL nos grupos AR em remissão/baixa atividade de doença e com doença ativa

AR (n = 56)			
	Remissão/Baixa atividade de doença DAS28 < 3.2 (n = 13)	Doença Ativa DAS28 ≥ 3.2 (n = 43)	p
HDL-CT (mg/dL)	54 (47-68)	44 (34-51)	0,005
HDL-TG (mg/dL)	7 (6-12)	9 (6-11)	0,696
HDL-FL (mg/dL)	108 (90-128)	99 (79-116)	0,114
HDL-apoA1(mg/dL)	61 (47-69)	49 (39-58)	0,014

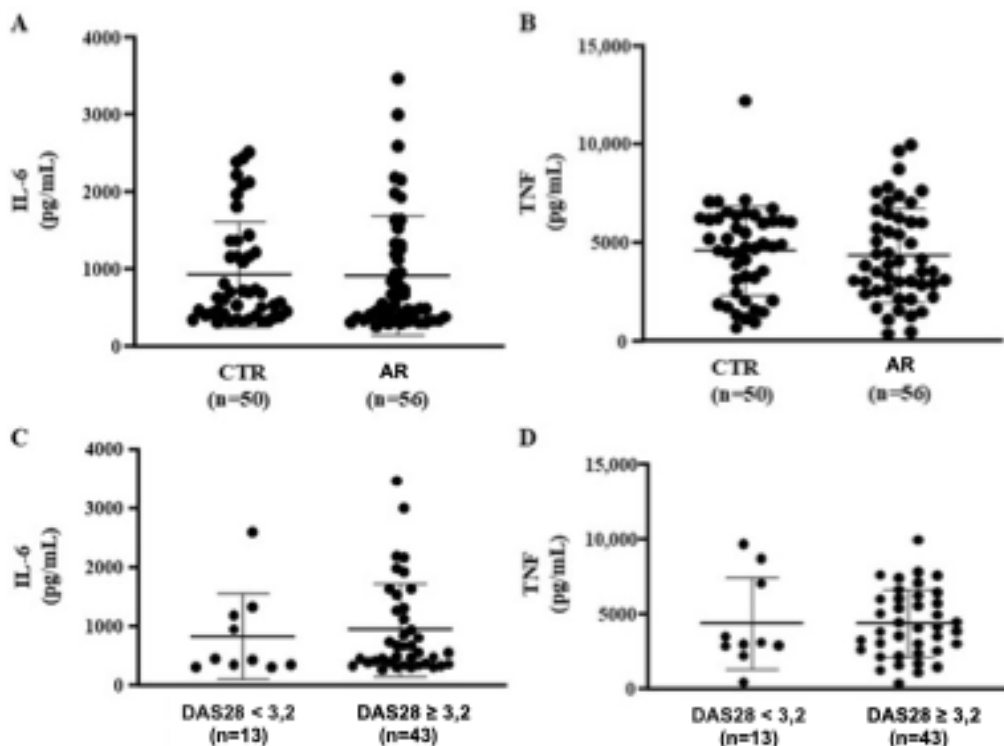
apoA-1, apolipoproteína A-1; AR, grupo artrite reumatoide; CT, colesterol total; CTR, grupo controle; HDL, lipoproteína de densidade alta; DAS28, escore de atividade da doença com contagem de 28 articulações; FL, fosfolípides; TG, triglicérides. Notas: Os resultados são expressos como mediana e intervalo interquartil (25% e 75%). Os dados foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, sempre como análises bilaterais.

5.4 FUNÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA DA HDL

A função anti-inflamatória da HDL foi avaliada por sua capacidade em inibir a produção das citocinas IL-6 e TNF em macrófagos diferenciados a partir de células obtidas da medula óssea de camundongos sobrecarregados com colesterol e, a seguir, expostos à HDL dos indivíduos dos grupos AR e controle, por 24 h. Após lavagem, as células foram incubadas com LPS, como insulto inflamatório, por 24 h. A concentração de IL-6 e TNF foi determinada no meio de cultura, por ELISA. Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de IL-6 e de TNF entre os grupos CTR e AR (figura 6, A e B). O mesmo resultado foi demonstrado comparando o grupo AR em remissão/baixa atividade de doença com o grupo AR com doença ativa (figura 6, C e D).

Foi observada correlação positiva ($r = 0,381$, $p = 0,015$) entre a secreção de IL-6 e os valores do escore DAS28 naqueles com doença ativa.

Figura 6 - Concentrações de IL-6 e de TNF nos grupos CTR e AR, e nos grupos AR com doença em remissão/baixa atividade da doença (DAS28 < 3,2) e com doença ativa (DAS28 ≥ 3,2)

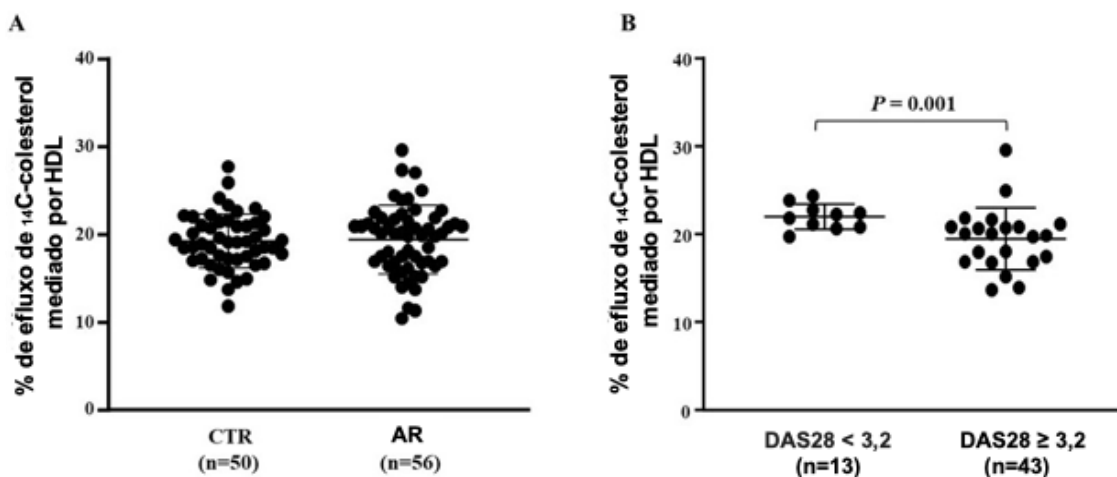


Macrófagos diferenciados a partir de células obtidas da medula óssea de camundongos foram sobrecarregados com colesterol e, a seguir, expostos à HDL dos indivíduos dos grupos AR e controle (CTR), por 24 h. Após lavagem, as células foram incubadas com LPS, como insulto inflamatório, por 24 h. As concentrações de interleucina-6 (IL-6) e de fator de necrose tumoral (TNF) foram determinadas no meio de cultura, por ELISA. O teste de Mann-Whitney mostrou que não houve diferença entre as concentrações de IL-6 ($U = 1.004$; $p = 0,456$) e de TNF ($U = 1.010$; $p = 0,484$) entre os grupos CTR e AR (A,B); e não houve diferença entre as concentrações de IL-6 ($U = 170$; $p = 0,535$) e de TNF ($U = 181$; $p = 0,728$) entre os grupos AR com doença em remissão/baixa atividade da doença (DAS28 < 3,2) e com doença ativa (DAS28 ≥ 3,2) (C,D).

5.5 ELUXO DE COLESTEROL MEDIADO PELA HDL

O efluxo de colesterol dos macrófagos foi semelhante entre as HDL dos grupos CTR e AR (figura 7A). No entanto, foi reduzido em 16,76% na doença ativa em comparação com a AR de remissão/baixa atividade (figura 7B), com poder estatístico de 0,82.

Figura 7 - Efluxo de colesterol mediado pela HDL nos grupos CTR e AR, e nos grupos AR com doença em remissão/baixa atividade da doença ($\text{DAS28} < 3,2$) e com doença ativa ($\text{DAS28} \geq 3,2$)



Efluxo de colesterol mediado pela HDL. Macrófagos derivados da medula óssea foram sobrecarregados com LDL acetilada e ^{14}C -colesterol, após foram expostos às HDL isoladas dos grupos CTR e AR, e dos grupos AR com doença em remissão/baixa atividade da doença ($\text{DAS28} < 3,2$) e com doença ativa ($\text{DAS28} \geq 3,2$), como aceptores de colesterol. Os dados foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, sempre como análises bilaterais, entre os grupos CTR e AR (**A**), e entre os grupos AR com doença em remissão/baixa atividade da doença ($\text{DAS28} < 3,2$) e com doença ativa ($\text{DAS28} \geq 3,2$) (**B**).

5.6 PREDITORES PARA ARTRITE REUMATOIDE ATIVA

Os preditores significativos para AR com doença ativa são mostrados na tabela 10, os quais foram revelados por modelo de regressão logística binária. As concentrações do HDLc; a razão CT/apoB; os conteúdos da HDL em CT, FL e apoA-1; e o efluxo de colesterol mediado pela HDL mostraram serem preditores negativos. Enquanto, o IMC e as concentrações plasmáticas de TG foram preditores positivos.

Tabela 10 - Modelo de regressão logística binária para o grupo AR com doença ativa

Doença Ativa (DAS28 $\geq$ 3,2)				
<i>n</i> = 43				
	R² Cox-Snell	OR	IC 95%	<i>p</i>
IMC (Kg/m²)	0,078	1,169	1,004-1,360	0,044
HDLc (mg/dL)	0,137	0,931	0,882-0,984	0,011
TG (mg/dL)	0,137	1,031	1,005-1,057	0,020
CT/apoB	0,139	0,314	0,126-0,781	0,013
HDL-CT (mg/dL)	0,181	0,912	0,853-0,976	0,007
HDL-FL (mg/dL)	0,074	0,973	0,947-1,000	0,048
HDL-apoA-1 (mg/dL)	0,127	0,932	0,882-0,985	0,013
Efluxo de colesterol mediado pela HDL	0,165	0,738	0,591-0,921	0,007

apoA1, apolipoproteína A-1; apoB, apolipoproteína B; AR, grupo artrite reumatoide; CT, colesterol total; DAS28, escore de atividade da doença com contagem de 28 articulações; FL, fosfolípides; HDL, lipoproteína de densidade alta; IMC, índice de massa corpórea; R² Cox-Snell, R quadrado de Cox e Snell; TG, triglicérides.

6. DISCUSSÃO

Neste estudo foram avaliadas as concentrações dos lípides plasmáticos; a composição e as capacidades anti-inflamatória e de remoção do colesterol celular da HDL isolada de indivíduos com artrite reumatoide em comparação aos indivíduos controles, e estas variáveis também foram comparadas entre os grupos AR em remissão/baixa atividade da doença e com doença ativa.

A doença cardiovascular é prevalente na AR e, embora o controle dos fatores de risco CV tradicionais e o manejo clínico da doença possam não mitigar totalmente o risco de morbidade e mortalidade CV, fatores de risco não tradicionais, como estresse oxidativo e alterações no perfil e função das lipoproteínas, contribuem para o risco residual. Os resultados deste estudo enfatizam a importância potencial da composição e funcionalidade do HDL, particularmente na remoção do excesso de colesterol celular, na previsão do risco de AR ativa. Considerando a natureza inflamatória da AR, isto pode impactar o desenvolvimento de aterosclerose em indivíduos com doença mais ativa.

Os trabalhos científicos relatam tanto diminuição, aumento ou concentrações semelhantes de CT e LDLc em indivíduos com AR em comparação aos controles, na maioria dos estudos as concentrações do HDLc estão menores ou semelhantes nos sujeitos com AR quando comparados aos controles. Estas diferenças entre os estudos podem ser explicadas pela desigualdade das populações estudadas e pelos diferentes graus de atividade da doença⁸⁹. No presente estudo, as concentrações mais elevadas do HDLc observadas no grupo AR em comparação ao grupo CTR podem ser atribuídas ao fato da maioria dos indivíduos com AR (94,6%) estar em uso de DMCD. Setenta e um por cento dos indivíduos com AR estavam em uso de metotrexato, que por diminuir o processo inflamatório, levariam à elevação das concentrações do HDLc. Esta suposição é corroborada pelo que foi visto no trabalho de Georgiadis *et al.*⁹⁰, onde foram avaliadas as concentrações plasmáticas do HDLc em 58 sujeitos com AR ativa sem tratamento prévio e após 12 meses de tratamento com metotrexato e prednisona (7,5 mg/dia), em comparação a 63 controles saudáveis. Foi observado que a concentração plasmática do HDLc no grupo com AR pré-tratamento foi significativamente menor que no grupo controle, enquanto no pós-tratamento a concentração do HDLc revelou ser significativamente mais elevada em

comparação aos valores pré-tratamento e aos dos controles. Muitos estudos abordaram os efeitos dos DMCD, terapias biológicas e inibidores da Janus quinase nos perfis lipídicos plasmáticos. Esses medicamentos promovem a redução da inflamação e, ao mesmo tempo, são alcançadas elevações nos níveis plasmáticos do LDLc e do HDLc⁹¹⁻⁹⁷. A maioria dos indivíduos com AR incluídos na presente investigação já estava sendo tratada com esses medicamentos antes do recrutamento, o que pode explicar os níveis mais elevados do HDLc no grupo com AR em comparação ao grupo com CTR.

Observou-se maior concentração plasmática de CT no grupo AR em contraste ao grupo CTR. Isto pode ser explicado devido às maiores concentrações do HDLc no grupo AR em relação aos controles e às concentrações estatisticamente semelhantes do LDLc e de TG nos dois grupos. A razão CT/apoB foi maior nos sujeitos com AR em comparação ao grupo CTR, devido às concentrações maiores de CT no grupo AR em relação ao grupo CTR, uma vez que as concentrações de apoB não apresentaram diferença significativa entre estes grupos.

No presente estudo, as concentrações plasmáticas de TG foram mais elevadas no grupo AR com doença ativa em comparação ao grupo AR em remissão/baixa atividade da doença. Nosso dado está em consonância com estudos que mostraram elevação das concentrações de TG em indivíduos com AR com doença ativa^{98,99}. O aumento de TG na AR pode ser explicado pela grande liberação de IL-6 e de TNF ocasionado pelo processo inflamatório, a qual resulta em redução das concentrações da LPL e da lipase hepática devido regulação negativa da expressão gênica no nível transcricional, o que ao final acarreta diminuição da depuração das partículas ricas em TG. Esta diminuição das concentrações da LPL prejudica a ativação dos receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPAR) colaborando para a elevação dos TG¹⁰⁰.

As concentrações de TG foram positivamente associadas com as concentrações de LDLs pequenas e densas nos indivíduos com AR com doença¹⁰¹. No presente trabalho, as razões TG/HDLc e CT/apoB, índices indicativos de formação de LDLs pequenas e densas, apresentaram diferenças significativas entre os grupos AR com doença ativa e em remissão/baixa atividade da doença. A primeira foi maior e a segunda foi menor, nos indivíduos com doença ativa, indicando maior risco aterogênico nos com doença ativa.

Nos participantes com AR com doença ativa foram evidenciadas menores concentrações do HDLc em comparação aos indivíduos com doença em remissão/baixa atividade da doença. Os estudos sugerem, em geral, que indivíduos com AR com doença ativa apresentam concentrações plasmáticas menores do HDLc, e em oposição a isto, a melhora da inflamação pode contribuir com aumento na concentração do HDL^{52,90,102}. Um estudo comparou 56 participantes com AR ativa com 56 em remissão da doença e encontrou concentrações do HDLc significativamente mais baixos naqueles com doença ativa¹⁰³. A inflamação presente na AR reduz a síntese de apoA-1 e diminui a meia-vida das partículas de HDL no plasma contribuindo para as concentrações menores do HDLc em indivíduos com AR com doença ativa em comparação com doença em remissão/baixa atividade. A partícula de HDL exibe um aumento no conteúdo sérico de amiloide A (SAA) e uma diminuição no conteúdo de apoA-1 durante a resposta de fase aguda. Além disso, há diminuição LCAT, CETP, lipase hepática (HL) e PON1. A fosfolipase A2 secretora (sPLA2) é ativada pela SAA, que desloca a apoA-1 das partículas de HDL e aumenta o catabolismo do HDL, contribuindo para a redução das concentrações do HDLc. A expressão reduzida de CETP observada durante a resposta de fase aguda está ligada à diminuição da atividade do receptor do retinoide X (RXR)/receptor X do fígado (LXR) no fígado¹⁰⁴. As concentrações de sPLA2 foram associados à presença de doença aterosclerótica subclínica e à gravidade da doença em indivíduos com AR precoce¹⁰⁵. A superexpressão da lipase endotelial (EL), que possui atividade de fosfolipase A-1, reduz as concentrações do HDLc, enquanto a inibição da EL aumenta as concentrações do HDLc. Foi demonstrado que o tratamento de células endoteliais cultivadas com TNF ou IL-1 beta ocasionou superexpressão da EL, reduzindo as concentrações do HDLc. Se resultados semelhantes ocorrerem in vivo, isso também poderia explicar as concentrações mais baixas do HDLc observadas nos indivíduos com AR ativa no presente estudo^{98,106}.

Há muitos dados demonstrando que a composição da HDL é mais determinante de suas capacidades funcionais do que as concentrações plasmáticas do HDLc¹⁰⁷. No entanto, a literatura científica possui poucos artigos que avaliem a composição da HDL na AR e em outras doenças autoimunes, e estes diferem nos resultados observados; estas discrepâncias provavelmente ocorrem devido às diferenças nas populações avaliadas e ao grau de atividade inflamatória. No presente estudo, as concentrações de FL e de apoA-1 na partícula de HDL foram maiores no grupo AR em comparação

ao grupo CTR; enquanto os sujeitos com AR com doença ativa apresentaram menores conteúdos da HDL em CT e em apoA-1 quando confrontados aos com doença em remissão/baixa atividade da doença. Alguns trabalhos revelam diminuição do conteúdo em FL e em colesterol total das HDLs isoladas de pessoas com psoríase^{38,107}. O aumento de FL na HDL dos integrantes do grupo AR visto em nosso estudo poderia ser explicado devido à maior atividade da proteína de transferência de fosfolípides (PLTP) vista nos indivíduos com AR¹⁰⁸. Estudos da proteômica da HDL isolada de sujeitos com AR e psoríase apresentaram várias alterações na composição proteica da HDL¹⁰⁷, as partículas de HDL de indivíduos com psoríase de moderado a elevado grau de comprometimento apresentam redução no conteúdo da HDL em apoA-1³⁸, o mesmo foi apontado no nosso estudo nos indivíduos com AR com doença ativa. Indivíduos com doenças autoimunes apresentaram mudança proteômica da HDL, e uma das principais alterações observadas é o deslocamento da apoA-1 pelo SSA, levando à redução de apoA-1 na HDL. Em conjunto, há modificações no lipidoma da HDL, com redução dos conteúdos da HDL em colesterol e em FL³⁸. Watanabe *et al.*¹⁰⁹ não observaram diferenças significativas nas concentrações de apoA-1 na HDL de sujeitos com AR ativa em comparação aos com baixa atividade da doença. Por outro lado, Charles-Schoeman *et al.*⁷ ao avaliarem indivíduos com AR com HDL pró-inflamatória, sendo que a maioria destes sujeitos apresentava doença com alta atividade inflamatória, notaram que estes apresentaram maior conteúdo da HDL em apoA-1 comparados aos com AR com HDL anti-inflamatória, assim como, quando comparados aos controles. No entanto, não foi notada diferença significativa no conteúdo da HDL em apoA-1 dos participantes do grupo total com AR (sem subdividi-los em com HDL pró ou anti-inflamatória) em relação aos controles.

No presente estudo, o conteúdo de CT e de apoA-1 nas partículas de HDL foram mais baixas em indivíduos com AR ativa em comparação com aqueles com doença em remissão/baixa atividade da doença, o que pode ter impactado a capacidade da HDL em mediar o efluxo de colesterol dos macrófagos. A inflamação não apenas diminui as concentrações do HDLc, mas também reduz o conteúdo de CE e de apoA-1 das partículas da HDL¹¹⁰.

A atividade da doença traz muitas consequências indesejáveis para a partícula da HDL. Muitos estudos já evidenciaram que um estado inflamatório poderia prejudicar o principal efeito ateroprotetor da HDL⁹. As características habituais da HDL ficam comprometidas, incluindo o seu papel na via reversa de transporte do colesterol,

com piora da CEC da HDL, bem como aumento do FL oxidado na LDL e indução da migração de monócitos, acabando por reduzir as funções ateroprotetoras e aumentando o risco de DCV⁷. No contexto da inflamação, a expressão e atividade da PON1 hepática diminuem, contribuindo potencialmente para o aumento da oxidação da LDL⁵¹. As citocinas pró-inflamatórias diminuem a síntese de apoA-1 e a expressão dos transportadores ABCA-1 e ABCG-1, do receptor SR-B1 e da apolipoproteína E em macrófagos, levando a um efluxo menor de colesterol para a HDL. A expressão de SR-B1 é regulada por PPARs e pelo receptor farnesóide X (FXR). Consequentemente, a redução nas atividades do PPAR/receptor do retinoide X (RXR) e do FXR/RXR no fígado podem mediar o declínio de SR-B1 durante a resposta de fase aguda, levando à diminuição da entrega de ésteres de colesterol aos hepatócitos¹¹¹⁻¹¹³. O HDL estruturalmente modificado pela inflamação é um fraco aceitador de colesterol celular e pode até transferir o colesterol de volta aos macrófagos. As citocinas inflamatórias diminuem a síntese e a atividade da LCAT, diminuindo a geração de colesterol esterificado, o que reduz tanto a produção de HDL esférico normal quanto a capacidade da HDL de transportar colesterol para o fígado e para órgãos esteroideogênicos⁷.

Na presente investigação, a capacidade intrínseca da HDL de remover o colesterol celular foi semelhante quando comparamos o grupo CTR com o grupo AR incluindo todos os níveis de atividade da doença. Por outro lado, ao dividir os indivíduos com AR de acordo com o estágio inflamatório da doença, foi observada redução de 16,76% no efluxo de colesterol dos macrófagos mediado pela HDL isolada de indivíduos com AR ativa em comparação ao HDL de indivíduos com a doença em remissão /baixa atividade. Este achado concorda com o conceito de que a inflamação afeta a função da HDL e está relacionada a um risco CV mais pronunciado. Charles-Schoeman *et al.*⁵⁸ encontraram resultados semelhantes, não relatando diferença no efluxo de colesterol entre pacientes com AR e controles saudáveis. No entanto, é importante notar que, ao contrário da presente investigação, os autores empregaram um método diferente para obter HDL e não abordaram a composição das partículas de HDL ou o seu papel na previsão da atividade da doença.

A capacidade do soro depletado de apoB, consistindo apenas de HDL como componente lipoproteico, de mediar a CEC de macrófagos tem sido diretamente associada à proteção CV em vários ensaios clínicos, independentemente da concentração plasmática do HDL^{c114}. Ronda *et al.*¹¹⁵ observaram menor CEC mediada

por soro de indivíduos com AR em comparação aos controles. Além disso, a CEC estava prejudicada em indivíduos com AR com alta atividade da doença em comparação com aqueles com baixa atividade da doença. A redução da CEC foi atribuída à via mediada pelo ABCG-1, com associação inversa com a atividade da doença, destacando o impacto da inflamação na função da HDL. Não houve diferença no efluxo mediado por soro através do SR-B1, do ABCA-1 ou da difusão aquosa em indivíduos com AR em comparação com controles¹¹⁵.

A CEC mediada por ABCA-1 foi associada a menor número e progressão de placas aterogênicas em indivíduos com baixa concentração de PCR, não usuários de prednisona e em uso de DMCD biológicas na avaliação inicial. Curiosamente, a CEC foi associada à rápida progressão da aterosclerose naqueles com alta concentração de PCR na avaliação inicial, usuários de prednisona e não usuários de metotrexato ou DMCD biológicas. Isto sugere que a CEC mediada por ABCA-1 contribui para um estado pró-aterogênico quando a AR não está sob controle inflamatório¹¹⁶.

Weber *et al.*¹¹⁷ não encontraram alterações na CEC em indivíduos com AR divididos em dois grupos: um com aumento e outro com diminuição da PCR ≥ 10 mg/L em duas consultas anuais consecutivas. Porém, conforme mencionado pelos autores, o estudo apresentou limitações, pois diferentes razões contribuíram para o aumento da inflamação observado nos participantes, além da AR, incluindo a presença concomitante de infecções, traumas e outras condições¹¹⁷. Um estudo anterior do mesmo grupo mostrou que redução na inflamação estava associada a melhoria significativa na CEC da HDL¹¹⁸.

Numa revisão sistemática e meta-análise, com 11 estudos eleitos (6 observacionais e 5 de intervenção), foi determinada a CEC, quer seja pelo soro isento (na maioria dos estudos) em apoB ou pela HDL isolada de indivíduos com AR. Não houve diferença na CEC apesar da redução da concentração do HDLc naquelas com AR, comparadas a controles saudáveis. Em dois estudos de intervenção, a CEC nos indivíduos com AR foi melhorada a despeito de não ocorrer variação na concentração do HDLc, após o tratamento com drogas modificadoras do curso da doença (DMCD)¹¹⁹.

Na inflamação, a oxidação da HDL exerce efeitos pró-inflamatórios nos monócitos, promovendo a regulação positiva do receptor beta do fator de crescimento derivado de plaquetas, aumentando assim sua quimiotaxia e liberação de TNF. Monócitos de indivíduos com baixas concentrações do HDLc exibiram expressão

aumentada de genes inflamatórios, incluindo TNF³⁸. Além disso, os monócitos podem se diferenciar em macrófagos M1 classicamente ativados, promovendo a inflamação, e macrófagos M2 envolvidos na resolução da inflamação. Fatores humorais podem alterar o equilíbrio entre macrófagos M1 e M2; e em camundongos, a HDL aumentou a expressão de marcadores de macrófagos M2, levando a mudanças significativas no conteúdo e nas características dos macrófagos derivados de monócitos, bem como à regressão de placas ateroscleróticas¹²⁰. A análise do papel da HDL na mitigação da disfunção endotelial, conforme indicado por meio da produção de IL-6, mostrou menor eficácia em indivíduos com baixas concentrações plasmáticas do HDLc em comparação com aqueles com concentrações médias ou altas¹²¹. Além disso, em camundongos com artrite induzida por colágeno, a administração da HDL reduziu as concentrações de IL-6 e TNF em comparação com animais não tratados¹²².

Inesperadamente, ao testar a capacidade da HDL em reduzir a secreção de citocinas inflamatórias em macrófagos insultados com LPS, não foram observadas diferenças entre os grupos CTR e AR, nem entre os grupos AR (remissão/baixa atividade vs. doença ativa). No entanto, foi observada uma correlação positiva entre a secreção de IL-6 e os valores do escore DAS28 nos indivíduos com AR ativa, indicando que a redução da atividade anti-inflamatória da HDL está relacionada à doença ativa. É importante considerar que o comprometimento da HDL no efluxo de colesterol, conforme demonstrado neste estudo, pode impactar a resposta inflamatória. O acúmulo intracelular de colesterol, bem como o consequente aumento do estresse oxidativo e do estresse do retículo endoplasmático (RE), desencadeiam vias inflamatórias que podem piorar a progressão clínica da AR. Essas vias incluem a ativação de vias apoptóticas e do inflamassoma, que desencadeiam a morte celular por piroptose, ligando complicações reumatológicas inflamatórias à aterosclerose¹²³. Portanto, pode-se inferir que o comprometimento da função da HDL na remoção do colesterol pode, em longo prazo, estimular a inflamação e até mesmo comprometer sua atividade anti-inflamatória. O papel da HDL isolada de indivíduos com AR no estresse do retículo endoplasmático (RE) e na ativação do inflamassoma deve ser mais investigado. Vale ressaltar que a remoção do excesso de colesterol, além de reduzir o acúmulo intracelular de esteróis, limita o estresse oxidativo e inflamatório que acompanha a evolução da placa aterosclerótica¹²⁴.

O efluxo de colesterol mediado pela HDL reduz o conteúdo e a sinalização do TLR-4 nos macrófagos, levando a uma diminuição na liberação de citocinas

inflamatórias¹²⁵. Neste trabalho, conforme demonstrado pela análise de regressão logística binária, descobriu-se que a remoção do colesterol celular pela HDL aumenta o OR da AR progredir para uma forma clínica ativa. Os resultados da presente investigação demonstraram que o aumento do HDLc, da relação CT/apoB e do conteúdo da HDL em CT, bem como em FL e em apoA-1 foram associados a uma diminuição da OR para doença ativa em indivíduos com AR em 6,9%, 68,6%, 8,8%, 2,7% e 6,8%, respectivamente. A redução na porcentagem de efluxo de colesterol mediado pela HDL elevou em 26,2% o OR de um indivíduo com AR ter doença ativa. Neste contexto, deve-se considerar um ciclo vicioso, onde a perda da funcionalidade da HDL contribui para a AR ativa, que, através do aumento do insulto inflamatório, exacerba a redução da funcionalidade da HDL, agravando assim o risco de doença macrovascular aterosclerótica.

A perda da funcionalidade da HDL também pode ajudar a compreender melhor o paradoxo lipídico descrito em indivíduos com AR, onde observa-se alto risco CV apesar das baixas concentrações plasmáticas de CT e LDLc. Além disso, as inconsistências em relação aos lipídios plasmáticos e DCV na AR também podem ser explicadas pelo pequeno número de indivíduos incluídos em alguns estudos, bem como pela considerável heterogeneidade relacionada à doença e à diversidade demográfica dos estudos⁹⁸.

Este estudo estimou o OR para a associação entre os diferentes níveis de atividade inflamatória da AR e as concentrações plasmáticas do HDLc, a composição e a funcionalidade da partícula de HDL. Contudo, uma vez que os estudos transversais não podem estabelecer causalidade, futuros estudos longitudinais devem explorar relações de causa e efeito. Com base nos critérios de inclusão do estudo, o grupo remissão/baixa atividade teve um número pequeno de participantes incluídos, o que pode representar uma limitação da presente investigação. Considerando o pequeno tamanho da amostra, não foi realizada análise multivariada. Apesar disso, o R-quadrado e o poder estatístico calculados alcançaram valores adequados.

Os achados deste estudo demonstram que a composição e função da HDL podem influenciar o risco de DCV na AR, afetando o perfil inflamatório da doença. Estes resultados devem ser validados através de ensaios clínicos maiores e de longo prazo para melhor estabelecer a relação temporal entre a disfunção da HDL e a atividade da AR.

7. CONCLUSÃO

Os indivíduos com AR ativa apresentaram menor concentração plasmática do HDLc, maiores concentrações de TG, maiores valores da razão TG/HDL, menores valores da razão CT/apoB, menores conteúdos de CT (HDL-CT) e de apoA-1 (HDL-apoA-1) em comparação aos em remissão/baixa atividade de doença, demonstrando um perfil lipídico mais aterogênico na AR com maior atividade inflamatória.

A capacidade da HDL em reduzir a secreção de citocinas inflamatórias em macrófagos insultados com LPS, foi semelhante entre os grupos CTR e AR, e entre os grupos AR em remissão/baixa atividade e com doença ativa. No entanto, foi observada uma correlação positiva entre a secreção de IL-6 e os valores do escore DAS28 nos indivíduos com AR ativa, indicando que a redução da atividade anti-inflamatória da HDL pode estar relacionada à doença ativa.

O efluxo de colesterol dos macrófagos mediado pela HDL foi reduzido nos participantes com AR com doença ativa em comparação aos com AR em remissão/baixa atividade.

A concentração plasmática do HDLc; a razão CT/apoB; os conteúdos da HDL em CT, FL e apoA-1; e o efluxo de colesterol mediado pela HDL foram preditores negativos para AR ativa. Enquanto, o IMC e as concentrações plasmáticas de TG foram preditores positivos.

Os achados deste estudo sugerem que as concentrações plasmáticas do HDLc e de TG, a composição e a funcionalidade da HDL afetam o perfil inflamatório da AR.

REFERÊNCIAS

1. Carbone F, Bonaventura A, Liberale L, Paolino S, Torre F, Dallegri F, et al. Atherosclerosis in Rheumatoid Arthritis: Promoters and Opponents. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2020 Feb 1;58. doi: 10.1007/s12016-018-8714-z.
2. Wilson PW, Abbott RD, Castelli WP. High density lipoprotein cholesterol and mortality. The Framingham Heart Study. *Arteriosclerosis*. 1988;8(6):737–41. doi: 10.1161/01.atv.8.6.737.
3. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001 May 16;285(19):2486–97. doi: 10.1001/jama.285.19.2486.
4. Siddiqi HK, Kiss D, Rader D. HDL-cholesterol and cardiovascular disease: rethinking our approach. *Curr Opin Cardiol*. 2015 Sep;30(5):536–42. doi: 10.1097/HCO.0000000000000211.
5. Bartlett J, Predazzi IM, Williams SM, Bush WS, Kim Y, Havas S, et al. Is Isolated Low High-Density Lipoprotein Cholesterol a Cardiovascular Disease Risk Factor? New Insights From the Framingham Offspring Study. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2016 May;9(3):206–12. doi: 10.1161/CIRCOUTCOMES.115.002436.
6. Ansell BJ, Navab M, Hama S, Kamranpour N, Fonarow G, Hough G, et al. Inflammatory/antiinflammatory properties of high-density lipoprotein distinguish patients from control subjects better than high-density lipoprotein cholesterol levels and are favorably affected by simvastatin treatment. *Circulation*. 2003 Dec 2;108(22):2751–6. doi: 10.1161/01.CIR.0000103624.14436.4B.
7. Charles-Schoeman C, Watanabe J, Lee YY, Furst DE, Amjadi S, Elashoff D, et al. Abnormal function of high-density lipoprotein is associated with poor disease control and an altered protein cargo in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2009 Oct;60(10):2870–9. doi: 10.1002/art.24802.
8. G HB, Rao VS, Kakkar VV. Friend Turns Foe: Transformation of Anti-Inflammatory HDL to Proinflammatory HDL during Acute-Phase Response. *Cholesterol*. 2011;2011:274629. doi: 10.1155/2011/274629.
9. Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Novel Insights From Human Studies on the Role of High-Density Lipoprotein in Mortality and Noncardiovascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2021 Jan;41(1):128–40. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.314050.
10. England BR, Thiele GM, Anderson DR, Mikuls TR. Increased cardiovascular risk in rheumatoid arthritis: mechanisms and implications. *BMJ*. 2018 Apr 23;361:k1036. doi: 10.1136/bmj.k1036.
11. Ormseth MJ, Stein CM. HDL Function in Rheumatoid Arthritis. *Curr Opin Lipidol*. 2016 Feb;27(1):67–75. doi: 10.1097/MOL.0000000000000256.
12. van der Woude D, van der Helm-van Mil AHM. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*.

2018 Apr;32(2):174–87. doi: 10.1016/j.berh.2018.10.005.

13. Almutairi K, Nossent J, Preen D, Keen H, Inderjeeth C. The global prevalence of rheumatoid arthritis: a meta-analysis based on a systematic review. *Rheumatol Int.* 2021 May;41(5):863–77. doi: 10.1007/s00296-020-04731-0.

14. da Mota LMH, Cruz BA, Brenol CV, Pereira IA, Fronza LSR, Bertolo MB, et al. 2011 Consensus of the Brazilian Society of Rheumatology for diagnosis and early assessment of rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol.* 2011;51(3):199–219.

15. Marques Neto JF, Gonçalves ET, Langen LF de OB, Cunha M de FL, Radominski S, Oliveira SM de, et al. Estudo multicêntrico da prevalência da artrite reumatóide do adulto em amostras da população brasileira. *Rev bras reumatol.* 1993;169–73.

16. Figus FA, Piga M, Azzolin I, McConnell R, Iagnocco A. Rheumatoid arthritis: Extra-articular manifestations and comorbidities. *Autoimmunity Reviews.* 2021 Apr;20(4):102776. doi: 10.1016/j.autrev.2021.102776.

17. Gravallese EM, Firestein GS. Rheumatoid Arthritis - Common Origins, Divergent Mechanisms. *N Engl J Med.* 2023 Feb 9;388(6):529–42. doi: 10.1056/NEJMra2103726.

18. Adaptado de BioRender [Internet]. 2024. Available from: <https://www.biorender.com/>

19. McInnes IB, Schett G. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med.* 2011 Dec 8;365(23):2205–19. doi: 10.1056/NEJMra1004965.

20. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010 Sep;62(9):2569–81. doi: 10.1136/ard.2010.138461.

21. Myasoedova E, Davis JM, Crowson CS, Gabriel SE. Epidemiology of Rheumatoid Arthritis: Rheumatoid Arthritis and Mortality. *Curr Rheumatol Rep.* 2010 Oct;12(5):379–85. doi: 10.1007/s11926-010-0117-y.

22. Aviña-Zubieta JA, Choi HK, Sadatsafavi M, Etminan M, Esdaile JM, Lacaille D. Risk of cardiovascular mortality in patients with rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Arthritis Rheum.* 2008 Dec 15;59(12):1690–7. doi: 10.1002/art.24092.

23. Dijkshoorn B, Raadsen R, Nurmohamed MT. Cardiovascular Disease Risk in Rheumatoid Arthritis Anno 2022. *JCM.* 2022 May 11;11(10):2704. doi: 10.3390/jcm11102704.

24. Arida A, Protogerou A, Kitas G, Sfrikakis P. Systemic Inflammatory Response and Atherosclerosis: The Paradigm of Chronic Inflammatory Rheumatic Diseases. *IJMS.* 2018 Jun 27;19(7):1890. doi: 10.3390/ijms19071890.

25. Passarelli M, Nakandakare ER. Lipoproteínas. In: Quintão ECR, Nakandakare ER, Passarelli M. *Lípidos do metabolismo à aterosclerose*. 1ª. ed. São Paulo: Sarvier; 2011. p. 1-88.

26. Forti N, Diamant J. Lipoproteínas de alta densidade: aspectos metabólicos,

clínicos, epidemiológicos e de intervenção terapêutica. Atualização para os clínicos. *Arq Bras Cardiol.* 2006 Nov;87(5):671–9. doi: 10.1590/S0066-782X2006001800019.

27. Adorni MP, Ronda N, Bernini F, Zimetti F. High Density Lipoprotein Cholesterol Efflux Capacity and Atherosclerosis in Cardiovascular Disease: Pathophysiological Aspects and Pharmacological Perspectives. *Cells.* 2021 Mar 5;10(3):574. doi: 10.3390/cells10030574.

28. Rohatgi A, Westerterp M, von Eckardstein A, Remaley A, Rye KA. HDL in the 21st Century: A Multifunctional Roadmap for Future HDL Research. *Circulation.* 2021 Jun 8;143(23):2293–309. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.044221.

29. Ouimet M, Barrett TJ, Fisher EA. HDL and Reverse Cholesterol Transport: Basic Mechanisms and Their Roles in Vascular Health and Disease. *Circ Res.* 2019 May 10;124(10):1505–18. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.119.312617.

30. Brites F, Martin M, Guillas I, Kontush A. Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): Mechanistic insights into potential clinical benefit. *BBA Clinical.* 2017 Dec;8:66–77. doi: 10.1016/j.bbacli.2017.07.002.

31. Ashen MD, Blumenthal RS. Clinical practice. Low HDL Cholesterol Levels. *N Engl J Med.* 2005 Sep 22;353(12):1252–60. doi: 10.1056/NEJMcp044370.

32. Sviridov D, Nestel P. Dynamics of reverse cholesterol transport: protection against atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2002 Apr;161(2):245–54. doi: 10.1016/s0021-9150(01)00677-3.

33. Brewer HB. High-Density Lipoproteins: A New Potential Therapeutic Target for the Prevention of Cardiovascular Disease. *ATVB.* 2004 Mar;24(3):387–91. doi: 10.1161/01.ATV.0000121505.88326.d2.

34. Phillips MC. Molecular mechanisms of cellular cholesterol efflux. *J Biol Chem.* 2014 Aug 29;289(35):24020–9. doi: 10.1074/jbc.R114.583658.

35. Leança CC, Passarelli M, Nakandakare ER, Quintão ECR. HDL: o yin-yang da doença cardiovascular. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2010 Dec;54(9):777–84. doi: 10.1590/S0004-27302010000900002.

36. Xiang AS, Kingwell BA. Rethinking good cholesterol: a clinicians' guide to understanding HDL. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2019 Jul;7(7):575–82. doi: 10.1016/S2213-8587(19)30003-8.

37. Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Extreme high high-density lipoprotein cholesterol is paradoxically associated with high mortality in men and women: two prospective cohort studies. *Eur Heart J.* 2017 Aug 21;38(32):2478–86. doi: 10.1093/eurheartj/ehx163.

38. Bonacina F, Pirillo A, Catapano AL, Norata GD. HDL in Immune-Inflammatory Responses: Implications beyond Cardiovascular Diseases. *Cells.* 2021 Apr 29;10(5):1061. doi: 10.3390/cells10051061.

39. Parra ES, Panzoldo NB, Zago VH de S, Scherrer DZ, Alexandre F, Bakkarat J, et al. HDL size is more accurate than HDL cholesterol to predict carotid subclinical atherosclerosis in individuals classified as low cardiovascular risk. *PLoS One.* 2014;9(12):e114212. doi: 10.1371/journal.pone.0114212.

40. Sviridov D, Mukhamedova N, Remaley AT, Chin-Dusting J, Nestel P. Antiatherogenic functionality of high density lipoprotein: how much versus how good. *J Atheroscler Thromb*. 2008 Apr;15(2):52–62. doi: 10.5551/jat.e571. Epub 2008 Apr 3.
41. Negre-Salvayre A, Dousset N, Ferretti G, Bacchetti T, Curatola G, Salvayre R. Antioxidant and cytoprotective properties of high-density lipoproteins in vascular cells. *Free Radic Biol Med*. 2006 Oct 1;41(7):1031–40. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.07.006.
42. Trakaki A, Marsche G. Current Understanding of the Immunomodulatory Activities of High-Density Lipoproteins. *Biomedicines*. 2021 May 21;9(6):587. doi: 10.3390/biomedicines9060587.
43. Cho KH. The Current Status of Research on High-Density Lipoproteins (HDL): A Paradigm Shift from HDL Quantity to HDL Quality and HDL Functionality. *Int J Mol Sci*. 2022 Apr 2;23(7):3967. doi: 10.3390/ijms23073967.
44. Kurano M, Yatomi Y. Sphingosine 1-Phosphate and Atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*. 2018 Jan 1;25(1):16–26. doi: 10.5551/jat.RV17010.
45. Norata GD, Pirillo A, Ammirati E, Catapano AL. Emerging role of high density lipoproteins as a player in the immune system. *Atherosclerosis*. 2012 Jan;220(1):11–21. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.06.045.
46. Tölle M, Pawlak A, Schuchardt M, Kawamura A, Tietge UJ, Lorkowski S, et al. HDL-Associated Lysosphingolipids Inhibit NAD(P)H Oxidase-Dependent Monocyte Chemoattractant Protein-1 Production. *ATVB*. 2008 Aug;28(8):1542–8. doi: 10.1161/ATVBAHA.107.161042.
47. Sezgin E, Levental I, Mayor S, Eggeling C. The mystery of membrane organization: composition, regulation and roles of lipid rafts. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2017 Jun;18(6):361–74. doi: 10.1038/nrm.2017.16.
48. Wang SH, Yuan SG, Peng DQ, Zhao SP. HDL and ApoA-I inhibit antigen presentation-mediated T cell activation by disrupting lipid rafts in antigen presenting cells. *Atherosclerosis*. 2012 Nov;225(1):105–14. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.07.029.
49. Sviridov D, Mukhamedova N, Miller YI. Lipid rafts as a therapeutic target. *J Lipid Res*. 2020 May;61(5):687–95. doi: 10.1194/jlr.TR120000658.
50. Lemaire-Ewing S, Lagrost L, Néel D. Lipid rafts: a signalling platform linking lipoprotein metabolism to atherogenesis. *Atherosclerosis*. 2012 Apr;221(2):303–10. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2011.10.016.
51. Van Lenten BJ, Hama SY, de Beer FC, Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM, et al. Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures. *J Clin Invest*. 1995 Dec;96(6):2758–67. doi: 10.1172/JCI118345.
52. Myasoedova E, Crowson CS, Kremers HM, Roger VL, Fitz-Gibbon PD, Therneau TM, et al. Lipid paradox in rheumatoid arthritis: the impact of serum lipid measures and systemic inflammation on the risk of cardiovascular disease. *Ann Rheum Dis*. 2011 Mar;70(3):482–7. doi: 10.1136/ard.2010.135871.
53. Navarro-Millán I, Yang S, DuVall SL, Chen L, Baddley J, Cannon GW, et al.

Association of hyperlipidaemia, inflammation and serological status and coronary heart disease among patients with rheumatoid arthritis: data from the National Veterans Health Administration. *Ann Rheum Dis.* 2016 Feb;75(2):341–7. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204987.

54. Karpouzas GA, Ormseth SR, Ronda N, Hernandez E, Budoff MJ. Lipoprotein oxidation may underlie the paradoxical association of low cholesterol with coronary atherosclerotic risk in rheumatoid arthritis. *J Autoimmun.* 2022 May;129:102815. doi: 10.1016/j.jaut.2022.102815.

55. Weber BN, Giles JT, Liao KP. Shared inflammatory pathways of rheumatoid arthritis and atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2023 Jul;19(7):417–28. doi: 10.1038/s41584-023-00969-7.

56. Popova V, Geneva-Popova M, Kraev K, Batalov A. Assessment of TNF- α expression in unstable atherosclerotic plaques, serum IL-6 and TNF- α levels in patients with acute coronary syndrome and rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2022 Sep;42(9):1589–96. doi: 10.1007/s00296-022-05113-4.

57. Mangoni AA, Zinellu A. A systematic review and meta-analysis of circulating adhesion molecules in rheumatoid arthritis. *Inflamm Res.* 2024 Mar;73(3):305–27. doi: 10.1007/s00011-023-01837-6.

58. Charles-Schoeman C, Lee YY, Grijalva V, Amjadi S, FitzGerald J, Ranganath VK, et al. Cholesterol efflux by high density lipoproteins is impaired in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2012 Jul ;71(7):1157–62. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-200493.

59. Mantel Å, Holmqvist M, Nyberg F, Tornling G, Frisell T, Alfredsson L, et al. Risk Factors for the Rapid Increase in Risk of Acute Coronary Events in Patients With New-Onset Rheumatoid Arthritis: A Nested Case–Control Study. *Arthritis & Rheumatology.* 2015 Nov;67(11):2845–54. doi: 10.1002/art.39267.

60. Solomon DH, Reed GW, Kremer JM, Curtis JR, Farkouh ME, Harrold LR, et al. Disease activity in rheumatoid arthritis and the risk of cardiovascular events. *Arthritis Rheumatol.* 2015 Jun;67(6):1449–55. doi: 10.1002/art.39098.

61. Arts EEA, Fransen J, den Broeder AA, Popa CD, van Riel PLCM. The effect of disease duration and disease activity on the risk of cardiovascular disease in rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis.* 2015 Jun;74(6):998–1003. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204531.

62. McMahon M, Grossman J, FitzGerald J, Dahlin-Lee E, Wallace DJ, Thong BY, et al. Proinflammatory high-density lipoprotein as a biomarker for atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism.* 2006 Aug;54(8):2541–9. doi: 10.1002/art.21976.

63. Rosso LG, Lhomme M, Meroño T, Sorroche P, Catoggio L, Soriano E, et al. Altered lipidome and antioxidative activity of small, dense HDL in normolipidemic rheumatoid arthritis: Relevance of inflammation. *Atherosclerosis.* 2014 Dec 1;237(2):652–60. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.09.034.

64. Greco D, Gualtierotti R, Agosti P, Adorni MP, Ingegnoli F, Rota M, et al. Anti-atherogenic Modification of Serum Lipoprotein Function in Patients with Rheumatoid Arthritis after Tocilizumab Treatment, a Pilot Study. *J Clin Med.* 2020 Jul

8;9(7):2157. doi: 10.3390/jcm9072157.

65. Mahmoudi M, Aslani S, Fadaei R, Jamshidi AR. New insights to the mechanisms underlying atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2017 Mar;20(3):287–97. doi: 10.1111/1756-185X.12999.

66. Rodríguez-Carrio J, Alperi-López M, López-Mejías R, López P, Ballina-García FJ, Abal F, et al. Antibodies to paraoxonase 1 are associated with oxidant status and endothelial activation in rheumatoid arthritis. *Clinical Science*. 2016 Nov 1;130(21):1889–99. doi: 10.1042/CS20160374.

67. Vivekanandan-Giri A, Slocum JL, Byun J, Tang C, Sands RL, Gillespie BW, et al. High density lipoprotein is targeted for oxidation by myeloperoxidase in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013 Oct;72(10):1725–31. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202033.

68. Strzepa A, Pritchard KA, Dittel BN. Myeloperoxidase: A new player in autoimmunity. *Cellular Immunology*. 2017 Jul;317:1–8. doi: 10.1016/j.cellimm.2017.05.002.

69. Rodríguez-Carrio J, Alperi-López M, López P, Ballina-García FJ, Abal F, Suárez A. Antibodies to high-density lipoproteins are associated with inflammation and cardiovascular disease in rheumatoid arthritis patients. *Translational Research*. 2015 Dec;166(6):529–39. doi: 10.1016/j.trsl.2015.07.004.

70. Chen PK, Tang KT, Chen DY. The NLRP3 Inflammasome as a Pathogenic Player Showing Therapeutic Potential in Rheumatoid Arthritis and Its Comorbidities: A Narrative Review. *Int J Mol Sci*. 2024 Jan 3;25(1):626. doi: 10.3390/ijms25010626.

71. Tall AR. HDL in Morbidity and Mortality: A 40+ Year Perspective. *Clin Chem*. 2021 Jan 8;67(1):19–23. doi: 10.1093/clinchem/hvaa148.

72. Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Low HDL Cholesterol and High Risk of Autoimmune Disease: Two Population-Based Cohort Studies Including 117341 Individuals. *Clin Chem*. 2019 May 1;65(5):644–52. doi: 10.1373/clinchem.2018.299636.

73. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods*. 2007 May 1;39(2):175–91. doi: 10.3758/bf03193146.

74. Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, Sociedade Brasileira de Diabetes, Sociedade Brasileira de Estudos da Obesidade. [Brazilian guidelines on diagnosis and treatment of metabolic syndrome]. *Arq Bras Cardiol*. 2005 Apr;84 Suppl 1:1–28.

75. Carr DB, Utzschneider KM, Hull RL, Kodama K, Retzlaff BM, Brunzell JD, et al. Intra-abdominal fat is a major determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria for the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2004 Aug;53(8):2087–94. doi: 10.2337/diabetes.53.8.2087.

76. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And

Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001 May 16;285(19):2486–97. doi: 10.1001/jama.285.19.2486.

77. Anderson J, Caplan L, Yazdany J, Robbins ML, Neogi T, Michaud K, et al. Rheumatoid arthritis disease activity measures: American College of Rheumatology recommendations for use in clinical practice. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012 May;64(5):640–7. doi: 10.1002/acr.21649.

78. Van Riel PLCM. DAS-score website [Internet]. On-line calculator. Disponível em: <http://www.das-score.nl>.

79. England BR, Tiong BK, Bergman MJ, Curtis JR, Kazi S, Mikuls TR, et al. 2019 Update of the American College of Rheumatology Recommended Rheumatoid Arthritis Disease Activity Measures. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2019 Dec;71(12):1540–55. doi: 10.1002/acr.24042.

80. McWilliams DF, Kiely PDW, Young A, Joharatnam N, Wilson D, Walsh DA. Interpretation of DAS28 and its components in the assessment of inflammatory and non-inflammatory aspects of rheumatoid arthritis. *BMC Rheumatol*. 2018;2:8. doi: 10.1186/s41927-018-0016-9.

81. Chua CKT, Teng GG, Cheung PP, Fong WWS, Leong KH, Leung YY, et al. Singapore chapter of rheumatologists' updated consensus statement on the eligibility for government subsidization of biologic and targeted therapy for the treatment of psoriatic arthritis. *Int J Rheum Dis*. 2020 Feb;23(2):153–64. doi: 10.1111/1756-185X.13754.

82. Nagy G, Roodenrijs NM, Welsing PM, Kedves M, Hamar A, van der Goes MC, et al. EULAR definition of difficult-to-treat rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2021 Jan;80(1):31–5. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-217344.

83. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972 Jun;18(6):499–502.

84. Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest*. 1955 Sep;34(9):1345–53. doi: 10.1172/JCI103182.

85. Basu SK, Goldstein JL, Anderson GW, Brown MS. Degradation of cationized low density lipoprotein and regulation of cholesterol metabolism in homozygous familial hypercholesterolemia fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976 Sep;73(9):3178–82. doi: 10.1073/pnas.73.9.3178.

86. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951 Nov;193(1):265–75.

87. Okuda LS, Castilho G, Rocco DDFM, Nakandakare ER, Catanozi S, Passarelli M. Advanced glycated albumin impairs HDL anti-inflammatory activity and primes macrophages for inflammatory response that reduces reverse cholesterol transport. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Dec;1821(12):1485–92. doi: 10.1016/j.bbailip.2012.08.011.

88. Minanni CA, Machado-Lima A, Iborra RT, Okuda LS, de Souza Pinto R, Santana M de FM, et al. Persistent Effect of Advanced Glycated Albumin Driving

Inflammation and Disturbances in Cholesterol Efflux in Macrophages. *Nutrients*. 2021 Oct 17;13(10):3633. doi: 10.3390/nu13103633.

89. Nurmohamed MT. Atherogenic lipid profiles and its management in patients with rheumatoid arthritis. *Vasc Health Risk Manag*. 2007;3(6):845–52.

90. Georgiadis AN, Papavasiliou EC, Lourida ES, Alamanos Y, Kostara C, Tselepis AD, et al. Atherogenic lipid profile is a feature characteristic of patients with early rheumatoid arthritis: effect of early treatment--a prospective, controlled study. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(3):R82. doi: 10.1186/ar1952.

91. Charles-Schoeman C, Yin Lee Y, Shahbazian A, Wang X, Elashoff D, Curtis JR, et al. Improvement of High-Density Lipoprotein Function in Patients With Early Rheumatoid Arthritis Treated With Methotrexate Monotherapy or Combination Therapies in a Randomized Controlled Trial. *Arthritis Rheumatol*. 2017 Jan;69(1):46–57. doi: 10.1002/art.39833.

92. Daïen CI, Duny Y, Barnetche T, Daurès JP, Combe B, Morel J. Effect of TNF inhibitors on lipid profile in rheumatoid arthritis: a systematic review with meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(6):862–8. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-201148.

93. Charles-Schoeman C, Gugiu GB, Ge H, Shahbazian A, Lee YY, Wang X, et al. Remodeling of the HDL proteome with treatment response to abatacept or adalimumab in the AMPLE trial of patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis*. 2018 Aug;275:107–14. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.04.003.

94. Ronda N, Greco D, Adorni MP, Zimetti F, Favari E, Hjeltne G, et al. Newly identified antiatherosclerotic activity of methotrexate and adalimumab: complementary effects on lipoprotein function and macrophage cholesterol metabolism. *Arthritis Rheumatol*. 2015 May;67(5):1155–64. doi: 10.1002/art.39039.

95. Rempenault C, Combe B, Barnetche T, Gaujoux-Viala C, Lukas C, Morel J, et al. Metabolic and cardiovascular benefits of hydroxychloroquine in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Rheum Dis*. 2018 Jan;77(1):98–103. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-211836.

96. Raterman HG, Levels H, Voskuyl AE, Lems WF, Dijkmans BA, Nurmohamed MT. HDL protein composition alters from proatherogenic into less atherogenic and proinflammatory in rheumatoid arthritis patients responding to rituximab. *Ann Rheum Dis*. 2013 Apr;72(4):560–5. doi: 10.1136/annrheumdis-2011-201228.

97. Qiu C, Zhao X, She L, Shi Z, Deng Z, Tan L, et al. Baricitinib induces LDL-C and HDL-C increases in rheumatoid arthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Lipids Health Dis*. 2019 Feb 18;18(1):54. doi: 10.1186/s12944-019-0994-7.

98. Yan J, Yang S, Han L, Ba X, Shen P, Lin W, et al. Dyslipidemia in rheumatoid arthritis: the possible mechanisms. *Front Immunol*. 2023;14:1254753. doi: 10.3389/fimmu.2023.1254753.

99. Dursunoğlu D, Evrengül H, Polat B, Tanriverdi H, Cobankara V, Kaftan A, et al. Lp(a) lipoprotein and lipids in patients with rheumatoid arthritis: serum levels and relationship to inflammation. *Rheumatol Int*. 2005 May;25(4):241–5. doi: 10.1007/s00296-004-0438-0.

100. Toms TE, Symmons DP, Kitas GD. Dyslipidaemia in rheumatoid arthritis: the role of inflammation, drugs, lifestyle and genetic factors. *Curr Vasc Pharmacol*. 2010 May;8(3):301–26. doi: 10.2174/157016110791112269.
101. Filippatos TD, Derdemezis CS, Voulgari PV, Tsimihodimos V, Elisaf MS, Tselepis AD, et al. Effects of 12 months of treatment with disease-modifying anti-rheumatic drugs on low and high density lipoprotein subclass distribution in patients with early rheumatoid arthritis: a pilot study. *Scand J Rheumatol*. 2013;42(3):169–75. doi: 10.3109/03009742.2012.745013.
102. Fernández-Ortiz AM, Ortiz AM, Pérez S, Toledano E, Abásolo L, González-Gay MA, et al. Effects of disease activity on lipoprotein levels in patients with early arthritis: can oxidized LDL cholesterol explain the lipid paradox theory? *Arthritis Res Ther*. 2020 Sep 11;22(1):213. doi: 10.1186/s13075-020-02307-8.
103. Boers M, Nurmohamed MT, Doelman CJA, Lard LR, Verhoeven AC, Voskuyl AE, et al. Influence of glucocorticoids and disease activity on total and high density lipoprotein cholesterol in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2003 Sep;62(9):842–5. doi: 10.1136/ard.62.9.842.
104. Luo Y, Tall AR. Sterol upregulation of human CETP expression in vitro and in transgenic mice by an LXR element. *J Clin Invest*. 2000 Feb;105(4):513–20. doi: 10.1172/JCI8573.
105. Södergren A, Karp K, Bengtsson C, Möller B, Rantapää-Dahlqvist S, Wållberg-Jonsson S. Is Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 a Link between Inflammation and Subclinical Atherosclerosis in Rheumatoid Arthritis? *BioMed Res. Int*. 2015; 2015:673018. doi: 10.1155/2015/673018.
106. Blaho VA, Galvani S, Engelbrecht E, Liu C, Swendeman SL, Kono M, et al. HDL-bound sphingosine-1-phosphate restrains lymphopoiesis and neuroinflammation. *Nature*. 2015 Jul 16;523(7560):342–6. doi: 10.1038/nature14462.
107. Marsche G, Saemann MD, Heinemann A, Holzer M. Inflammation alters HDL composition and function: implications for HDL-raising therapies. *Pharmacol Ther*. 2013 Mar;137(3):341–51. doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.12.001.
108. Chang CK, Chiang EPI, Chang KH, Tang KT, Chen PK, Yip HT, et al. The Sizes and Composition of HDL-Cholesterol Are Significantly Associated with Inflammation in Rheumatoid Arthritis Patients. *Int J Mol Sci*. 2023 Jun 26;24(13):10645. doi: 10.3390/ijms241310645.
109. Watanabe J, Charles-Schoeman C, Miao Y, Elashoff D, Lee YY, Katselis G, et al. Proteomic profiling following immunoaffinity capture of high-density lipoprotein: association of acute-phase proteins and complement factors with proinflammatory high-density lipoprotein in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2012 Jun;64(6):1828–37. doi: 10.1002/art.34363.
110. Khovidhunkit W, Memon RA, Feingold KR, Grunfeld C. Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. *J Infect Dis*. 2000 Jun;181 Suppl 3:S462–472. doi: 10.1086/315611.
111. Malerød L, Sporstøl M, Juvet LK, Mousavi A, Gjøslen T, Berg T. Hepatic scavenger receptor class B, type I is stimulated by peroxisome proliferator-activated

receptor gamma and hepatocyte nuclear factor 4alpha. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 Jun 6;305(3):557–65. doi: 10.1016/s0006-291x(03)00819-2.

112. Lambert G, Amar MJA, Guo G, Brewer HB, Gonzalez FJ, Sinal CJ. The farnesoid X-receptor is an essential regulator of cholesterol homeostasis. *J Biol Chem*. 2003 Jan 24;278(4):2563–70. doi: 10.1074/jbc.M209525200.

113. Khovidhunkit W, Moser AH, Shigenaga JK, Grunfeld C, Feingold KR. Regulation of scavenger receptor class B type I in hamster liver and Hep3B cells by endotoxin and cytokines. *J Lipid Res*. 2001 Oct;42(10):1636–44.

114. Canyelles M, García-Osuna Á, Junza A, Yanes O, Puig N, Ordóñez-Llanos J, et al. The Capacity of APOB-Depleted Plasma in Inducing ATP-Binding Cassette A1/G1-Mediated Macrophage Cholesterol Efflux-But Not Gut Microbial-Derived Metabolites-Is Independently Associated with Mortality in Patients with ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Biomedicines*. 2021 Sep 27;9(10):1336. doi: 10.3390/biomedicines9101336.

115. Ronda N, Favari E, Borghi MO, Ingegnoli F, Gerosa M, Chighizola C, et al. Impaired serum cholesterol efflux capacity in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2014 Mar;73(3):609–15. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202914.

116. Karpouzas GA, Papotti B, Ormseth SR, Palumbo M, Hernandez E, Adorni MP, et al. Inflammation and immunomodulatory therapies influence the relationship between ATP-binding cassette A1 membrane transporter-mediated cholesterol efflux capacity and coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *J Transl Autoimmun*. 2023 Dec;7:100209. doi: 10.1016/j.jtauto.2023.100209.

117. Weber B, He Z, Yang N, Playford MP, Weisenfeld D, Iannaccone C, et al. Divergence of Cardiovascular Biomarkers of Lipids and Subclinical Myocardial Injury Among Rheumatoid Arthritis Patients With Increased Inflammation. *Arthritis Rheumatol*. 2021 Jun;73(6):970–9. doi: 10.1002/art.41613.

118. Liao KP, Playford MP, Frits M, Coblyn JS, Iannaccone C, Weinblatt ME, et al. The association between reduction in inflammation and changes in lipoprotein levels and HDL cholesterol efflux capacity in rheumatoid arthritis. *J Am Heart Assoc*. 2015 Jan 30;4(2):e001588. doi: 10.1161/JAHA.114.001588.

119. Xie B, He J, Liu Y, Liu T, Liu C. A meta-analysis of HDL cholesterol efflux capacity and concentration in patients with rheumatoid arthritis. *Lipids Health Dis*. 2021 Feb 21;20(1):18. doi: 10.1186/s12944-021-01444-6.

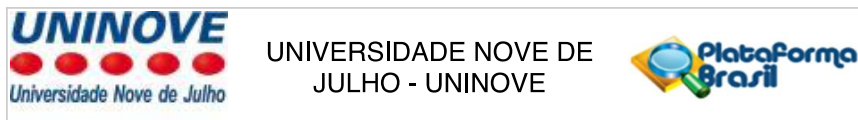
120. Catapano AL, Pirillo A, Bonacina F, Norata GD. HDL in innate and adaptive immunity. *Cardiovasc Res*. 2014 Aug 1;103(3):372–83. doi: 10.1093/cvr/cvu150.

121. Gomasaschi M, Basilico N, Sisto F, Taramelli D, Eligini S, Colli S, et al. High-density lipoproteins attenuate interleukin-6 production in endothelial cells exposed to pro-inflammatory stimuli. *Biochim Biophys Acta*. 2005 Sep 15;1736(2):136–43. doi: 10.1016/j.bbailip.2005.08.003.

122. Wang Y, Lu S, Zhang G, Wu S, Yan Y, Dong Q, et al. Anti-Inflammatory Effects of HDL in Mice With Rheumatoid Arthritis Induced by Collagen. *Front Immunol*. 2018;9:1013. doi: 10.3389/fimmu.2018.01013.

123. Miglioranza Scavuzzi B, Holoshitz J. Endoplasmic Reticulum Stress, Oxidative Stress, and Rheumatic Diseases. *Antioxidants (Basel)*. 2022 Jun 29;11(7):1306. doi: 10.3390/antiox11071306.
124. Marchio P, Guerra-Ojeda S, Vila JM, Aldasoro M, Victor VM, Mauricio MD. Targeting Early Atherosclerosis: A Focus on Oxidative Stress and Inflammation. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:8563845. doi: 10.1155/2019/8563845.
125. Fotakis P, Kothari V, Thomas DG, Westerterp M, Molusky MM, Altin E, et al. Anti-Inflammatory Effects of HDL (High-Density Lipoprotein) in Macrophages Predominate Over Proinflammatory Effects in Atherosclerotic Plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019 Dec;39(12):e253–72. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.313253.

ANEXO A – APROVAÇÕES DOS COMITÊS DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Função anti-inflamatória da lipoproteína de densidade alta (HDL) na artrite reumatoide: contribuição para o risco cardiovascular.

Pesquisador: Marcia Benacchio Giacaglia

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 57743922.0.0000.5511

Instituição Proponente: ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.453.948

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1955030_E1, de 25/05/2022).

<Copiar resumo e colar aqui>

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a composição em lipídeos e apolipoproteínas e a função anti-inflamatória da HDL isolada de indivíduos controles e com AR, representada por sua capacidade em inibir a produção de citocinas, IL-6 e TNF, em macrófagos desafiados com lipopolissacarídeos (LPS).

Objetivo da emenda:

O presente projeto de pesquisa já havia sido aprovado pelo CEP/UNINOVE (centro coordenador) e devido solicitação do CEP do Hospital do Servidor Público Municipal - CEP/HSPM (centro coparticipante) solicito Emenda para as alterações solicitadas. Informo ainda que o Projeto de Pesquisa e os TCLEs dos grupos artrite reumatoide (AR) e controle corrigidos, com as devidas marcações de alterações (em destaque – realce em amarelo e sublinhado), seguem em outros

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

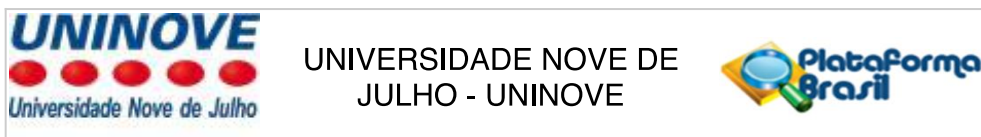
UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9010

CEP: 01.504-001

E-mail: comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 5.453.948

arquivos, anexos a este, assim como carta detalhada sobre a emenda.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Será realizada apenas uma coleta de sangue venoso periférico em todos os participantes, o que pode ocasionar hematoma, dor ou desconforto no local da punção venosa. As perguntas sobre a saúde e o exame físico dos participantes serão realizados em uma sala reservada. No laboratório há equipe para pronto atendimento caso ocorra algum mal-estar durante o procedimento de coleta de sangue. Os participantes receberão assistência integral e imediata, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário em caso de danos decorrentes da pesquisa, assim como o participante será informado que terá direito à indenização em caso de danos decorrentes do estudo. Será disponibilizado o telefone da médica investigadora do estudo ao participante, para que o mesmo entre em contato a qualquer hora e dia, se apresentar qualquer efeito colateral devido à coleta de sangue.

Benefícios:

Não há benefício direto para os participantes deste estudo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Versão do projeto: 3. Emenda: 1.

Desenho do estudo:

Este estudo clínico caso-controle será composto por um grupo de indivíduos com artrite reumatoide (AR) e outro grupo de indivíduos controles. Os participantes serão incluídos no estudo somente após serem adequadamente informados a respeito dos procedimentos do estudo, terem lido, concordado e assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. A coleta de dados somente iniciará após a aprovação deste projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa. O cálculo do tamanho da amostra foi realizado por meio do software G*Power, baseado na utilização do teste t de Student com duas amostras independentes, bicaudal, na probabilidade de cometer erro tipo I (α) de 0,05 e de cometer erro tipo II (β) de 0,20 e no tamanho de amostras iguais nos dois grupos (AR e controle). Foi estimado o tamanho do efeito (d) de forma conservadora em 0,5 pois não foi encontrado estudo prévio na linha do que abordaremos em nosso estudo. Este cálculo resultou no tamanho da amostra (n) de 64 indivíduos para o grupo AR e de 64 indivíduos para o grupo controle. O n foi aumentado em cerca de 10% em cada grupo em razão de possíveis perdas,

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

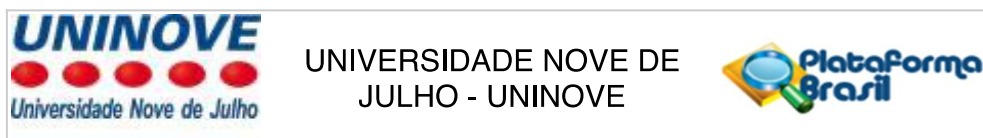
UF: SP

Telefone: (11)3385-9010

Município: SAO PAULO

CEP: 01.504-001

E-mail: comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 5.453.948

portanto, ao final estimamos um $n = 70$ indivíduos em cada grupo. Para o grupo com AR serão selecionados 70 indivíduos com AR atendidos no ambulatório de reumatologia do Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo (HSPM). Será realizada uma pré-seleção a partir da análise dos prontuários do ambulatório de reumatologia do HSPM, onde serão selecionados os prontuários de pessoas com AR, e serão escolhidos os indivíduos que preencherem os seguintes critérios: idade a partir de 18 anos; ambos os sexos; com AR diagnosticada de acordo com os critérios de classificação para AR de 2010 do ACR/EULAR (American College of Rheumatology / European League Against Rheumatism) e ausência de diabetes mellitus, gravidez, insuficiência hepática, hipotireoidismo descompensado, insuficiência renal, síndrome nefrótica, obesidade mórbida (índice de massa corpórea maior ou igual a 40), outras doenças do tecido conectivo (exceto síndrome de Sjögren secundária à AR), tabagismo, alcoolismo, uso de drogas hipolipemiantes (estatinas, fibratos, ezetimiba e inibidor de PCSK-9) nos últimos 3 meses. Estes indivíduos pré-selecionados serão convidados a participarem do estudo. Serão selecionados 70 indivíduos controles saudáveis, oriundos da comunidade local, pareados por idade, sexo e índice de massa corporal (IMC) com o grupo com AR. Todos os participantes serão avaliados com um exame clínico completo. A HDL será isolada do plasma de indivíduos com AR ($n=70$) e de indivíduos controles ($n=70$) pareados por idade, sexo e índice de massa corporal. A composição da HDL em lipídeos e proteínas será determinada, respectivamente, por métodos enzimáticos colorimétricos e imunoturbidimetria. Macrófagos diferenciados a partir de células obtidas da medula óssea de camundongos serão sobrecarregados com colesterol e, a seguir, expostos à HDL dos indivíduos dos grupos AR e controle, por 24 h. Após lavagem, as células serão incubadas com LPS, como insulto inflamatório, por 24 h. A concentração de interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF) será determinada no meio de cultura, por ELISA.

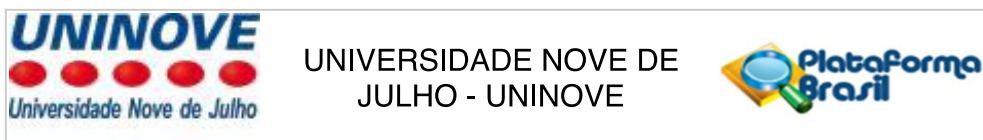
Desfecho Primário:

Função anti-inflamatória da HDL nos indivíduos com artrite reumatoide (AR) comparados com indivíduos controle saudáveis por meio da dosagem da concentração de interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF) em cultura de macrófagos derivados da medula óssea de camundongos sobrecarregados em colesterol e expostos a HDL dos participantes dos grupos AR e controle.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentação obrigatória:

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249	CEP: 01.504-001
Bairro: LIBERDADE	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010	E-mail: comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 5.453.948

Folha de rosto datada, assinada pelo diretor com carimbo do diretor - OK

Projeto de pesquisa - OK

Cronograma - OK

TCLE - OK

Termo de assentimento (caso se aplique) - Não se aplica.

Carta de anuência da instituição coparticipante (caso se aplique) - OK

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

O pesquisador deverá se apresentar na instituição de realização da pesquisa (que autorizou a realização do estudo) para início da coleta dos dados.

O participante da pesquisa (ou seu representante) e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo, conforme Carta Circular no 003/2011 da CONEP/CNS.

Salientamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Lembramos que esta modificação necessitará de aprovação ética do CEP antes de ser implementada. De forma objetiva com justificativa para nova apreciação, os documentos alterados devem ser evidenciados para facilitar a nova análise.

Ao pesquisador cabe manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP (Res. CNS 466/12 item X1. 2. f).

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9010

CEP: 01.504-001

E-mail: comitedeetica@uninove.br



UNIVERSIDADE NOVE DE
JULHO - UNINOVE



Continuação do Parecer: 5.453.948

De acordo com a Res. CNS 466/12, X.3.b), o pesquisador deve apresentar a este CEP/SMS os relatórios semestrais. O relatório final deverá ser enviado através da Plataforma Brasil, ícone Notificação. Uma cópia digital do projeto finalizado deverá ser enviada à instância que autorizou a realização do estudo, via correio, e-mail ou entregue pessoalmente, logo que o mesmo estiver concluído.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1955030_E1.pdf	25/05/2022 15:37:34		Aceito
Outros	Carta_Justificativa_Emenda.docx	25/05/2022 15:27:00	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Controlles_corrigido_II.pdf	25/05/2022 15:26:19	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_AR_corrigido_II.pdf	25/05/2022 15:26:01	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pesquisa_corrigidoII.pdf	25/05/2022 15:23:50	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	Correcao_pendencias.pdf	21/04/2022 14:04:15	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	07/04/2022 16:59:50	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	Adendo_ProjPesq_HSPM.pdf	07/04/2022 16:54:32	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	Termo_de_Anuencia_LIM10_HCFMUSP.pdf	07/04/2022 16:52:59	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	HSPM_Termo_de_Anuencia.pdf	07/04/2022 15:52:14	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

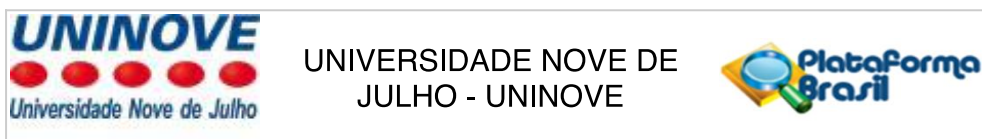
UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3385-9010

CEP: 01.504-001

E-mail: comitedeetica@uninove.br

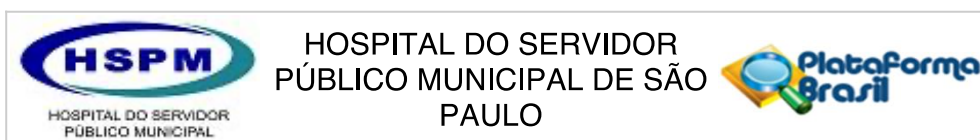


Continuação do Parecer: 5.453.948

SAO PAULO, 07 de Junho de 2022

Assinado por:
Maria Aparecida Dalboni
(Coordenador(a))

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
Bairro: LIBERDADE
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010 **CEP:** 01.504-001
E-mail: comitedeetica@uninove.br



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Função anti-inflamatória da lipoproteína de densidade alta (HDL) na artrite reumatoide: contribuição para o risco cardiovascular.

Pesquisador: Marcia Benacchio Giacaglia

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 57743922.0.3002.5442

Instituição Proponente: Hospital do Servidor Público Municipal

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.517.590

Apresentação do Projeto:

O projeto de pesquisa “Função anti-inflamatória da lipoproteína de densidade alta (HDL) na artrite reumatoide: contribuição para o risco cardiovascular”, de Marcia Benacchio Giacaglia, pretende “avaliar a composição em lipídeos e apolipoproteínas e a função anti-inflamatória da HDL isolada de indivíduos controles e com AR, representada por sua capacidade em inibir a produção de citocinas, IL-6 e TNF, em macrófagos desafiados com lipopolissacarídeos (LPS)”.

Trata-se de um projeto multicêntrico, em que o cento coordenador é a Associação Educacional Nove de Julho (UNINOVE), a coleta de dados será realizada no Hospital do Servidor Público Municipal (HSPM) e a análise do material será realizada nos laboratórios da UNINOVE e do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP). O projeto tem o parecer consubstanciado favorável à sua execução emitido pelo CEP-UNINOVE em 03/05/2022 e pelo CEP-HSPM em 10/06/2022. Foi submetida uma emenda ao CEP-UNINOVE detalhando alterações realizadas a pedido do CEP-HSPM e o projeto retornou para apreciação por esse CEP.

As informações elencadas neste parecer foram retiradas dos documentos PB INFORMAÇÕES BÁSICAS DO PROJETO, número 1898088, de 21/04/2022, Projeto Detalhado / Brochura Investigador de 21/04/2022, “Adendo_ProjPesq_HSPM.pdf” de 07/04/2022, “Projeto_pesquisa_corrigidoII.pdf”, “TCLE_Controlles_corrigido_II.pdf”, “TCLE_AR_corrigido_II.pdf”,

Endereço: Rua Castro Alves, 60 - Espaço Cultural

Bairro: Aclimação

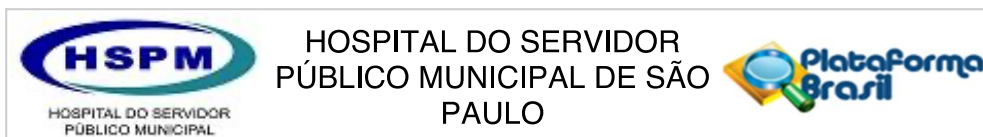
UF: SP

Município: SÃO PAULO

CEP: 01.532-000

Telefone: (11)3397-7725

E-mail: hspm.cep@gmail.com



Continuação do Parecer: 5.517.590

“Carta_Justificativa_Emenda.docx”, de 25/05/2022.

Objetivo da Pesquisa:

“Avaliar a composição em lipídeos e apolipoproteínas e a função anti-inflamatória da HDL isolada de indivíduos controles e com AR, representada por sua capacidade em inibir a produção de citocinas, IL-6 e TNF, em macrófagos desafiados com lipopolissacarídeos (LPS)”.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Em relação aos RISCOS, a pesquisadora afirma que “será realizada apenas uma coleta de sangue venoso periférico em todos os participantes, o que pode ocasionar hematoma, dor ou desconforto no local da punção venosa. As perguntas sobre a saúde e o exame físico dos participantes serão realizados em uma sala reservada. No laboratório há equipe para pronto atendimento caso ocorra algum mal-estar durante o procedimento de coleta de sangue. Os participantes receberão assistência integral e imediata, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário em caso de danos decorrentes da pesquisa, assim como o participante será informado que terá direito à indenização em caso de danos decorrentes do estudo. Será disponibilizado o telefone da médica investigadora do estudo ao participante, para que o mesmo entre em contato a qualquer hora e dia, se apresentar qualquer efeito colateral devido à coleta de sangue”.

Em relação aos BENEFÍCIOS, afirma que “não há benefício direto para os participantes deste estudo”. No TCLE, destaca benefícios coletivos, uma vez que “os estudos realizados a partir da sua amostra de sangue permitirão compreender como a função do colesterol HDL e componentes da inflamação estão relacionados com o risco para doenças cardiovasculares nos indivíduos com artrite reumatóide”.

Em relação aos riscos e benefícios, há aparente cuidado e respeito ao participante da pesquisa em sua dignidade e autonomia. Há ponderação entre os riscos previsíveis ou potenciais e os benefícios coletivos. Estão asseguradas as condições de acompanhamento, tratamento, assistência integral e orientação, enquanto necessário. Está assegurado o direito à indenização aos participantes que vierem a sofrer qualquer tipo de dano resultante de sua participação na pesquisa, previsto ou não no TCLE, por parte do pesquisador.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo caso-controle, nacional e multicêntrico. Patrocinador: financiamento próprio. País de

Endereço: Rua Castro Alves, 60 - Espaço Cultural

Bairro: Aclimação

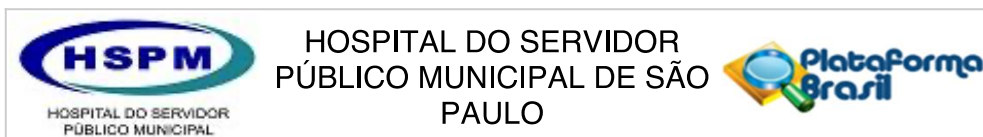
UF: SP

Município: SÃO PAULO

CEP: 01.532-000

Telefone: (11)3397-7725

E-mail: hspm.cep@gmail.com



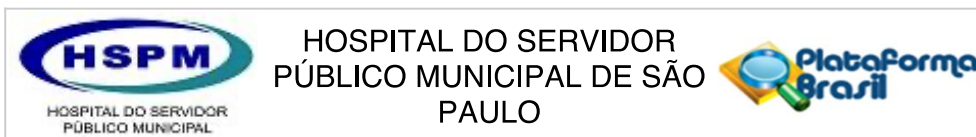
Continuação do Parecer: 5.517.590

origem: Brasil. Números de participantes incluídos: 140. Centros co-participantes da pesquisa no Brasil: três.

Haverá armazenamento de amostras de sangue em banco de material biológico no Brasil. A pesquisadora informa que “durante a condução do protocolo de pesquisa em tela, amostras de plasma e soro serão armazenadas no Laboratório de Lípidos – LIM 10, Depto. de Clínica Médica, Disciplina de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, caracterizando a formação de BIORREPOSITÓRIO. O armazenamento dessas amostras obedecerá aos requisitos estabelecidos na Resolução Nº 441 de 12 de maio de 2011 do Conselho Nacional de Saúde, para o armazenamento de material biológico humano. As amostras de plasma e soro serão acondicionadas em tubos de congelamento providos de anel de vedação, em caixas apropriadas, mantidas em ultrafreezer -80°C, localizado no Centro de Armazenamento de Amostras da Faculdade de Medicina da USP, com acesso controlado. Todas as amostras biológicas e os resultados provenientes delas serão usados apenas para as finalidades descritas no protocolo de pesquisa e no termo de consentimento livre e esclarecido. Após a conclusão do estudo, qualquer material remanescente será destruído de acordo com as boas práticas clínicas. O prazo de armazenamento do material biológico humano no Biorrepositório será de acordo com o cronograma da pesquisa. NÃO há previsão de formação de Biobanco de longa duração, nem Biorrepositório envolvendo mais de uma instituição, nem o uso do material biológico para análises adicionais futuras diferentes das previstas no protocolo. As amostras armazenadas no Biorrepositório poderão ser utilizadas em novas pesquisas somente mediante aprovação prévia pelo Comitê de Ética, quando for o caso, pela CONEP. O material biológico humano armazenado no Biorrepositório atrelado ao projeto em análise é do participante da pesquisa, permanecendo sua guarda sob responsabilidade institucional e seu gerenciamento será feito pelo pesquisador responsável. O participante da pesquisa ou seu representante legal, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, poderá retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico no Biorrepositório, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A retirada do consentimento será formalizada por manifestação, por escrito e assinada, pelo sujeito da pesquisa ou seu representante, cabendo-lhe a devolução das amostras existentes ou o descarte, conforme for solicitado pelo participante da pesquisa”.

A introdução está clara e justifica os objetivos de maneira adequada. O método é apropriado para atingir os objetivos propostos. Há descrição da amostra, incluindo seleção, cálculo amostral,

Endereço: Rua Castro Alves, 60 - Espaço Cultural
Bairro: Aclimação **CEP:** 01.532-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3397-7725 **E-mail:** hspm.cep@gmail.com



Continuação do Parecer: 5.517.590

critérios de inclusão e de exclusão dos participantes. Há descrição dos questionários e instrumentos de análises clínicas que serão utilizados. Há descrição detalhada do processo de coleta de dados. A descrição do manejo do material coletado e a composição do biorrepositório estão detalhadas. A mensuração do principal desfecho está clara. Há descrição da análise estatística ou de outra forma da análise dos dados coletados. O cronograma é viável. Em relação ao orçamento, há referência aos kits de ELISA, material de cultura celular, que serão utilizados para análise do material biológico coletado e ao ressarcimento de despesas tidas pelos participantes. As referências são atualizadas e em número suficiente para justificar a realização do estudo para o parecerista. Os descritores são pertinentes ao trabalho e encontrados no Decs. O estudo é de caráter acadêmico, realizado para obtenção de título de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Nove de Julho – UNINOVE, tem previsão de início em 01/06/2022 e encerramento em 29/12/2023.

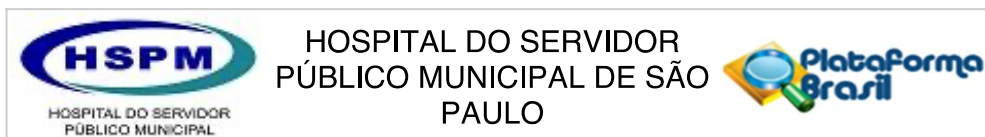
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A folha de rosto está assinada pela pesquisadora responsável e pela diretora do Programa de Pós-Graduação da UNINOVE.

Foram apresentados os Termos de Anuência Institucional (TAI) do HC-FMUSP, assinado pela responsável do Laboratório de Lipídes (LIM10) Dra. Marisa Passarelli, que também é a responsável pelo projeto, e do HSPM, assinado pela superintendente Dra. Elizabete Michelete e pela Dra. Juliane Cristina Burgatti, diretora da Gerência de Ensino e Pesquisa do HSPM.

O TCLE oferece informações em linguagem clara e acessível aos participantes. Há descrição detalhada e em linguagem clara dos procedimentos que serão realizados. Há explicitação dos possíveis desconfortos e riscos, e dos benefícios esperados. Está assegurado ao participante a possibilidade de exercer sua vontade sair da pesquisa em qualquer momento. Há explicitação da garantia de ressarcimento. Está claro como serão cobertas as possíveis despesas tidas pelos participantes para participar da pesquisa ou dela decorrentes. Há esclarecimento sobre a forma de acompanhamento e assistência a que terão direito os participantes da pesquisa. Há indicação de telefone dos pesquisadores e do CEP da UNINOVE; constam formas de contato com o CEP-HSPM, instituição onde será realizada a coleta dos dados e material biológico. Há a referência de que o TCLE será feito em duas vias originais, uma para o participante da pesquisa e uma para os pesquisadores.

Endereço: Rua Castro Alves, 60 - Espaço Cultural
Bairro: Aclimação **CEP:** 01.532-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3397-7725 **E-mail:** hspm.cep@gmail.com



Continuação do Parecer: 5.517.590

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram observados óbices éticos nos documentos do estudo. Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP do Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS n.º 466, de 2012, e na Norma Operacional n.º 001, de 2013, do CNS, manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa.

Os pesquisadores devem enviar ao CEP-HSPM os relatórios parciais e final da pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Carta_Justificativa_Emenda.docx	25/05/2022 15:27:00	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Controlles_corrigido_II.pdf	25/05/2022 15:26:19	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_AR_corrigido_II.pdf	25/05/2022 15:26:01	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pesquisa_corrigidoII.pdf	25/05/2022 15:23:50	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	Correcao_pendencias.pdf	21/04/2022 14:04:15	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	Adendo_ProjPesq_HSPM.pdf	07/04/2022 16:54:32	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	Termo_de_Anuencia_LIM10_HCFMUSP.pdf	07/04/2022 16:52:59	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	HSPM_Termo_de_Anuencia.pdf	07/04/2022 15:52:14	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Castro Alves, 60 - Espaço Cultural

Bairro: Aclimação

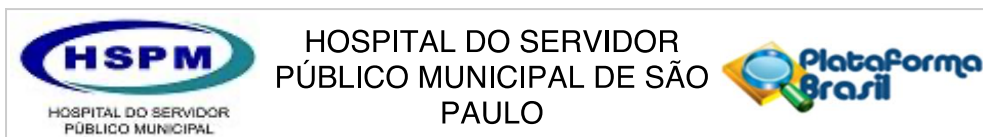
UF: SP

Município: SAO PAULO

CEP: 01.532-000

Telefone: (11)3397-7725

E-mail: hspm.cep@gmail.com

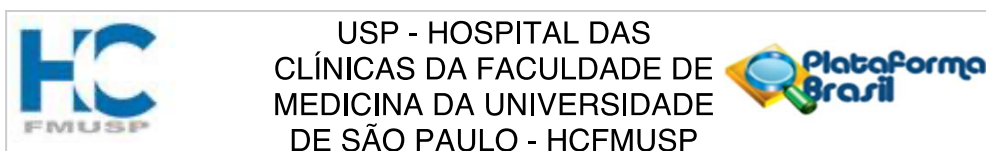


Continuação do Parecer: 5.517.590

SAO PAULO, 08 de Julho de 2022

Assinado por:
Frederico Scuta Garcia
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Castro Alves, 60 - Espaço Cultural
Bairro: Aclimação **CEP:** 01.532-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3397-7725 **E-mail:** hspm.cep@gmail.com

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****Elaborado pela Instituição Coparticipante****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Função anti-inflamatória da lipoproteína de densidade alta (HDL) na artrite reumatoide: contribuição para o risco cardiovascular.

Pesquisador: Marcia Benacchio Giacaglia

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 57743922.0.3001.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.647.034

Apresentação do Projeto:

Trata-se emenda de centro coparticipante de estudo clínico caso-controle, que será composto por um grupo de indivíduos com artrite reumatoide (AR) e outro grupo de indivíduos controles. Na presente investigação, será testada a hipótese de alteração na função anti-inflamatória das HDL isoladas de indivíduos com AR, a qual, independentemente de variação em sua concentração plasmática, pode contribuir para o maior risco cardiovascular.

Objetivo da Pesquisa:

O presente estudo visa avaliar a composição em lipídeos e apolipoproteínas e a função anti-inflamatória da HDL isolada de indivíduos controles e com AR, representada por sua capacidade em inibir a produção de citocinas, IL-6 e TNF, em macrófagos desafiados com lipopolissacarídeos (LPS).

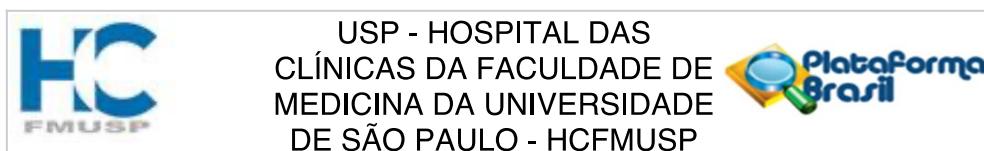
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo informa o pesquisador, os riscos desta pesquisa envolvem a coleta de sangue venoso periférico em todos os participantes, o que pode ocasionar hematoma, dor ou desconforto no local da punção venosa. As perguntas sobre a saúde e o exame físico dos participantes serão realizados em uma sala reservada.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de emenda de estudo clínico caso-controle com intuito de atualização dos documentos

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 5,647,034

do projeto:

-TCLEs;

-Detalhamento do processo de coleta de dados (alterações destacadas em amarelo);

- Orçamento os custos com transporte, alimentação e outros possíveis gastos, caso os participantes tenham que comparecer exclusivamente para participarem da pesquisa (alterações destacadas em amarelo);

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de apresentação obrigatória anexados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trata-se de emenda de estudo clínico caso-controle com intuito de atualização dos documentos do projeto, todos pertinentes ao estudo.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Carta_Justificativa_Emenda.docx	25/05/2022 15:27:00	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Controlles_corrigido_II.pdf	25/05/2022 15:26:19	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_AR_corrigido_II.pdf	25/05/2022 15:26:01	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pesquisa_corrigidoII.pdf	25/05/2022 15:23:50	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	Correcao_pendencias.pdf	21/04/2022 14:04:15	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	Adendo_ProjPesq_HSPM.pdf	07/04/2022 16:54:32	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	Termo_de_Anuencia_LIM10_HCFMUSP.pdf	07/04/2022 16:52:59	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito
Outros	HSPM_Termo_de_Anuencia.pdf	07/04/2022 15:52:14	Marcia Benacchio Giacaglia	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 5.647.034

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 16 de Setembro de 2022

Assinado por:
Joel Faintuch
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

ANEXO B – TERMOS DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ANEXO B.1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O GRUPO CONTROLE

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A. Nome do participante: _____

Documento de identidade: _____

Data de nascimento: ____/____/____

Sexo: () feminino () masculino

Endereço: _____

Telefone para contato: _____

Cidade: _____ CEP: _____

E-mail: _____

B. Responsável legal (para analfabetos, semianalfabetos ou indivíduos com deficiência auditiva ou visual): _____

Natureza (grau de parentesco, tutor, curador, etc.): _____

Documento de identidade: _____

Data de nascimento: ____/____/____

Sexo: () feminino () masculino

Endereço: _____

Telefone para contato: _____

Cidade: _____ CEP: _____

E-mail: _____

Rubrica do participante ou responsável:

Rubrica do pesquisador

1.Título da pesquisa: Função anti-inflamatória da lipoproteína de densidade alta (HDL) na artrite reumatoide: contribuição para o risco cardiovascular

2.Objetivo:

Este estudo avaliará como está funcionando o bom colesterol (HDL colesterol) nas pessoas com artrite reumatoide.

3.Justificativa:

As pessoas com artrite reumatoide têm maior chance de ter doenças do coração devido à alteração do colesterol do sangue. O bom colesterol ou HDL colesterol protege contra as doenças do coração e derrame. Neste estudo vamos avaliar a quantidade do bom colesterol (HDL colesterol) e sua função para que possamos entender melhor a artrite reumatoide e no futuro prevenir complicações dos vasos sanguíneos.

4. Convite:

O(A) senhor(a) está sendo convidado, como voluntário(a), para participar de uma pesquisa científica.

Para participar deste estudo, o(a) senhor(a) deve atender aos seguintes critérios: não ter diagnóstico de artrite reumatoide; ter mais de 18 anos de idade; não fazer uso de medicamentos que diminuam colesterol ou triglicérides nos últimos 3 meses; não fumar ou ingerir bebida alcoólica; não estar grávida; não ter *diabetes mellitus*, doença do fígado crônica, hipotireoidismo descompensado, doença autoimune sistêmica, doença renal crônica ou outras doenças renais.

Se o(a) senhor(a) aceitar participar gastará cerca de 30 minutos para que eu faça algumas perguntas sobre sua saúde e faça um exame físico completo hoje, ou se preferir, podemos agendar para outro dia.

Em uma data que agendaremos, pela manhã, em jejum de 8 horas, retiraremos uma amostra de sangue de 25 mL para fazer exames de sangue (colesterol e bom colesterol). A coleta de sangue não acarretará nenhum risco à sua saúde.

A coleta de dados somente iniciará após a aprovação deste projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Nove de Julho – UNINOVE.

5. Desconforto ou riscos esperados:

Será realizada apenas uma coleta de sangue, com possibilidade de desconforto pequeno no local. Pode ocorrer formação de pequena mancha no local (hematoma) que desaparece em alguns dias. Em caso de desconforto, haverá equipe de saúde no local para prestar atendimento.

Rubrica do participante ou responsável:

Rubrica do pesquisador

6. Medidas protetivas aos riscos:

As perguntas sobre sua saúde e o exame físico serão realizados em uma sala reservada.

No laboratório há equipe para pronto atendimento caso ocorra algum mal-estar durante o procedimento de coleta de sangue. O(A) Sr(a) receberá assistência integral e imediata, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário em caso de danos decorrentes da pesquisa.

Qualquer efeito colateral que o(a) senhor(a) apresente devido a coleta de sangue, ligue para, em qualquer horário, Marcia Benacchio Giacaglia, no celular/WhatsApp (11) 99141-7052, que é a médica investigadora do estudo.

O(A) Sr.(a) tem direito à indenização em caso de danos decorrentes do estudo.

7. Benefícios da pesquisa:

Não há benefício direto para o(a) senhor(a). Estudos científicos baseiam-se na análise de grande número de amostras, sendo impossível estimar o benefício individual de cada participante incluído no estudo.

Os estudos realizados a partir da sua amostra de sangue, permitirão compreender como a função do colesterol HDL e componentes da inflamação estão relacionados com o risco para doenças cardiovasculares nos indivíduos com artrite reumatoide.

8. Retirada do consentimento e garantia de acesso:

O(A) senhor(a) tem o direito de acesso a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para esclarecer eventuais dúvidas, assim como a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem sofrer qualquer tipo de prejuízo ou represália.

Em qualquer etapa do estudo, o(a) senhor(a) terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal investigadora é a Dra. Marisa Passarelli, que pode ser encontrada na Rua Vergueiro 235/249, Liberdade, São Paulo, e-mail: m.passarelli@uni9.pro.br.

Se o(a) senhor(a) tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa - CEP – da Universidade Nove de Julho na Rua Vergueiro nº 235/249, 12º andar, São Paulo – SP, CEP: 01504-001, telefone: 3385-9010, e-mail: comitedeetica@uninove.br ou do Hospital do Servidor Público Municipal na Rua Castro Alves 63, São Paulo – SP, CEP: 01532-001, telefone: 3397-7725, e-mail: hspm.cep@gmail.com.

Rubrica do participante ou responsável:

Rubrica do pesquisador

9. Garantia do sigilo:

Os seus dados serão analisados em conjunto com outros participantes, não sendo divulgado a identificação de nenhum participante sob qualquer circunstância.

Solicitamos sua autorização para que os dados obtidos nesta pesquisa sejam utilizados em uma publicação científica, meio como os resultados de uma pesquisa são divulgados e compartilhados com a comunidade científica.

10. Despesas / ressarcimento decorrentes da participação na pesquisa:

O(A) senhor(a) não terá qualquer custo, pois o custo desta pesquisa será de responsabilidade do orçamento da pesquisa. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Os custos com transporte e alimentação que o senhor(a) tiver decorrentes de sua participação na pesquisa serão ressarcidos pela pesquisadora responsável.

11. Local da pesquisa:

As amostras biológicas (seu sangue coletado) serão processadas e estocadas no Laboratório de Lípidos (LIM 10) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, CNPJ: 60.448.040/0001-22, situado à Av. Dr. Arnaldo, 455, 3º andar – sala 3305, Cerqueira César, São Paulo – SP, CEP: 01246-903, fone: (11) 3061-7263, e-mail: m.passarelli@fm.usp.br . Plasma e soro provenientes do sangue coletado serão armazenados em tubos contendo tampa com rosca de vedação, em caixas apropriadas, mantidas a - 80°C.

Solicitamos sua autorização para que as amostras de plasma e soro provenientes do sangue coletado do senhor(a) sejam armazenadas no Laboratório de Lípidos – LIM 10, Depto. de Clínica Médica, Disciplina de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

As amostras obtidas serão armazenadas no biorrepositório do Laboratório de Lípidos (LIM 10) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, apenas durante o período de realização do estudo. Em caso de necessidade de utilização posterior das amostras será pedido novo consentimento após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.

Todas as amostras de sangue e os resultados provenientes delas serão usados apenas para as finalidades descritas no protocolo de pesquisa e no termo de consentimento livre e esclarecido. Após a conclusão do estudo, qualquer material remanescente será destruído de acordo com as boas práticas clínicas.

12. Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado interdisciplinar e independente, que deve existir nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, criado para defender os interesses dos participantes de pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento das pesquisas dentro dos padrões éticos (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da

Rubrica do participante ou responsável:

Rubrica do pesquisador

Pesquisa envolvendo Seres Humanos – Res. CNS nº 466/12 e Res. CNS 510/2016). O Comitê de Ética é responsável pela avaliação e acompanhamento dos protocolos de pesquisa no que corresponde aos aspectos éticos. **Endereço do Comitê de Ética da Uninove: Rua. Vergueiro nº 235/249 – 12º andar – Liberdade – São Paulo – SP CEP. 01504-001. Telefone: 3385-9010. E-mail: comitedeetica@uninove.br**

Horários de atendimento do Comitê de Ética: segunda-feira a sexta-feira – Das 11h30 às 13h00 e Das 15h30 às 19h00

13. Nome Completo e telefones dos Pesquisadores (Orientador e Alunos) para Contato:

Profa. Dra. Marisa Passarelli (orientadora) – (11) 982606140

Marcia Benacchio Giacaglia (aluna) - (11) 99141-7052

14. Uma via original assinada deste termo deverá ser retida pelo senhor(a) ou por seu representante legal e outra via original assinada será arquivada pelo pesquisador responsável.

Rubrica do participante ou responsável:

Rubrica do pesquisador

São Paulo, de de

15. Consentimento Pós-Informação:

Eu, _____, após leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, entendo que minha participação é voluntária, e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmo que recebi uma via deste termo de consentimento, e autorizo a realização do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos somente neste estudo no meio científico.

Assinatura do participante ou representante legal

Assinatura da testemunha (para participantes analfabetos, semianalfabetos ou indivíduos com deficiência auditiva ou visual)

16.

Eu, _____
(pesquisador responsável desta pesquisa), certifico que:

- a) Esta pesquisa só terá início após a aprovação do(s) referido(s) Comitê(s) de Ética em Pesquisa o qual o projeto foi submetido.
- b) Considerando que a ética em pesquisa implica o respeito pela dignidade humana e a proteção devida aos participantes das pesquisas científicas envolvendo seres humanos;
- c) Este estudo tem mérito científico e a equipe de profissionais devidamente citados neste termo é treinada, capacitada e competente para executar os procedimentos descritos neste termo;

Assinatura do pesquisador

Rubrica do participante ou responsável:

Rubrica do pesquisador

ANEXO B.2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA O GRUPO ARTRITE REUMATOIDE

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A. Nome do participante: _____

Documento de identidade: _____

Data de nascimento: ____/____/____

Sexo: () feminino () masculino

Endereço: _____

Telefone para contato: _____

Cidade: _____ **CEP:** _____

E-mail: _____

B. Responsável legal (para analfabetos, semianalfabetos ou indivíduos com deficiência auditiva ou visual): _____

Natureza (grau de parentesco, tutor, curador, etc.): _____

Documento de identidade: _____

Data de nascimento: ____/____/____

Sexo: () feminino () masculino

Endereço: _____

Telefone para contato: _____

Cidade: _____ **CEP:** _____

E-mail: _____

Rubrica do participante ou responsável:

Rubrica do pesquisador

1.Título da pesquisa:

Função anti-inflamatória da lipoproteína de densidade alta (HDL) na artrite reumatoide: contribuição para o risco cardiovascular

2.Objetivo:

Este estudo avaliará como está funcionando o bom colesterol (HDL colesterol) nas pessoas com artrite reumatoide.

3.Justificativa:

As pessoas com artrite reumatoide têm maior chance de ter doenças do coração devido à alteração do colesterol do sangue. O bom colesterol ou HDL colesterol protege contra as doenças do coração e derrame. Neste estudo vamos avaliar a quantidade do bom colesterol (HDL colesterol) e sua função para que possamos entender melhor a artrite reumatoide e no futuro prevenir complicações dos vasos sanguíneos.

4. Convite:

O(A) senhor(a) está sendo convidado, como voluntário(a), para participar de uma pesquisa científica.

Para participar deste estudo, o(a) senhor(a) deve atender aos seguintes critérios: ter diagnóstico de artrite reumatoide; ter mais de 18 anos de idade; não fazer uso de medicamentos que diminuam colesterol ou triglicérides nos últimos 3 meses; não fumar ou ingerir bebida alcoólica; não estar grávida; não ter *diabetes mellitus*, doença do fígado crônica, hipotireoidismo descompensado, doença renal crônica ou outras doenças renais.

Se o(a) senhor(a) aceitar participar gastará cerca de 30 minutos para que eu faça algumas perguntas sobre sua saúde e faça um exame físico completo hoje, ou se preferir, podemos agendar para outro dia.

Além disto, o(a) senhor(a) terá que ir ao laboratório do Hospital do Servidor Público Municipal, em uma data que agendaremos, pela manhã, em jejum de 8 horas, para retirarmos uma amostra de sangue de 25 mL para fazer exames de sangue (colesterol e bom colesterol).

A coleta de sangue será realizada pela equipe do Hospital do Servidor Público Municipal, em dia previamente agendado e não acarretará nenhum risco grave à sua saúde.

Deverá ser mantida a dieta e a medicação habitual, de acordo com recomendação médica, bem como o agendamento de todas as consultas, como usual, no Hospital do Servidor Público Municipal.

A coleta de dados somente iniciará após a aprovação deste projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Nove de Julho – UNINOVE.

Rubrica do participante ou responsável:

Rubrica do pesquisador

5. Desconforto ou riscos esperados:

Será realizada apenas uma coleta de sangue, com possibilidade de desconforto pequeno no local. Pode ocorrer formação de pequena mancha no local (hematoma) que desaparece em alguns dias. Em caso de desconforto, haverá equipe de saúde no local para prestar atendimento.

6. Medidas protetivas aos riscos:

As perguntas sobre sua saúde e o exame físico serão realizados em uma sala reservada.

No laboratório há equipe para pronto atendimento caso ocorra algum mal-estar durante o procedimento de coleta de sangue. O(A) Sr(a) receberá assistência integral e imediata, de forma gratuita, pelo tempo que for necessário em caso de danos decorrentes da pesquisa.

Qualquer efeito colateral que o(a) senhor(a) apresente devido a coleta de sangue, ligue para, em qualquer horário, Marcia Benacchio Giacaglia, no celular/WhatsApp (11) 99141-7052, que é a médica investigadora do estudo.

O(A) Sr.(a) tem direito à indenização em caso de danos decorrentes do estudo.

7. Benefícios da pesquisa:

Não há benefício direto para o(a) senhor(a). Estudos científicos baseiam-se na análise de grande número de amostras, sendo impossível estimar o benefício individual de cada participante incluído no estudo.

Os estudos realizados a partir da sua amostra de sangue, permitirão compreender como a função do colesterol HDL e componentes da inflamação estão relacionados com o risco para doenças cardiovasculares nos indivíduos com artrite reumatoide.

8. Retirada do consentimento e garantia de acesso:

O(A) senhor(a) tem o direito de acesso a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para esclarecer eventuais dúvidas, assim como a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência e tratamento da sua doença.

Em qualquer etapa do estudo, o(a) senhor(a) terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal investigadora é a Dra. Marisa Passarelli, que pode ser encontrada na Rua Vergueiro 235/249, Liberdade, São Paulo, e-mail: m.passarelli@uni9.pro.br.

Se o(a) senhor(a) tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa - CEP – da Universidade Nove de Julho na Rua Vergueiro nº 235/249, 12º andar, São Paulo – SP, CEP: 01504-001, telefone: 3385-9010, e-mail: comitedeetica@uninove.br ou

do Hospital do Servidor Público Municipal na Rua Castro Alves 63, São Paulo – SP, CEP: 01532-001, telefone: 3397-7725, e-mail: hspm.cep@gmail.com.

9. Garantia do sigilo:

Seu direito de confidencialidade será garantido. Os seus dados serão analisados em conjunto com outros participantes, não sendo divulgado a identificação de nenhum participante sob qualquer circunstância.

Solicitamos sua autorização para que os dados obtidos nesta pesquisa sejam utilizados em uma publicação científica, meio como os resultados de uma pesquisa são divulgados e compartilhados com a comunidade científica.

10. Despesas / ressarcimento decorrentes da participação na pesquisa:

O(A) senhor(a) não terá qualquer custo, pois o custo desta pesquisa será de responsabilidade do orçamento da pesquisa. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Os custos com transporte e alimentação que o senhor(a) tiver decorrentes de sua participação na pesquisa serão ressarcidos pela pesquisadora responsável.

11. Local da pesquisa:

A coleta de sangue será realizada no Hospital do Servidor Público Municipal, CNPJ: 46.854.998/0001-92, situado à Rua Castro Alves, 60 – Aclimação, São Paulo – SP, CEP: 01532-000, fone: (11) 3208-2211. Solicitamos sua autorização para verificarmos seu prontuário do ambulatório de reumatologia do Hospital do Servidor Público Municipal a fim de obtermos seus dados clínicos e laboratoriais.

As amostras biológicas (seu sangue coletado) serão processadas e estocadas no Laboratório de Lípidos (LIM 10) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, CNPJ: 60.448.040/0001-22, situado à Av. Dr. Arnaldo, 455, 3º andar – sala 3305, Cerqueira César, São Paulo – SP, CEP: 01246-903, fone: (11) 3061-7263, e-mail: m.passarelli@fm.usp.br . Plasma e soro provenientes do sangue coletado serão armazenados em tubos contendo tampa com rosca de vedação, em caixas apropriadas, mantidas a - 80°C.

Solicitamos sua autorização para que as amostras de plasma e soro provenientes do sangue coletado do senhor(a) sejam armazenadas no Laboratório de Lípidos – LIM 10, Depto. de Clínica Médica, Disciplina de Endocrinologia e Metabologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

As amostras obtidas serão armazenadas no biorrepositório do Laboratório de Lípidos (LIM 10) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, apenas durante o período de realização do estudo. Em caso de necessidade de utilização posterior das amostras será pedido novo consentimento após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.

Todas as amostras de sangue e os resultados provenientes delas serão usados apenas para as finalidades descritas no protocolo de pesquisa e no termo de consentimento livre e esclarecido. Após a conclusão do estudo, qualquer material remanescente será destruído de acordo com as boas práticas clínicas.

12. Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado interdisciplinar e independente, que deve existir nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, criado para defender os interesses dos participantes de pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento das pesquisas dentro dos padrões éticos (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa envolvendo Seres Humanos – Res. CNS nº 466/12 e Res. CNS 510/2016). O Comitê de Ética é responsável pela avaliação e acompanhamento dos protocolos de pesquisa no que corresponde aos aspectos éticos. **Endereço do Comitê de Ética da Uninove: Rua. Vergueiro nº 235/249 – 12º andar – Liberdade – São Paulo – SP CEP. 01504-001. Telefone: 3385-9010. E-mail: comitedeetica@uninove.br**

Horários de atendimento do Comitê de Ética: segunda-feira a sexta-feira – Das 11h30 às 13h00 e Das 15h30 às 19h00

13. Nome Completo e telefones dos Pesquisadores (Orientador e Alunos) para Contato:

Profa. Dra. Marisa Passarelli (orientadora) – (11) 982606140

Marcia Benacchio Giacaglia (aluna) - (11) 99141-7052

14. Uma via original assinada deste termo deverá ser retida pelo senhor(a) ou por seu representante legal e outra via original assinada será arquivada pelo pesquisador responsável.

São Paulo, de de

15. Consentimento Pós-Informação:

Eu, _____, após leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, entendo que minha participação é voluntária, e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmando que recebi uma via deste termo de consentimento, e autorizo a realização do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos somente neste estudo no meio científico.

Assinatura do participante ou representante legal

Assinatura da testemunha (para participantes analfabetos, semianalfabetos ou indivíduos com deficiência auditiva ou visual)

16.

Eu, _____ (pesquisador responsável desta pesquisa), certifico que:

- a) Esta pesquisa só terá início após a aprovação do(s) referido(s) Comitê(s) de Ética em Pesquisa o qual o projeto foi submetido.
- b) Considerando que a ética em pesquisa implica o respeito pela dignidade humana e a proteção devida aos participantes das pesquisas científicas envolvendo seres humanos;
- c) Este estudo tem mérito científico e a equipe de profissionais devidamente citados neste termo é treinada, capacitada e competente para executar os procedimentos descritos neste termo;

Assinatura do pesquisador

ANEXO C – APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Universidade Nove de Julho
Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Função anti-inflamatória da lipoproteína de densidade alta (HDL) na artrite reumatoide: contribuição para o risco cardiovascular.", protocolada sob o CEUA nº 6647311023 (ID 000403), sob a responsabilidade de **Marisa Passarelli** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Nove de Julho (CEUA/UNINOVE) na reunião de 13/12/2023.

We certify that the proposal "Anti-inflammatory function of high-density lipoprotein (HDL) in rheumatoid arthritis: contribution to cardiovascular risk.", utilizing 20 Isogenics mice (males or females), protocol number CEUA 6647311023 (ID 000403), under the responsibility of **Marisa Passarelli** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Nove de Julho University (CEUA/UNINOVE) in the meeting of 12/13/2023.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **01/2024** a **05/2024** Área: **Medicina**

Origem: **Biotério - Unidade Vergueiro**

Espécie: **Camundongos isogênicos**

Linhagem: **C57Bl/6**

sexo: **Machos ou Fêmeas**

idade: **2 a 48 semanas**

Quantidade: **20**

Peso: **10 a 25 g**

São Paulo, 15 de dezembro de 2023



Prof. Dr. Rodrigo Labat Marcos

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Nove de Julho



Profa. Dra. Stella Regina Zamuner

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Nove de Julho



ANEXO D – FOLHA DE AVALIAÇÃO PARA O CÁLCULO DO DAS28 APLICADA AOS PARTICIPANTES DO GRUPO AR

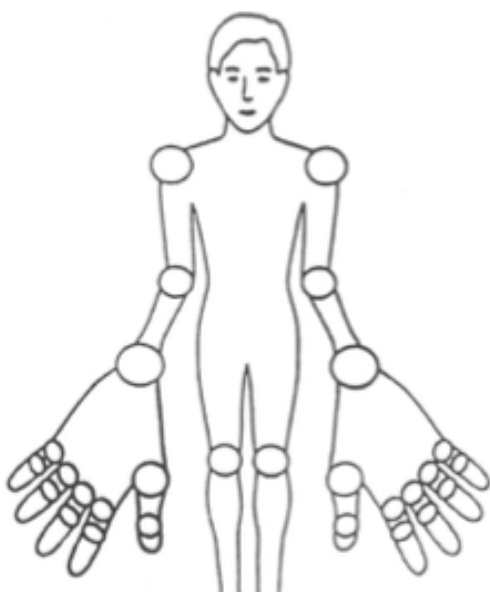
Nome:

RH:

Data:

Escore de atividade da doença (DAS 28)

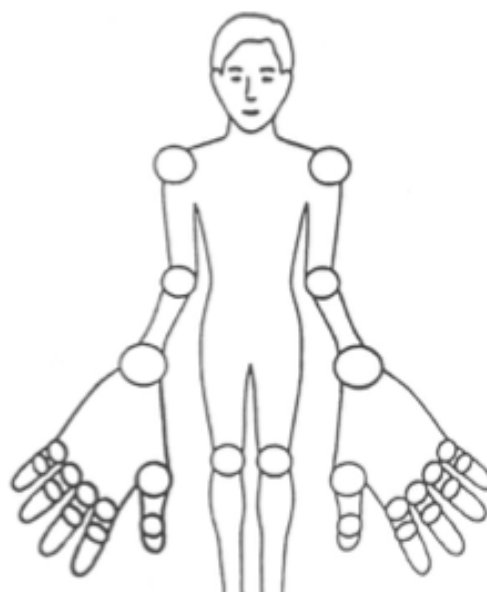
Articulações dolorosas



1. Número de articulações dolorosas

--	--

Articulações edemaciadas



2. Número de articulações edemaciadas

--	--

3. VHS (mm/h):

--	--	--

4. Avaliação Global da Saúde do paciente:

Pergunta ao paciente: Como você se sente, levando em conta a artrite e outros problemas de saúde que você tem? (0 = muito bem, 10 = muito mal)

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----