



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Marcela de Abreu Casanova

**Efeitos do ácido graxo ômega-3 e do ciprofibrato sobre a função endotelial e
a rigidez arterial em pacientes hipertensos com hipertrigliceridemia:
influência do gênero e do risco cardiovascular**

Rio de Janeiro

2016

Marcela de Abreu Casanova

**Efeitos do ácido graxo ômega-3 e do ciprofibrato sobre a função endotelial e a rigidez
arterial em pacientes hipertensos com hipertrigliceridemia:
influência do gênero e do risco cardiovascular**

Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de
Pós-graduação em Ciências Médicas, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

UERJ

Orientador: Prof. Dr. Mario Fritsch Toros Neves

Rio de Janeiro

2016

**CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A**

C335 Casanova, Marcela de Abreu.

Efeitos do ácido graxo ômega-3 e do ciprofibrato sobre a função endotelial e a rigidez arterial em pacientes hipertensos com hipertrigliceridemia: influência do gênero e do risco cardiovascular / Marcela de Abreu Casanova. – 2016.
86 f.

Orientador: Prof. Dr. Mario Fritsch Toro Neves

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Hipertensão - Teses. 2. Ácidos graxos Omega 3 - Teses. 3. Endotélio - Teses. 4. Hipertrigliceridemia. 5. Rigidez vascular. I. Neves, Mario Fritsch Toro. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616.12-008.331.1

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Marcela de Abreu Casanova

**Efeitos do ácido graxo ômega-3 e do ciprofibrato sobre a função endotelial e a rigidez arterial em pacientes hipertensos com hipertrigliceridemia:
influência do gênero e do risco cardiovascular**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 1 de agosto de 2016.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Mario Fritsch Toros Neves (Orientador)
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof^a. Dra. Andrea Araujo Brandão
Faculdade de Ciências Médicas – UERJ

Prof^a. Dra. Márcia Regina Simas Torres Klein
Instituto de Nutrição – UERJ

Prof^a. Dra. Fernanda Jurema Medeiros
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Gil Fernando da Costa Mendes Salles
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2016

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família pelo amor incondicional e presença constante em todas as fases da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, a oportunidade de trabalhar durante 9 anos dentro de um ambiente familiar que permitiu a construção de laços fraternos e que agregou valores para minha vida profissional, ampliando meus conhecimentos dentro do universo científico.

Ao meu marido, por se fazer presente na minha vida, me enchendo de carinho e amor em momentos angustiantes, por tolerar meus humores e por ser parte da inspiração da minha vida.

Aos meus pais, irmã e sobrinho, por todo amor e dedicação, fundamentais para darem sentido a minha vida. Agradeço, em especial, aos meus pais, por tudo que me ensinaram e por serem meus grandes exemplo de força, perseverança e esforço a vencer os altos e baixos da vida.

Aos meus orientadores, por seus ensinamentos, paciência, estímulo e força. Certamente, vocês são grandes exemplos de profissionais que são reconhecidos por contribuir por uma área da saúde melhor e por agregar conhecimento científico de qualidade para nossa formação. Agradeço pela oportunidade de fazer parte de uma equipe ímpar de mestres que sabem reconhecer e valorizar o trabalho do aluno e pelos grandes ensinamentos que levarei por toda a minha vida. Obrigada, mais uma vez, por aliar ao meu atendimento valor ético e principalmente humano, aprendendo a escutar e dar atenção aos pacientes em busca do sucesso no seu tratamento e reabilitação.

A todos amigos e profissionais da Clínica Médica, em especial ao grupo Chama composto pelos amigos médicos, nutricionistas, fisioterapeuta e da atividade física, por serem parte contribuinte da realização desse projeto, ajudando na captação de pacientes, na realização de exames e por proporcionarem um espaço de união, amizade e respeito. E tão importante como a minha equipe multiprofissional agradeço a técnica de enfermagem por todo o carinho e ajuda na coleta dos exames laboratoriais.

RESUMO

CASANOVA, Marcela de Abreu. *Efeitos do ácido graxo ômega-3 e do ciprofibrato sobre a função endotelial e a rigidez arterial em pacientes hipertensos com hipertrigliceridemia: influência do gênero e do risco cardiovascular.* 2016. 86f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2016.

A hipertrigliceridemia tem sido associada com o incremento no risco cardiovascular (CV). O impacto do gênero sobre o perfil lipídico e a progressão da aterosclerose carece de maiores evidências científicas. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do gênero e do risco CV sobre os efeitos do ômega-3 e do ciprofibrato na função endotelial e rigidez arterial em pacientes hipertensos com hipertrigliceridemia. Trinta hipertensos não diabéticos com triglicerídeos (TG) entre 150–499mg/dl foram selecionados para um estudo prospectivo, cruzado e randomizado para tratamento com 1800mg/dia de ácidos graxos ômega-3 ou de 100mg/dia de ciprofibrato durante 3 meses com um período de *washout* de 2 meses. Os parâmetros avaliados foram a pressão arterial (PA), a estimativa do risco de doença arterial coronariana (DAC), o índice de hiperemia reativa (RHI), a dilatação mediada por fluxo (DMF) da artéria braquial, a velocidade de onda de pulso carótida-femoral (VOP-cf) e as pressões aórticas. A média de idade da amostra foi de 54 anos (40–65 anos). Os resultados principais mostraram que ambas as terapias foram efetivas na redução dos TG (queda de 39% na terapia com ciprofibrato e de 21% com ômega-3). No entanto, a queda dos TG foi maior entre os homens (-90mg/dl, p≤0,001) para ambas intervenções enquanto somente o tratamento com ciprofibrato diminuiu os TG nas mulheres (-100mg/dl, p≤0,001). A PA sistólica periférica (144 para 133mmHg vs 129 para 123mmHg), o colesterol total (214 pra 199mg/dl vs 230 pra 193mg/dl), a razão TG/HDL (7,1 para 4,1 vs 7,0 para 4,2) e o risco de DAC (15 para 11% vs 6 para 4%) foram significativamente reduzidos após tratamento com ômega-3 em homens e após tratamento com ciprofibrato em mulheres, respectivamente. Houve ainda uma maior redução na VOP-cf (10,3 para 9,4m/s, p<0,05) e na pressão aórtica sistólica (131 para 123mmHg, p<0,05) somente em homens tratados com ômega-3 enquanto que mulheres tratadas com ciprofibrato apresentaram aumento no RHI (1,8 para 2,3unidades, p<0,05) e HDL-C (39 para 44mg/dl, p<0,05). Após estratificação dos indivíduos pelo risco CV, pacientes de alto risco (≥7,5%) tratados com ômega-3 apresentaram queda na VOP-cf (10,4 para 9,4m/s, p<0,05) e incremento na DMF (11,1 para 13,5%, p<0,05). Menores níveis da PA periférica (131±84 para 125±79mmHg, p<0,05), colesterol total (204 para 179mg/dl, p<0,05) e da pressão aórtica sistólica (124 para 118mmHg, p<0,05) foram observados ao final da intervenção com ciprofibrato em pacientes de baixo risco CV (<7,5%). Houve ainda neste grupo de pacientes um aumento significativo na DMF com a terapia com ômega-3 (10,1 para 13,5%) e com ciprofibrato (8,7 para 14,0%). Em conclusão, a queda dos TG em mulheres tratadas com ciprofibrato foi associada com a melhora da função endotelial enquanto que o ômega-3 resultou em efeitos benéficos na rigidez arterial nos homens, sugerindo a diferença de gêneros no tratamento da hipertrigliceridemia. Além disso, o tratamento ativo com ômega-3 se associou com a melhora da rigidez arterial e da função endotelial em pacientes hipertensos hipertrigliceridêmicos com alto risco CV, destacando o papel benéfico desta terapia sobre os marcadores precoces de aterosclerose nesta população.

Palavras-chave: Hipertensão. Hipertrigliceridemia. Diferença de gêneros. Função endotelial.

Rigidez arterial. Risco cardiovascular. Ácidos graxos ômega-3. Ciprofibrato.

ABSTRACT

CASANOVA, Marcela de Abreu. *Effects of omega-3 fatty acids and ciprofibrate on arterial stiffness and endothelial function in hypertensive patients with hypertriglyceridemia: influence of gender and cardiovascular risk.* 2016. 86f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2016.

Hypertriglyceridemia has been associated with increased cardiovascular (CV) risk. The impact of gender on lipid profile and the progression of atherosclerosis require further scientific evidence. The objective of this study was to evaluate the influence of gender and CV risk on the effects of omega-3 and ciprofibrate in endothelial function and arterial stiffness in hypertensive patients with hypertriglyceridemia. Thirty nondiabetic hypertensive patients with triglycerides (TG) between 150□499mg/dl were selected for a prospective, crossover, randomized study receiving treatment with 1800mg/day of omega-3 fatty acids or 100mg/day ciprofibrate for 12 weeks with a washout period of 8 weeks. We evaluated blood pressure (BP), estimated coronary artery disease (CAD) risk, reactive hyperemia index (RHI), flow-mediated dilatation (FMD) of brachial artery, carotid-femoral pulse wave velocity (cf-PWV) and aortic pressures. The average age was 54 years (40-65 years-old). The main results showed that both treatments were effective in reducing TG levels (reduction of 39% in the treatment with ciprofibrate and 21% in the treatment with omega-3). However, the decrease of TG levels was higher among men (-90mg/dl, p≤0.001) for both treatment while only treatment with ciprofibrate lowered TG levels in women (-100mg/dl, p≤0.001). Peripheral systolic BP (144 to 133mmHg vs 129 to 123mmHg), total cholesterol (214 to 199 mg/dl vs 230 to 193mg/dl), TG/HDL ratio (7.1 to 4.1 vs 7.0 to 4.2) and CAD risk (15 to 11% vs 6 to 4%) were significantly reduced after treatment with omega-3 in men and after treatment with ciprofibrate in women, respectively. There was also a greater reduction in cf-PWV (10.3 to 9.4m/s, p<0.05) and systolic aortic pressure (131 to 123mmHg, p<0.05) only in men treated with omega-3 while women treated with ciprofibrate showed an increase in RHI (1.8 to 2.3 units, p<0.05) and HDL-C (39 to 44mg/dl, p<0.05). In subjects grouped by CV risk, high-risk patients ($\geq 7.5\%$) showed reduced cf-PWV (10.4 to 9.4m/s, p<0.05) and FMD was increased (11.1 to 13.5%, p<0.05) by omega-3. Lower peripheral BP levels (131±84 to 125±79mmHg, p<0.05), total cholesterol (204 to 179mg/dl, p<0.05) and systolic aortic pressure (124 to 118mmHg, p<0.05) were observed at the end of the intervention with ciprofibrate in low-risk patients ($<7.5\%$). There was also in these patient a significant increase in FMD with therapy with omega-3 (10.1 to 13.5%) and ciprofibrate (8.7 to 14.0%). In conclusion, the decrease of TG levels in women occurred only with ciprofibrate treatment and it was associated to an improvement in endothelial function while omega-3 resulted in beneficial effects on arterial stiffness in men, suggesting gender differences in the treatment of hypertriglyceridemia. Furthermore, the use of omega-3 improved arterial stiffness and endothelial function in high-risk patients, pointing out the beneficial effect of this therapy on vascular aging in this population.

Keywords: Hypertension. Hypertriglyceridemia. Gender difference. Endothelial function. Arterial stiffness. Cardiovascular risk. Omega-3 fatty acids. Ciprofibrate.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACC	<i>American College of Cardiology</i>
AHA	<i>American Heart Association</i>
AIx	<i>Augmentation index</i> - índice de incremento
AP	<i>Augmentation pressure</i> - pressão de incremento
DHA	Ácido docosaeaxenóico
DMF	Dilatação mediada por fluxo
EPA	Ácido eicosapentaenóico
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HOMA-β	<i>Homeostatic model assessment</i> - β cell production
HOMA-IR	<i>Homeostatic model assessment</i> - insulin resistance
IC	Intervalo de confiança
ICAM	Molécula de adesão intercelular
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
IMC	Índice de massa corporal
Kg/m ²	Kilo por metro ao quadrado
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDLox	Lipoproteína de baixa densidade modificada pela oxidação
m/s	Metro por segundo
mmHg	Milímetros de mercúrio
NHANES	Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição
NO	Óxido nítrico
PPAR-α	Receptores ativados por proliferador de peroxissomos tipo alfa
OR	<i>Odds ratio</i> - razão de chances
RHI	Índice de hiperemia reativa
RR	<i>Relative risk</i> – risco relativo
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
VCAM	Molécula de adesão de célula vascular
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
VOP	Velocidade de onda de pulso

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	9
1 REVISÃO DA LITERATURA.....	11
2 OBJETIVOS.....	22
2.1 Objetivo geral	22
2.2 Objetivos específicos.....	22
3 MÉTODOS.....	23
3.1 Artigo 1 – Gender differences in the treatment of hypertriglyceridemia with ciprofibrate and omega-3 fatty acids in hypertensive patients.....	25
3.2 Artigo 2 – Omega-3 fatty acids supplementation improves endothelial function and arterial stiffness in hypertensive patients with hypertriglyceridemia and high cardiovascular risk.....	39
4 DISCUSSÃO.....	59
CONCLUSÃO.....	67
REFERÊNCIAS.....	68
APÊNDICE – Termos de Consentimento Livre e Esclarecido.....	81
ANEXO A – Idade vascular baseada no escore do risco de <i>Framingham</i>.....	83
ANEXO B – Estimativa do risco de doença cardiovascular aterosclerótica....	84
ANEXO C – Aprovação do comitê de ética em pesquisa.....	85
ANEXO D – Registro no <i>clinical trials</i>.....	86

INTRODUÇÃO

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica de início precoce e de origem multifatorial, que ocorre em resposta à agressão ao endotélio vascular¹ devido à presença de diversos fatores de risco, como o colesterol alto, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) e o fumo². Afeta predominantemente a camada íntima das artérias de médio e grande calibre e se caracteriza pelo espessamento e perda de elasticidade da parede arterial³.

A HAS e as dislipidemias estão frequentemente associadas e são potentes fatores de risco modificáveis para a formação da placa aterosclerótica. Quando interligadas a outras anormalidades metabólicas, tais como a obesidade e a hiperinsulinemia determinam uma elevação no risco cardiovascular. A redução da lipoproteína de alta densidade (HDL) e a elevação das lipoproteínas plasmáticas aterogênicas, como as de baixa densidade (LDL), as de muito baixa densidade (VLDL), as de densidade intermediária (IDL) e os remanescentes de quilomícrons, parecem ser mais importantes para a biologia vascular do que os níveis de triglicerídeos isolados, potencializando a disfunção do endotélio e induzindo ao processo de aterogênese⁴.

O perfil lipídico guarda relação direta com a doença aterosclerótica. Dados epidemiológicos evidenciam que a hipertrigliceridemia constitui um fator de risco independente para a doença arterial coronariana^{5,6}. No entanto, é bastante controverso reconhecer, especialmente em ensaios clínicos randomizados, os triglicerídeos como um marcador isolado de risco tradicional para as doenças cardiovasculares, visto a sua associação com partículas aterogênicas remanescentes.

A doença cardiovascular aterosclerótica é a causa de morbi-mortalidade mais freqüente no mundo. Dados da Pesquisa Nacional de Saúde e Nutrição (NHANES) realizada nos últimos 15 anos estimam que a prevalência de triglicerídeos limítrofes (150 - 199mg/dl) atinge 15% a 35% da população adulta dos Estados Unidos e de triglicerídeos elevados (200 - 499mg/dl) afetam 8% a 22% dos norte-americanos⁷. É importante destacar que este inquérito detectou variações significativas na prevalência da hipertrigliceridemia segundo a faixa etária, raça e índice de massa corporal (IMC). Por outro lado, dados nacionais ainda são escassos para estimar a prevalência da hipertrigliceridemia na população adulta brasileira⁸.

Ao lado deste panorama, um outro problema de saúde crescente no cenário epidemiológico mundial que guarda relação direta com o aumento na prevalência da HAS e das dislipidemias é a obesidade^{9,10}. Enquanto que estimativas globais indicam um provável

aumento das taxas de HAS na população mundial adulta de 26,4% no ano 2000 para 29,2% no ano 2025¹¹, dados nacionais revelam diferenças entre os gêneros nesta estimativa na qual 24% das mulheres e 17% dos homens adultos tinham diagnóstico de hipertensão¹². Já a prevalência do sobrepeso e da obesidade na população adulta brasileira cresceram de forma importante nos últimos 30 anos, principalmente no gênero feminino¹². O IMC $\geq 25\text{Kg/m}^2$ aumentou de 18,5% para 50,1% em homens e 28,7% para 48% em mulheres, enquanto o IMC $\geq 30\text{Kg/m}^2$ subiu de 2,8% para 12,4% em homens e 8,0% para 16,9% em mulheres¹³. Dados de estudos populacionais clássicos como o *Framingham Heart Study*¹⁴ e o *Women's Health Initiative*¹⁵ mostraram que o risco de HAS é maior nos indivíduos obesos ou naqueles que apresentam um aumento do IMC no decorrer dos anos.

Tendo em vista as diferenças apontadas nas taxas de morbi-mortalidade no país por doença cardiovascular entre homens (morbidade maior na faixa etária de 35 a 44 anos) e mulheres (mortalidade maior após os 45 anos), parece o gênero exercer também alguma influência sobre o perfil lipídico^{16, 17}. De modo geral, o gênero masculino apresenta maiores níveis de triglicerídeos quando comparados ao gênero feminino, e acredita-se que existe um aumento potencial da hipertrigliceridemia nas mulheres compreendidas entre 40 e 69 anos de idade¹⁸. Este dado sugere que o risco de doença na mulher aumenta após a menopausa, fase esta que evolui com a queda dos hormônios ovarianos e consequentemente com o aumento do tônus vascular e a redução na liberação de fatores relaxantes do endotélio¹⁹.

Diante deste cenário, a redução no risco cardiovascular demanda intervenção sobre os fatores de risco presentes em todos os gêneros e faixas etárias. A decisão de iniciar a terapia medicamentosa para indivíduos com níveis de triglicerídeos entre 150 a 499mg/dl deve ser avaliada individualmente com base no risco cardiovascular²⁰. Levando em consideração que os níveis elevados de triglicerídeos podem ser um marcador de risco para doenças cardiometabólicas, o uso de fibratos e de ácidos graxos ômega-3 de origem marinha parecem ser as melhores opções de tratamento ativo capazes de reduzir as concentrações plasmáticas de triglicerídeos em torno de 20 a 50%²¹.

Assim a necessidade em utilizar medidas farmacológicas no tratamento da hipertrigliceridemia no intuito de reduzir o risco de complicações micro e macrovasculares em indivíduos hipertensos, obesos e hipertrigliceridêmicos tornam-se estratégias efetivas na abordagem clínica do paciente.

1 REVISÃO DA LITERATURA

A aterosclerose é a doença responsável pelo maior índice de morbi-mortalidade no mundo e que tem forte associação com alterações funcionais e estruturais das artérias.

O endotélio vascular é considerado o maior órgão-alvo envolvido no acometimento de diversas doenças crônicas²². É capaz de sintetizar e liberar substâncias vasodilatadoras e antiplaquetárias (incluindo óxido nítrico [NO], fator hiperpolarizante derivado do endotélio, prostaciclinas e bradicinina) e substâncias vasoconstritoras, ativadoras da agregação plaquetária e da coagulação (incluindo endotelinas, tromboxano A2, leucotrienos, angiotensina II e espécies reativas de oxigênio, acetilcolina, trombina, vasopressina). Sua integridade é essencial à regulação do tônus vascular e do fluxo sanguíneo e na proteção contra a aterogênese²³.

Várias teorias na literatura já foram descritas para explicar o início do processo inflamatório da aterosclerose. A mais aceita guarda relação direta com a disfunção endotelial, unindo à hipótese da resposta a lesão do endotélio e a hipótese oxidativa¹. O endotélio lesado causa um aumento da permeabilidade aos componentes do plasma, incluindo as lipoproteínas plasmáticas que ficam retidas no espaço subendotelial e sofrem oxidação. Evidências sugerem que a LDL modificada pela oxidação (LDLox) são citotóxicas para as células endoteliais constituindo um dos principais fatores envolvido no desencadeamento da lesão⁸.

Outra manifestação desencadeada pela presença da LDLox na parede arterial é a expressão de moléculas de adesão celular (moléculas de adesão intercelular [ICAM-1], moléculas de adesão de célula vascular [VCAM-1], selectina de plaquetas e selectina de células endoteliais), a quimiotaxia, adesão e migração dos leucócitos e a liberação de mediadores inflamatórios pelos leucócitos (interleucinas 1, 6 e 8 e o fator de necrose tumoral-alfa [TNF α])^{24, 25}. Dessa forma, o endotélio acaba exercendo propriedades pró-coagulantes e pró-inflamatórias, iniciando-se o processo ateromatoso.

O fator de risco modificável que exerce maior influência na aceleração da progressão da aterosclerose é a dislipidemia²⁶. Dados de estudos epidemiológicos e transversais apontam para a associação existente entre a hipercolesterolemia, a hipertrigliceridemia e a elevação da pressão arterial²⁷. Embora a relação causal entre estes fatores de risco não estejam completamente esclarecidos, os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na gênese da hipertensão e das dislipidemias guardam relação direta com à disfunção endotelial²⁸.

A hiperlipidemia é uma condição clínica que compromete a liberação de NO, diminui a fluidez da membrana da célula endotelial, leva ao aumento na produção de radicais livres e a maior formação da LDLox^{29,30}, contribuindo por aumentar o risco de vasoespasma e trombose em vasos ateroscleróticos e dislipidêmicos. Isto é, a perda da ação protetora do endotélio, representada em parte pela redução na produção do NO, na presença de fatores de risco cardiovasculares, leva a um estado de vasoconstricção, trombose e inflamação^{31,32}.

Além do papel do endotélio, outro mecanismo capaz de apontar a relação entre as lipoproteínas ricas em colesterol com a progressão da HAS é a ativação do sistema renina-angiotensina aldosterona. A angiotensina II quando ativada exerce efeito pró-inflamatório induzindo a secreção de substâncias vasoativas, gerando o aumento intracelular de espécies reativas de oxigênio e maior oxidação da LDL³³. Em pacientes hipertensos estes mecanismos que envolvem o remodelamento vascular das artérias encontram-se exacerbados aumentando assim a propensão à aterogênese^{34,35}.

A hipertrigliceridemia tem sido relacionada com o incremento no risco cardiovascular e sua significativa associação com a morte cardiovascular (OR 1,80; IC95% 1,31-2,49), eventos cardiovasculares (OR, 1,37; IC95%, 1,23-1,53), infarto do miocárdio (OR, 1,31; IC 95%, 1,15-1,49) e até mesmo com pancreatite (OR, 3,96; 95% CI, 1,27-12,34) tem sido apontada em recentes revisões sistemáticas e meta-análises³⁶. Já a estimativa dos seus efeitos sobre a mortalidade por todas as causas e por doença cardiovascular por categoria dos níveis de triglicerídeos tem sido investigada e parecem ser dose-dependentes. Dessa forma, concentrações plasmáticas limítrofes (150-199mg/dl) apontaram um risco relativo pra mortalidade total e doença cardiovascular de 1,09 (IC95% 1,02-1,17) e de 1,15 (IC95% 1,03-1,29) respectivamente, enquanto que o risco para níveis elevados de triglicerídeos ($\geq 200\text{mg/dl}$) foi de 1,20 (IC95% 1,04-1,38) e de 1,25 (IC95% 1,05-1,50) quando comparado aos valores de referência normais ($< 150\text{mg/dl}$). Isto é, para cada incremento em 1mmol/l dos níveis de triglycerídeos foram constatados um aumento significativo em 13% na mortalidade por doença cardiovascular³⁷.

Muito embora os triglycerídeos não sejam considerados fator de risco tradicional envolvido com o desenvolvimento das doenças cardiovasculares, tem-se observado que a hipertrigliceridemia pode promover a aterogênese por aumentar os níveis do colesterol total e da fração LDL. Tal condição poderia ser explicada em parte pelo aumento da conversão da VLDL em LDL, em especial aquelas menores e mais densas, com maior potencial de penetrar na parede vascular, induzindo assim a um estado pró-coagulante³⁸. Dessa forma, o potencial aterogênico dos triglycerídeos possui relação especial com as mudanças associadas a outras

lipoproteínas plasmáticas e com os processos metabólicos envolvidos com o transporte e atividade de enzimas e receptores³⁹.

Por esta razão, a análise do perfil lipídico tem importância clínica na detecção precoce de indivíduos com risco de doença coronariana. Embora medidas tradicionais de risco, como o colesterol total e a LDL sejam corroboradas por evidências científicas como o principal alvo terapêutico para a redução dos lipídios^{8,40}, a fração colesterol não-HDL estima melhor o risco cardiovascular do que o LDL⁴¹ por compreender o colesterol transportado por todas as lipoproteínas aterogênicas circulantes no plasma como a LDL, VLDL, IDL, os remanescentes de quilomícrons e a lipoproteína a (que resulta da ligação covalente entre a LDL à apolipoproteína A)⁴². Em adição a estes dados, parece também que esta fração se refere a níveis da apolipoproteína B, isto é, a principal apoproteína das partículas aterogênicas e que tem valor preditivo similar a LDL. Com base em estudos epidemiológicos a fração colesterol não-HDL é considerada um forte preditor de morbi-mortalidade para doença cardiovascular aterosclerótica quando comparada a LDL⁴². Portanto, a medida do colesterol não-HDL é recomendada tanto para a estratificação de risco como também um alvo terapêutico secundário para o tratamento dos níveis elevados de triglicerídeos^{40,43} tendo assim especial aplicabilidade nos casos de hipertrigliceridemia associada ao diabetes e à síndrome metabólica²⁰.

Diferentemente das lipoproteínas aterogênicas, a fração HDL exerce inúmeras propriedades importantes na modulação do processo inflamatório, endotelial e oxidativo^{44,45}. Embora seu efeito protetor não esteja completamente esclarecido, sabe-se que ela é capaz de regular o processo de coagulação sanguínea, de inibir a expressão de moléculas de adesão celular e monócitos ao endotélio, de atuar na remoção de lipídios oxidados da LDL⁴⁶⁻⁴⁸, além de estimular a produção do NO^{44,49} e de realizar o transporte reverso do colesterol⁴⁵. No entanto, o efeito antiaterogênico da HDL parece ser explicado não só pela quantidade no plasma, mas também pela concentração de suas subclasses e por fatores genéticos^{50,51}.

Adicionalmente, a razão triglycerídeo/HDL tem sido recentemente associada com um desfavorável perfil cardiometabólico, especialmente em indivíduos hipertensos. O fato deste parâmetro ser atualmente estudado e explorado em pesquisas científicas é justificado por ele ser um preditor independente de eventos cardiovasculares^{52,53} e de rigidez arterial⁵⁴. Além disso, esta razão parece ser um melhor preditor do perfil de partículas pequenas e densas da LDL⁵⁵ que prediz fortemente a doença arterial coronariana. Evidências apontam também a forte relação existente entre a resistência a insulina e as altas concentrações de triglicerídeos e baixas da HDL. Diante disso, a razão triglycerídeo/HDL pode servir na identificação de

indivíduos com resistência à insulina bem como de risco elevado para doença arterial coronariana⁵⁶.

Com base nas evidências disponíveis e tendo em vista a identificação de indivíduos assintomáticos com desordens metabólicas, é importante caracterizá-los em termos do seu risco cardiovascular no intuito de instituir a melhor meta terapêutica individualizada⁵⁷. A pesquisa dos fatores de risco cardiovásculares ganha atenção no manejo clínico por possivelmente estabelecer a partir de escores uma estimativa da ocorrência de eventos cardíacos em 10 anos de acompanhamento. Até o momento não se tem instrumentos disponíveis para a estratificação de risco adaptados para o contexto brasileiro, sendo então utilizados a estimativa do risco global da coorte norte-americana do *Framingham Heart Study*^{40,58}. A idade vascular é também uma outra ferramenta menos específica de avaliação obtida pelo escore de risco de *Framingham*⁵⁸, capaz de identificar indivíduos de risco mais alto para desenvolver qualquer evento cardiovascular como infarto do miocárdio, angina instável, insuficiência cardíaca, acidente vascular encefálico isquêmico e hemorrágico, isquemia cerebral transitória, doença arterial periférica e morte coronariana (ANEXO A).

No entanto, novas equações têm sido propostas pelas diretrizes da *American College of Cardiology* (ACC) e da *American Heart Association* (AHA) no cálculo do risco primário para doença cardiovascular aterosclerótica, definida como morte coronária ou infarto do miocárdio não fatal ou acidente vascular encefálico fatal ou não fatal. Este cálculo utiliza as equações de predição para pacientes sem manifestação de doença cardiovascular prévia compreendidos na faixa etária entre 40 e 79 anos e utiliza como preditores a idade, raça, gênero, colesterol total, HDL, pressão arterial sistólica, o uso de tratamento medicamento para HAS, o tabagismo e o diabetes (ANEXO B)⁵⁹.

De todos os fatores de risco tradicionais mencionados e utilizados na estimativa do risco cardiovascular, é importante destacar o papel do gênero na progressão da atherosclerose. Tendo em vista que a incidência de doença cardiovascular em homens é maior do que a observada em mulheres com a mesma faixa etária⁶⁰⁻⁶³, sugere-se que as mulheres seriam protegidas ao longo da vida por hormônios sexuais⁶⁴ e que esta diferença entre os gêneros reduziriam em razão das modificações decorrentes do climatério, entre elas, do perfil lipídico. Dessa forma, a perda do efeito protetor de estrógenos, progesterona e andrógenos em mulheres acima dos 55 anos indicariam uma aceleração da doença aterosclerótica neste gênero^{65,66}.

É importante também mencionar nesta discussão que o fator que mais contribui para o incremento na mortalidade e no risco cardiovascular entre os gêneros parece ser determinado

pela síndrome metabólica. Sendo assim, a presença de três ou mais componentes representados pela obesidade abdominal, dislipidemia, HAS e as alterações na glicemia de jejum estariam associados a maior mortalidade nas mulheres pós-menopausadas do que em homens ou mulheres na pré-menopausa⁶⁷.

O perfil de lipoproteínas parece prever a incidência de doença arterial coronariana em ambos os gêneros⁶⁸. Uma meta-análise incluindo mais de 46 mil homens e cerca de 11 mil mulheres mostrou, respectivamente, um aumento de 30% e 75% no risco cardiovascular associado com um aumento de 1 mmol/l (ou 89mg/dl) nos níveis de triglicerídeos. Após o ajuste para o HDL e outros fatores, estes riscos foram reduzidos significativamente para 14% em homens e 37% nas mulheres⁶⁹. Parece assim que a hipertrigliceridemia aumenta o risco cardiovascular de forma mais importante nas mulheres do que nos homens, o que implica uma diferença de gênero no papel dos triglicérides na aterosclerose⁷⁰. Mais estudos na literatura são necessários para explorar a diferença de gêneros na dislipidemia.

Com base nos achados da literatura que apontam a relação da HAS e das dislipidemias com a disfunção endotelial e progressão da atherosclerose, estratégias utilizadas na detecção precoce de fatores de risco e de marcadores de doença arterial subclínica tornam-se de extrema importância na abordagem clínica do paciente⁷¹. A avaliação do perfil lipídico merece destaque nesta abordagem bem como o uso de métodos não-invasivos capazes de avaliar a função do endotélio e a estrutura dos vasos.

Como já mencionado anteriormente, um dos marcadores clássicos de disfunção endotelial consiste na redução da biodisponibilidade do NO^{72,73}. Essas alterações precoces que antecedem as manifestações clínicas da atherosclerose estão associadas a perdas importantes das múltiplas funções fisiológicas do endotélio. A avaliação da função endotelial torna-se assim uma importante ferramenta para a estratificação do risco cardiovascular^{74,75}, propiciando analisar os mecanismos envolvidos na fisiopatologia da atherosclerose e os resultados de intervenções preventivas e terapêuticas.

Atualmente, as técnicas disponíveis e mais empregadas em pesquisas clínicas capazes de avaliar a função vasodilatadora dependente do NO são a dilatação mediada por fluxo (DMF), obtida através da captação de imagens do diâmetro da artéria braquial através do aparelho de ultrassonografia de alta resolução e mais recentemente a tonometria arterial periférica. A DMF compara o diâmetro basal e pós-oclusão da artéria braquial em resposta à hiperemia reativa⁷⁶. A hiperemia reativa provoca aumento do fluxo sanguíneo e “shear stress” (estresse de cisalhamento), estimulando a liberação de NO e a dilatação é quantificada como um indicador da função vasomotora⁷⁷. Este exame apresenta alta sensibilidade para identificar

a presença de doença arterial coronariana quando se observa uma modificação percentual acima de 10% em homens e 15% nas mulheres⁷⁸.

Alterações anormais do relaxamento vascular dependente do endotélio ocorrem na presença de fatores de risco tradicionais como o fumo, a HAS e as dislipidemias e tem sido correlacionada com o escore de risco de *Framingham*⁷⁹. Dessa forma, uma resposta vasomotora prejudicada pode servir como preditor de eventos cardiovasculares futuros, sendo considerado um marcador não tradicional precoce na doença aterosclerótica⁴⁵.

Levando em consideração o papel do gênero sobre a resposta vasodilatadora do endotélio, a associação independente e significativa entre o gênero masculino com pior DMF foi observado numa série de estudos realizados em indivíduos assintomáticos⁸⁰. Este dado esta de acordo com observações clínicas e epidemiológicas de que o gênero masculino é um importante fator de risco para a doença aterosclerótica. Por outro lado, parece que mulheres idosas com tempo prolongando de menopausa apresentam maior comprometimento da função endotelial⁸¹.

Já a técnica capaz de avaliar a função endotelial a nível microvascular é representada pela tonometria arterial periférica⁸². O método mensura as modificações no volume de pulso arterial digital durante a hiperemia reativa, a partir de *probes* digitais. Enquanto a função endotelial é testada em um braço, o braço contralateral é utilizado para monitorar mudanças como as modificações no tônus autonômico. As modificações no tônus vascular são registradas em três fases distintas (basal, oclusão e pós-occlusão) e o índice de hiperemia reativa (RHI) é obtido como a razão entre a amplitude do sinal por um minuto após a deflação do manguito dividido pela amplitude média do sinal em 3,5 minutos antes da insuflação (linha de base), normalizado para o braço contralateral (controle)⁸³. O RHI tem sido recentemente relacionado a vários fatores de risco tradicionais e metabólicos^{84,85}.

De acordo com uma recente revisão sistemática e meta-análise tanto a DMF como o RHI possuem valor preditivo para detectar futuros eventos cardiovasculares. Para cada incremento em um desvio padrão nestas medidas houve associação com a redução em 50% no risco cardiovascular. No entanto mais estudos são necessários para explorar se o valor prognóstico destes dois métodos são independentes e se as intervenções terapêuticas são capazes de proporcionar modificações benéficas sobre este parâmetros e consequentemente sobre os desfechos cardiovasculares⁸⁶.

Avanços extraordinários nos métodos capazes de avaliar as alterações estruturais da parede arterial tem sido exploradas nos estudos científicos permitindo não somente avaliar a rigidez arterial como também outros parâmetros hemodinâmicos centrais⁸⁷.

A velocidade de onde de pulso (VOP) é considerada o método padrão ouro de comprometimento vascular, permitindo a identificação precoce de lesões de órgãos-alvo na HAS. Expressa a relação entre enrijecimento, elasticidade e complacência, podendo ser facilmente aplicada na avaliação do risco cardiovascular⁸⁷⁻⁹⁰. Além disso, a correlação existente entre a VOP e a dislipidemia em indivíduos hipertensos e não hipertensos, sugerem que tal método pode representar um marcador da influência aterosclerótica sobre o aumento da rigidez arterial⁹¹.

A medida da VOP pode ser realizada em vários segmentos da circulação arterial, no qual as ondas de pulso são obtidas transcutaneamente através de transdutores colocados sobre a carótida comum e ao mesmo tempo sobre a artéria radial (VOP periférica) e sobre a artéria femoral (VOP central). A relação entre a distância entre os transdutores e o intervalo de tempo entre cada curva determina a VOP. Essa velocidade de propagação constitui um índice de distensibilidade arterial. Uma vez aumentada contribui para a maior rigidez da parede vascular⁸⁸. Em indivíduos hipertensos, a VOP central ou carótida-femoral é um prognóstico independente para mortalidade cardiovascular^{90,92}. As propriedades da parede arterial, sua espessura e o diâmetro do lúmen arterial são os fatores que mais influenciam a VOP⁸⁸.

Há evidências da relação direta entre a VOP e eventos cardiovasculares e mortalidade. Uma revisão sistemática e meta-análise, envolvendo 17 grandes estudos longitudinais e mais de 15 mil pacientes acompanhados no período de 7,7 anos mostrou que um incremento de 1 m/s na VOP esteve associado com um aumento de 15% no risco de morte e 14% de eventos cardiovasculares⁹³. É bem conhecida também a associação significativa do incremento na VOP carótida-femoral como um preditor de risco independente para doença arterial coronariana^{94,95}.

Outra medida amplamente estudada na avaliação da rigidez arterial capaz de derivar pressões arteriais centrais e outros parâmetros hemodinâmicos é a análise da onda de pulso da artéria radial por tonometria de aplanação. As ondas de pulso radial resultantes são processadas com o uso de um software específico para derivar a pressão aórtica central correspondente através de uma função de transferência previamente validada. As ondas de pressão aórtica são submetidas a análises diversas pelo software para identificar o tempo até o pico do primeiro e segundo componentes da onda de pulso durante a sístole. A diferença de pressão entre o primeiro componente e a pressão máxima durante a sístole (pressão de incremento [AP]) é identificada como a onda de pressão refletida no período da sístole. O índice de incremento (AIx) é então definido como a relação da pressão de incremento com a pressão de pulso central, sendo expressa em percentagem e reflete também a rigidez vascular.

Sob este enfoque, quanto maior for o risco cardiovascular atribuído a um indivíduo que evolui com um conjunto de alterações metabólicas, como é o caso dos obesos, hipertensos e hipertrigliceridêmicos, maior serão os benefícios de uma intervenção terapêutica. Neste sentido, a pesquisa e o tratamento de indivíduos com componentes da síndrome metabólica pode ser uma estratégia eficaz na prevenção de doenças cardiovasculares. Por outro lado, mais pesquisas são necessárias para esclarecer se o tratamento da hipertrigliceridemia isolada leva a resultados clínicos significativos⁹⁶.

Tendo em vista o reconhecimento das principais causas que contribuem para o aumento dos triglicerídeos como a ingestão excessiva de bebidas alcoólicas e carboidratos, o sedentarismo, o sobrepeso e a obesidade, os fatores genéticos e certos tipos de medicamentos como os corticosteróides e agentes bloqueadores beta-adrenérgicos⁴⁰, a redução dos seus níveis, sejam por medidas farmacológicas ou por modificações no estilo de vida podem ser uma estratégia eficaz na prevenção da aterosclerose⁹⁷.

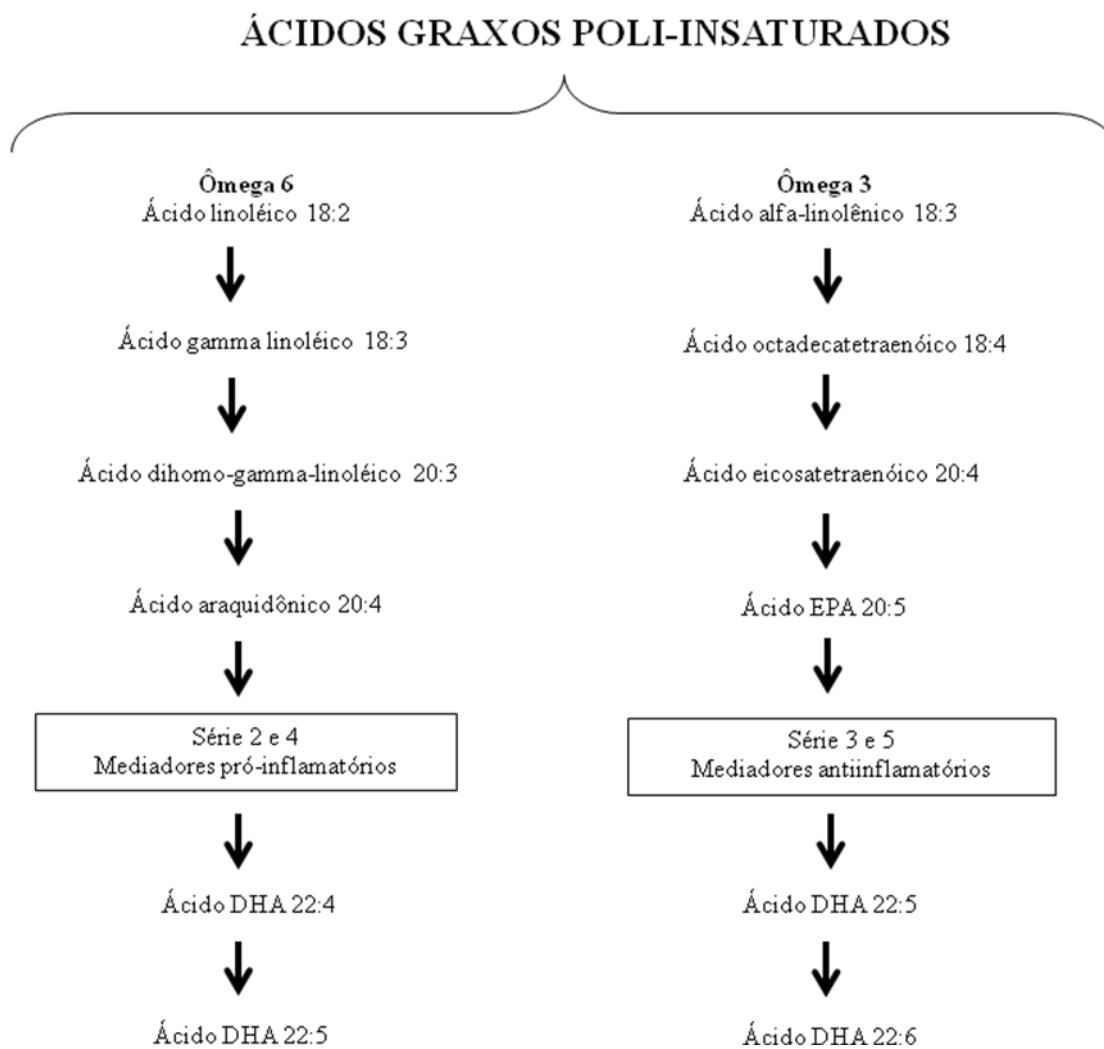
Em termos de terapia farmacológica, as estatinas figuram como a substância mais prescrita clinicamente para a prevenção primária e secundária da doença cardiovascular aterosclerótica. No entanto, o estudo dos efeitos cardiometabólicos de outros agentes hipolipemiantes ganhou destaque na literatura atual contribuindo para a tomada de decisão no tratamento das alterações lipídicas, em especial das hipertrigliceridemias⁹⁸. Apesar de diretrizes internacionais recomendarem o uso de fibratos, niacina ou ácidos graxos ômega-3 de forma isolada ou combinada a estatinas como opção de tratamento em pacientes com hipertrigliceridemia moderada a grave⁹⁹, pouco se sabe sobre os efeitos comparativos entre estas terapias, a destacar os fibratos e o ômega-3, sobre a função e a estrutura vascular.

Evidências científicas apontam que um dos compostos bioativos de interesse em ensaios clínicos humanos por seu efeito hipotensor, a ação antiinflamatória e pela melhora do perfil lipídico, com a queda dos níveis de triglicerídeos e o aumento da HDL, é representado pelos ácidos graxos ômega-3 de origem marinha¹⁰⁰.

O ômega-3 compõe uma classe de moléculas que não podem ser sintetizadas pelo organismo, sendo obtidos por meio da alimentação. Suas principais fontes dietéticas provêm dos peixes de águas frias e profundas, como o salmão, a truta e o bacalhau. Os óleos de muitas espécies de peixes marinhos são ricos em ácido eicosapentaenoíco (EPA) e em ácido docosaeaxenóico (DHA)¹⁰¹, as duas formas que apresentam cadeias longas e poli-insaturadas ativas da família ômega-3 de origem marinha. De forma especial, enquanto o EPA é um precursor para a formação de eicosanóides com menor poder inflamatório (série 3 e 5) sobre

as células imunes, o DHA não é um substrato para as enzimas de metabolização, mas sim um inibidor da síntese de eicosanóides (série 2 e 4) dos ácidos graxos ômega-6 (Figura 1).

Figura 1 - Processos de alongamento e de formação de novos lipídios a partir dos ácidos graxos essenciais linoléico e alfa-linolênico



Legenda: Os ácidos graxos poli-insaturados essenciais são representados pela série ômega-6 (linoléico, gamma-linoléico e araquidônico) e ômega-3 (ácido alfa-linolênico), que por sua vez dão origem a outros ácidos graxos essenciais de cadeias mais longas. Os ácidos graxos ômega-3 são obtidos por meio de alimentos de origem animal (peixes marinhos) e vegetal (óleo de linhaça, canola, soja, semente de chia, nozes). O ômega-3 de origem vegetal, contém predominantemente o ácido alfa-linolênico, que no organismo humano pode ser convertido em ácido eicosapentaenóico (EPA) e em ácido docosaeaxenóico (DHA), conforme ilustração.

Fonte: Adaptado de Waitzberg, DL, 2007¹⁰².

Os achados das propriedades biologicamente diferentes das prostaglandinas derivadas dos ácidos EPA e DHA daquelas derivadas do ácido araquidônico (fontes de ácidos

graxos ômega-6) estimularam estudos sobre o óleo de peixe como suplemento nutricional. Os benefícios atribuídos a ingestão do ômega-3 é explicado pelo aumento observado na síntese endotelial de NO, bem como pela diminuição da síntese de eicosanóides pró-inflamatórios (tromboxano A2) e pelo aumento da síntese de prostaglandinas 3 e de tromboxanos A3, exercendo assim menor efeito inflamatório¹⁰³. Todas essas modificações colaboram para um desvio favorável do balanço homeostático para uma condição mais vasodilatadora e menos agregante plaquetária^{104,105}.

Embora grandes ensaios clínicos^{106,107} tenham mostrado claros benefícios da suplementação com óleo de peixe na redução da mortalidade por doenças cardíacas e de morte súbita, ainda não está elucidado se tanto o EPA como o DHA conferem efeitos cardioprotetores similares. Parece que a concentração de DHA é superior em peixes enquanto que os suplementos comerciais à base de óleo de peixe fornecem em maior quantidade EPA¹⁰⁸. Além disso, não existem evidências científicas consolidadas para recomendar o EPA e DHA de forma isolada, já que a maioria dos estudos disponíveis avaliou o efeito cardioprotetor combinado destes ácidos graxos¹⁰⁹.

É consenso na literatura científica que o consumo regular de peixes ricos em ácidos graxos ômega-3 (no mínimo 2 refeições a base de peixe/semana) devem ser recomendadas como parte de uma alimentação saudável para reduzir o risco cardiovascular. Embora a recomendação dietética seja discutível, a suplementação com 1g/dia de ômega-3 reduz o risco cardiovascular em indivíduos portadores de doença cardiovascular e naqueles de baixo a moderado risco que não consomem duas refeições a base de peixe semanalmente¹¹⁰. Por outro lado, a suplementação acima de 1g/dia parece ter efeitos metabólicos e tensionais benéficos. Em portadores de doença arterial coronária, a suplementação de 1g/dia de ômega-3 reduziu em 10% os eventos cardiovasculares (morte, infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral), podendo assim ser utilizados como terapia adjuvante na hipertrigliceridemia ou em substituição a fibratos, niacina ou estatinas em pacientes intolerantes. Desta forma, a suplementação com o óleo de peixe encapsulado torna-se uma estratégia segura, efetiva e protetora na saúde cardiovascular e tem a vantagem de ser seguro evitando, assim, possíveis efeitos negativos provenientes dos contaminantes frequentemente presentes em peixes como metil-mercúrio, bifenil policlorinato e dioxinas¹¹¹.

Outra classe utilizada no tratamento farmacológico da hipertrigliceridemia e hiperlipidemia é representada pelos fármacos derivados do ácido fíbrico (fibratos), incluindo o bezafibrato, o ciprofibrato, o etofibrato, a genfibrozila e o fenofibrato^{96,98}. Seu mecanismo de ação está relacionado ao estímulo a receptores ativados por proliferador de peroxissoma

tipo alfa (PPAR- α) que leva a redução dos triglicerídeos graças ao aumento da produção e da ação da lipase lipoprotéica, bem como se relaciona com a maior síntese da apolipoproteína A1, e consequentemente, da HDL⁸. Muito embora exista uma grande inconsistência nos resultados dos estudos clínicos atribuído ao benefício clínico da monoterapia com fibrato^{112, 113} na redução de eventos cardiovasculares, parece que os melhores benefícios desta terapia sobre os desfechos cardiovasculares poderiam ser melhor visualizados em pacientes hipertrigliceridêmicos com baixos níveis da HDL²⁰.

Os fármacos derivados do ácido fíbrico além de atuarem na redução da hipertrigliceridemia são capazes também de aumentar a fração HDL. Já os efeitos sobre a fração LDL são bastante variáveis, podendo reduzi-la, aumentá-la ou não modificá-la⁸. Os fibratos mais comumente prescritos na população norte-americana são a genfibrozila e o fenofibrato¹¹⁴. De acordo com o estudo conduzido por Capell e colaboradores (2003), a terapia com fenofibrato foi capaz de reduzir significativamente as taxas de triglycerídeos, colesterol total e apolipoproteína B, não sendo verificadas alterações nas concentrações da HDL e LDL. Além disso, a capacidade do fenofibrato em melhorar a função vascular em pacientes com níveis de triglycerídeos elevados (200 a 750 mg/dl) foi detectada neste estudo, muito embora o mecanismo exato ainda não tenha sido completamente provado¹¹⁵.

Associado a este efeito, o estudo clínico desenvolvido por Kovacs e colaboradores (2005) constatou que a melhora da função endotelial, avaliada pela DMF, esteve diretamente relacionada com a redução do colesterol em um grupo de pacientes com dislipidemia combinada tratados com ciprofibrato¹¹⁶. Poucos estudos clínicos relatam a redução do risco de eventos cardiovasculares em pacientes com níveis aumentados de triglycerídeos tratados com fármacos derivados do ácido fíbrico, especialmente com o ciprofibrato¹¹⁷.

A hipótese levantada por este estudo é se a suplementação de ácidos graxos ômega-3 em pacientes hipertensos não diabéticos e com hipertrigliceridemia resulta em efeitos benéficos e superiores aos do ciprofibrato sobre a função endotelial, a rigidez arterial, o perfil metabólico, a pressão arterial e o risco de doença arterial coronariana havendo diferença entre os gêneros e de acordo com o risco cardiovascular.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a influência do gênero e do risco cardiovascular sobre os efeitos do ácido graxo ômega-3 e do ciprofibrato na função endotelial e a rigidez arterial em pacientes hipertensos com hipertrigliceridemia.

2.2 Objetivos específicos

Verificar, em pacientes hipertensos hipertrigliceridêmicos, as possíveis diferenças da terapia hipolipemiante entre os gêneros e entre indivíduos com baixo e alto risco cardiovascular nos seguintes parâmetros:

- a) velocidade de onda de pulso carótida-femoral;
- b) pressões aórticas e outros parâmetros hemodinâmicos centrais;
- c) pressão arterial periférica;
- d) dilatação mediada por fluxo da artéria braquial e índice de hiperemia reativa;
- e) estimativa do risco de doença arterial coronariana e idade vascular;
- f) perfil lipídico, razão triglicerídeo/HDL e colesterol não-HDL.

3 MÉTODOS

Estudo prospectivo, randomizado e *crossover* com um período de *washout* de 2 meses realizado numa amostra de conveniência atendida no ambulatório da Clínica de Hipertensão Arterial e Doenças Metabólicas Associadas do Departamento de Clínica Médica localizado no Hospital Universitário Pedro Ernesto da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

A população do estudo foi caracterizada por pacientes hipertensos em uso estável de medicamentos anti-hipertensivos por pelo menos 4 semanas, homens e mulheres pós menopausadas, idade entre 40 e 65 anos, com níveis de triglicerídeos séricos $\geq 150\text{mg/dl}$ e $<500\text{mg/dl}$ e que não receberam orientações nutricionais nos últimos 6 meses. Foram excluídos do estudo indivíduos com diagnóstico de diabetes *mellitus*, disfunção renal, doença arterial coronariana clinicamente evidente com história prévia de infarto agudo do miocárdio e/ou revascularização miocárdica, dislipidemia grave com LDL $\geq 160\text{ mg/dl}$ e/ou triglicerídeos $\geq 500\text{ mg/dl}$ ou em uso de estatinas ou betabloqueadores e história de abuso de drogas ou álcool nos últimos 6 meses.

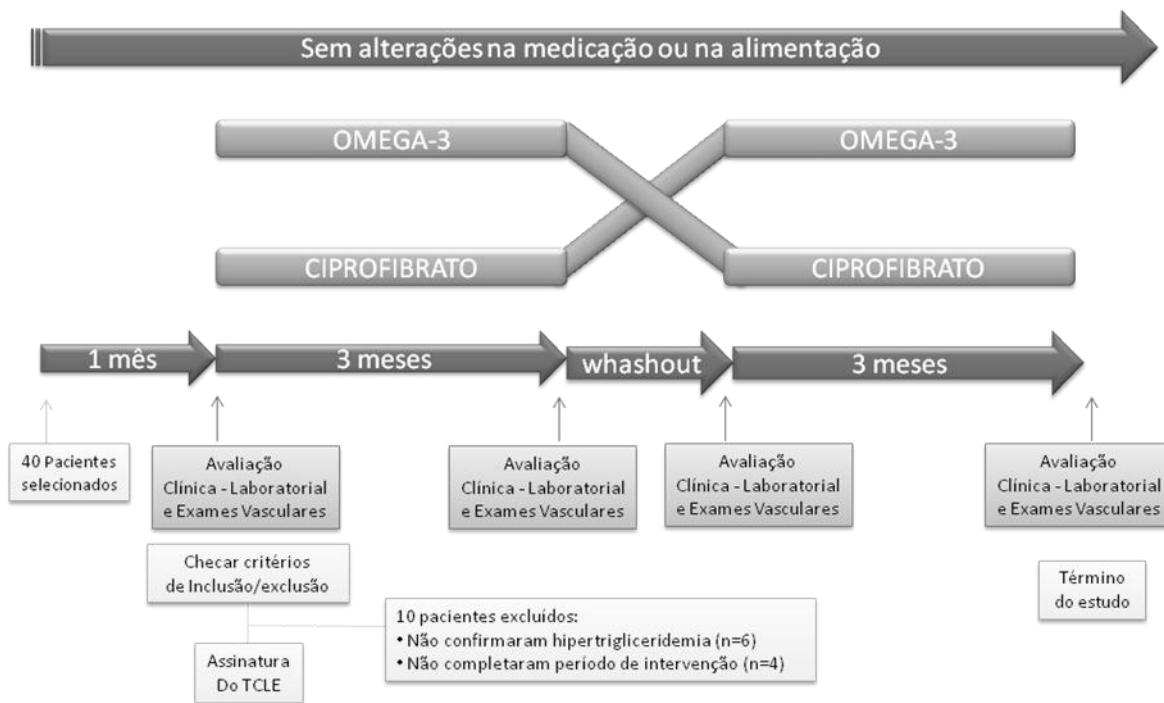
Os pacientes foram randomizados para tratamento ativo com 100mg/dia de ciprofibrato ou com a suplementação de 6g/dia de óleo de peixe (ou 1800 mg/dia de ácidos graxos ômega 3, totalizando 1080mg de EPA e 720mg de DHA), por 3 meses (Figura 2). O objetivo do tratamento foi reduzir os níveis de triglicerídeos em aproximadamente 20 a 50% em comparação aos níveis basais²¹.

O estudo teve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa local sob o registro 2498/2011 (ANEXO C) e todos os participantes leram e assinaram o termo de consentimento informando previamente à sua participação (APÊNDICE). O protocolo deste estudo foi registrado no *ClinicalTrials* sob o número NCT01480687 (ANEXO D).

Para o cálculo do tamanho da amostra e para a análise estatística foi utilizado o módulo *Sample Power* do software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 18 para Windows (SPSS, Chicago, IL). Levando-se em consideração de que as médias populacionais para o grupo ciprofibrato e para o grupo suplementado com ácidos graxos ômega-3 serão iguais, adotando como critério de significância (alfa) de 0,05, o tamanho amostral proposto foi de 26 pacientes hipertensos para cada grupo. O poder de significância estatística foi de 80,7% e a precisão foi de mais ou menos 5,53 pontos (95,0% de confiança). Este cálculo pressupõe que a diferença média é de -8,0 (IC 4,0 – 12,0) e o desvio-padrão comum dentro do grupo é de 10,0.

Com o intuito de atingir os objetivos descritos anteriormente, foi desenvolvido um ensaio clínico cuja metodologia e os principais resultados foram a base para dois artigos científicos submetidos a periódicos indexados e transcritos a seguir.

Figura 2 - Fluxograma do desenho do estudo



3.1 Artigo 1 – Gender differences in the treatment of hypertriglyceridemia with ciprofibrate and omega-3 fatty acids in hypertensive patients

Autores: Marcela de Abreu Casanova, Fernanda Medeiros, Viviane Prangiel Menezes, Michelle Trindade, Marcelo Burlá, Wille Oigman, Mario Fritsch Neves

Submissão para: Journal of Human Hypertension

Abstract

Gender seems have some influence on progression of atherosclerosis. We aimed to evaluate gender differences between two lipid-lowering therapy with ciprofibrate and omega-3 supplementation on the endothelial function and arterial stiffness in hypertensive patients with hypertriglyceridemia. Prospective, randomized and crossover study, in 30 hypertensive adults with triglycerides (TG) levels between 150-499mg/dl, receiving either omega-3 fatty acids capsules (1800mg/day) or ciprofibrate (100mg/day) for 12 weeks. Blood pressure (BP), coronary artery disease (CAD) risk calculation, reactive hyperemia index (RHI), pulse wave velocity (PWV) and central hemodynamic parameters were done at baseline and after each treatment period. The decrease in TG levels was higher in men (-90mg/dl, $p \leq 0.001$) in both treatments while only treatment with ciprofibrate reduced the level of TG (-100mg/dl, $p \leq 0.001$) in women. Peripheral systolic BP (144 to 133mmHg vs 129 to 123mmHg) and CAD risk (15 to 11% vs 6 to 4%) were significantly reduced after treatment with omega-3 in men and after treatment with ciprofibrate in women, respectively. However, carotid-femoral PWV (10.3 to 9.4m/s, $p < 0.05$) and aortic systolic BP (131 to 123mmHg, $p < 0.05$) were only reduced in men treated with omega-3 whereas women treated with ciprofibrate showed a significant increase in RHI (1.8 to 2.3units) and HDL-C (39 to 44mg/dl). A decrease in TG levels in women occurred only with ciprofibrate treatment and it was associated to an improvement in endothelial function. A decrease in TG levels in hypertensive men receiving treatment with omega-3 resulted in beneficial effects on arterial stiffness, suggesting gender differences in the treatment of hypertriglyceridemia.

Key words: hypertriglyceridemia; hypertension; endothelial function; arterial stiffness; cardiovascular risk.

Introduction

Hypertriglyceridemia has been associated with increased risk of cardiovascular disease and atherosclerosis, and co-exists with other conditions, including central obesity, increased fasting glucose and hypertension.¹ The independent and causal relationship between triglycerides (TG) levels and coronary artery disease (CAD) is controversial but it has been identified in case-control and prospective population-based cohort studies¹, and its effects on vascular function are still unclear.

Current evidences report that hypertriglyceridemia is usually accompanied by low levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), high levels of chylomicron, TG-rich lipoproteins and small particles of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C). These effects seem to be more important for vascular biology than isolated TG levels thus inducing atherosclerosis. In addition, underlying diseases could lead to defects in TG metabolism.

Gender seems to exert some influence on lipid profile and the incidence of cardiovascular events. Meta-analyses of observational studies including 46413 men and 10864 women have suggested that a 89 mg/dl elevation in TG is associated with approximately 30% increased risk in men and 75% increase in women of cardiovascular disease independent of HDL-C.² In general, men show higher TG levels compared to women, and it is believed that there is a prospective increase of TG levels during middle age (between 40 and 69 years-old) in women that is not apparent in men.³ It has been suggested that gender-specific differences and interactions of TG with other lipid fractions should also be considered when evaluating the contribution of TG-rich lipoproteins to atherosclerosis progression.

The decision to start any pharmacologic therapy for patients with TG levels between 150 to 499mg/dl should be assessed individually based on cardiovascular risk.¹ Intervention trials using fish oil supplementation high omega-3 fatty acids and fibrates have been reported to improve endothelial function in patients with acute myocardial infarction⁴, in adults with metabolic syndrome⁵ and in type 2 diabetes mellitus patients.⁶ However, little is currently known about whether improvements vascular function in hypertriglyceridemic hypertensive patients receiving active treatment. Thus, the aim of this study was to evaluate the gender differences in effects of ciprofibrate and omega-3 supplementation on endothelial function and arterial stiffness in hypertensive patients with hypertriglyceridemia.

Subjects and Methods

Study design and subjects

Patients were consecutively recruited from the outpatient clinic from the University Hospital Pedro Ernesto, State University of Rio de Janeiro in a randomized, controlled and prospective clinical study. Study population consists of hypertensive volunteers, postmenopausal women, on stable anti-hypertensive drug therapy over at least 4 weeks, with no professional dietary advice in the last 6 months, both genders, aged 40 - 65 years-old, with plasma levels of TG between 150 and 499 mg/dL. Patients were excluded from the study if they had diabetes mellitus, renal dysfunction, heart failure or CAD clinically evident, severe dyslipidemia (LDL-C \geq 159mg/dl and/or TG \geq 500mg/dl) or using of statin lipid-lowering medications and abuse of alcohol intake in the last 6 months and other chemical dependence. Written informed consent was obtained from all participants and the local Ethics Committee Research (2948/2011-CEP/HUPE) approved the study protocol. This study was registered in Clinicaltrials.gov (NCT01480687).

Intervention

Patients were randomized to receive active treatment with 1800mg/day of omega-3 fatty acids capsules (60% eicosapentaenoic acid and 40% docosahexaenoic acid) or 100 mg/day ciprofibrate for 12 weeks. A 8-week washout period followed the 12-week treatment phase. The aim of active treatment was to reduce plasma TG levels around 30% compared to baseline levels.⁷

Nutritional assessment

Height and weight were obtained using an electronic balance with a stadiometer, and BMI was calculated as body weight (in kg) divided by squared height (in meters). Waist circumference was measured at the midpoint between the lower rib margin and anterior superior iliac crest and hip circumference was measured at the maximum protuberance. In adults, abdominal obesity was defined as waist circumference at least 102 cm in men and at least 88 cm in women.

Blood Pressure measurement

Brachial blood pressure (BP) and heart rate were measured with an electronic device (Omron HEM-705CP) in individuals being at resting conditions for at least five minutes, and

values used for statistical analysis represent the mean of three consecutive measurements performed during the visit. Antihypertensive drugs in use were asked and registered.

Laboratory analysis

Venous blood samples were collected after 12-h fasting. Serum lipids (total cholesterol, HDL-C, TG and blood glucose were measured with an autoanalyzer technique (Technicon DAX96, Miles Inc). LDL-C concentrations were calculated using Friedewald equation, when TG concentrations < 400 mg/dl. The immunoassay kit was used for determination of serum insulin. In addition, two indirect indexes were calculated to quantify insulin resistance and beta-cell function using the formula previously described⁸: the homeostatic model assessment (HOMA)-IR=insulin (μ U/l) \times [glucose (mmol/l)/22.5], and HOMA- β = insulin (μ U/l) \times 20 / [glucose (mmol/l) - 3.5].

Coronary artery disease risk and vascular age assessment

CAD risk was estimated in all patients. This tool is designed for adults aged 20 years-old or older who do not have heart disease or diabetes. The risk was calculated using the patient's age, gender, total cholesterol, HDL-C, systolic BP and BP lowering medication. Vascular age was estimated after general cardiovascular risk calculation using a conversion table based on 10-year risk prediction for atherosclerotic cardiovascular disease, defined as coronary disease, nonfatal myocardial infarction and fatal or nonfatal stroke, based on data from multiple community-based populations and are applicable to men and women, aged 40 to 79 years-old. The predictors used in this estimation were age, sex, race, total cholesterol, HDL-C, systolic BP, use of BP lowering medication, diabetes, and smoking status.^{4,9}

Flow mediated dilation in brachial artery

Flow mediated dilation (FMD) was assessed as a measure of endothelial function. The participant was positioned supine with the arm in a comfortable position, and the brachial artery was imaged above the antecubital fossa. After 10 min rest, the right brachial artery was scanned in longitudinal section, 5 cm above the antecubital fossa, using a linear array transducer and a baseline diameter of the brachial artery was acquired. A cuff was then inflated to at least 50 mmHg above systolic BP and deflated after 5 minutes to induce reactive hyperemia. The flow increase was documented from a pulse wave Doppler recording in the artery lumen and maximal diameter 30s, 60s and 90s after cuff release recorded. FMD was calculated as the percentage change of brachial artery diameter from baseline.

Peripheral Arterial Tonometry

Endothelial function was also assessed by peripheral arterial tonometry (PAT) using the Endo-PAT2000 device (Itamar Medical Ltd., Israel). PAT is a noninvasive technique, to assess peripheral microvascular endothelial function by measuring changes in digital arterial pulse volume during reactive hyperemia.¹⁰ Probes were placed on index finger of each hand, and a BP cuff was placed in the nondominant arm (study arm), while the contralateral arm was used as control. Continuous recording of pulsatile blood volume responses from both hands was initiated. After a 10-min period, the BP cuff on the study arm was inflated in 60 mmHg above measured systolic pressure. Changes in arterial tone were elicited by a standard 5 min occlusion of the brachial artery. Thus, cuff was deflated to induce reactive hyperemia, while PAT recording was continued. A computer analyzed reactive hyperemia index (RHI) in an operator-independent manner.

Central hemodynamic parameters

Applanation tonometry was performed with the SphygmoCor system (Atcor Medical, Sydney, Australia) with the patient in the sitting position, resting the arm on a rigid surface, and a sensor in the radial artery. Augmentation pressure (AP) was defined as the difference between the late and the early peak in BP. The central augmentation index (AIx) was defined as the ratio between augmentation pressure and pulse pressure, according to the formula: AIx = (AP/pulse pressure) × 100. AIx was collected by placing the SphygmoCor tonometer over the right radial artery. The device analyzes pulse waves using a generalized transfer function validated in a catheterization laboratory to calculate a central aortic pressure wave. AIx was derived from the central pressure waveform by calculating the difference between the main outgoing wave and the reflected wave of the central arterial waveform, expressed as a percentage of the central PP.

Pulse Wave Velocity

After 10 min of supine rest, carotid femoral pulse wave velocity (PWV) was then measured twice by trained operators and the mean of the two consecutive measurements performed were used for statistical analysis. The distances between the sternoclavicular joint and the radial pulse and the sternal notch to the femoral pulse were measured. Carotid–femoral PWV and carotid–radial PWV were determined using the Complior device (Artech-Medical, Pantin, France), which records PWV (calculated as the distance between recording sites measured over the surface of the body, divided by the time interval between the feet of

the pressure waves, m/s) as an index of arterial elasticity. Caffeine ingestion and cigarette smoking were not permitted during the previous 2 hours of all vascular tests.

Sample size calculation and statistical analyses

Data were expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM). Continuous variables obtained at baseline and at the end of the study were compared using paired t-test with confidence interval of 95%. Pearson coefficient was obtained in the correlation tests between continuous variables. The statistical tests were 2-tailed, the study power has been set to 80% and the criterion for significance (alpha) at 0.050, resulting in a proposed sample size of 26 individuals for each group. All statistical analyses were performed using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Chicago, IL) software version 18.

Results

From the initial 40 selected individuals, 7 patients did not have diagnosis of hypertriglyceridemia confirmed at baseline moment and three patients failed to complete the intervention period. Thus, 30 individuals (60% male and 40% female) with mean age 54 years were included in this study.

Concerning antihypertensive therapy, patients were in use of thiazide diuretics (100% vs 50%), angiotensin II receptor blocker (58% vs 33%), angiotensin converting enzyme inhibitor (33% vs 39%), and calcium channel blocker (8% vs 44%), in women and men, respectively.

Clinical and biochemical parameters are shown in Table 1. The decrease of TG levels was more pronounced in the male gender (-90mg/dl, $p \leq 0.001$) to both treatments while in women only treatment with ciprofibrate resulted in decreased TG levels (-100mg/dl, $p \leq 0.001$). Men (n=18) treated with omega-3 presented a significant decrease in the CAD risk (15 to 11%, $p < 0.01$), vascular age (74 to 70 years, $p < 0.05$), systolic BP (144 to 133 mmHg, $p < 0.01$), total cholesterol (214 to 199 mg/dl, $p < 0.05$) and TG/HDL ratio (7.1 to 4.1, $p < 0.01$) that was not observed in women undergoing the same treatment. Women (n=12) treated with ciprofibrate showed a significant increase in the HDL-C levels (39 to 44 mg/dl, $p < 0.05$) with decrease in CAD risk (6 to 4, $p < 0.05$), vascular age (77 to 68, $p < 0.01$), systolic BP (129 to 123 mmHg, $p < 0.05$), total cholesterol (230 to 193 mg/dl, $p < 0.05$) and TG/HDL ratio (7.0 to 4.2, $p < 0.001$), compared to men undergoing the same treatment. No changes were observed in waist circumference, BMI, glucose and LDL-C in women and male for both treatment.

Endothelial function, arterial stiffness and central hemodynamic parameters are shown in Table 2. The significant decrease in carotid-femoral PWV (10.3 to 9.4 m/s, $p<0.05$) and aortic systolic BP (131 to 123 mmHg, $p<0.05$) were observed in men treated with omega-3 while women treated with ciprofibrate demonstrated a significant increase in RHI (1.8 to 2.3 units, $p<0.05$) and non-significant in FMD (8.5 to 13.4%, $p>0.05$).

In male patients treated with omega-3, Δ TG was positively correlated with Δ systolic BP ($r=0.55$, $p<0.05$, Figure 1A) and Δ aortic SBP ($r=0.48$, $p<0.05$, Figure 1B). On the other hand, men treated with ciprofibrate presented a significant correlation of Δ TG with Δ CAD ($r=0.61$, $p<0.05$, Figure 1C) and with post-treatment carotid-femoral PWV ($r=0.55$, $p<0.05$, Figure 1D). There was no significant correlation in women treated with omega-3 or ciprofibrate. In addition, there was not correlation between Δ TG and Δ HDL-C levels in women and male for both treatment.

Discussion

In this randomized clinical trial, beneficial effects by reducing serum TG with ciprofibrate and omega-3 supplementation were different between hypertensive men and women, particularly on central systolic BP, endothelial function and arterial stiffness after 12 weeks of active treatment.

Data from a recent meta-analysis and systematic review indicate a strong association between hypertriglyceridemia and cardiovascular mortality in women.⁶ Gender specific differences with high levels of TG and low levels of HDL-C, a lipid profile more seen in men, have been suggested to be important for the progression of atherosclerosis and for the incidence of CAD.³ In our study population, there was a decrease in CAD risk after 12 weeks of intervention, especially in men treated with omega-3, when reductions in TG levels was directly correlated with lowering CAD risk. Furthermore, we observed a decrease in vascular age after the reduction of TG levels in men and women treated with omega-3 and ciprofibrate, respectively.

In this study, there were no change in waist circumference, fasting glucose and LDL-C after intervention, which is consistent with other studies.^{11,12} The NHANES study from 1999 to 2004 reported that approximately 83% of individuals with TG ≥ 200 mg/dl were classified as overweight or obese.¹³ Fat excess associated with high levels of TG can lead to the storage of TG in subcutaneous fat and in the deposition of ectopic fat in skeletal muscle, liver and myocardium, which can result in insulin resistance.^{14,15}

The combination between anti-hypertensive and lipid-lowering drugs may have synergic effect to reduce BP. In patients with high levels of TG, the therapy with benzafibrate significantly decreased systolic BP from 137 to 132 mmHg and diastolic BP from 81 to 79 mmHg.¹⁶ Our results show that the treatment to reduce high levels of TG was only able to lower systolic BP, decreasing 11 mmHg in men after using omega-3 supplementation and 6 mmHg in women after using ciprofibrate. In addition, there was a significant decrease in aortic systolic BP only in male, after both treatments. The possible mechanisms to explain this finding are not well known.

Traditional cardiovascular risk factors, as hypertension and dyslipidemia, including high levels of TG and low levels of HDL-C, have been associated with higher arterial stiffness when it is evaluated by carotid-femoral PWV.¹⁷⁻¹⁹ In our study, only men treated with omega-3 presented improvement in arterial stiffness. It has been proposed that the value of RHI of 1.67 in peripheral artery tonometry would represent coronary endothelial dysfunction²⁰ and RHI between 1.67 and 2.07 means that there is a chance to develop endothelial dysfunction in the near future. Considering the cut-off point of 2.07 our subjects present borderline values for endothelial dysfunction. However, there are a few evidences to support this cut-off point for risk stratification.²¹

Importantly, we showed a decrease in TG levels and an improvement in the parameters of endothelial function in women treated with ciprofibrate. This suggests that the reduction in TG levels was able to improve the vasodilator response in women, and it could be beneficial for the cardiovascular risk in hypertensive treated patients. In contrast, a recent clinical study showed that RHI did not change in healthy adults with moderate hypertriglyceridemia (150-500mg/dl) after treatment with omega-3, compared to placebo after eight weeks.²² On the other hand, a treatment with omega-3 during 12 weeks improved RHI values in obese adolescents.²³ The authors explain that a short time intervention would be sufficient to demonstrate functional vascular changes while structural changes are only observed in long term interventions further than three weeks.²³

Our study has some limitations. Although our sample size can be considered small, the total number of participants was higher than estimated by the sample calculation, which reinforces the internal validity. This study does not provide evidence on the impact of long-term treatment of hypertriglyceridemia regarding to vascular function. Therefore, further studies are needed to evaluate the chronic effects and to examine the different mechanisms between genders related to the improvement in endothelial function and arterial stiffness. In addition, this study was not designed to compare the effects of drug therapy on the levels of

TG, but to check whether the genders difference in lowering TG levels would impact the vascular structure and function.

In conclusion, triglycerides levels decrease in women occurred only with ciprofibrate treatment and were associated to endothelial function improvement and cardiovascular risk reduction. Decrease in triglycerides levels in hypertensive men under omega-3 treatment resulted in beneficial effects on central blood pressure and arterial stiffness, suggesting gender differences in the treatment of hypertriglyceridemia.

Summary table

What is known about this topic?

- Gender seems to exert some influence on lipid profile and progression of atherosclerosis.
- The independent and causal relationship between triglycerides levels and coronary heart disease risk is controversial.

What this study adds?

- Treatment for hypertriglyceridemia contributed to reduce coronary heart disease risk and to decrease systolic blood pressure levels in both genders.
- Omega-3 fatty acids supplementation seems to have greater benefits on arterial stiffness in men while treatment with ciprofibrate contributed to a greater endothelium-dependent vasodilation response in postmenopausal women, suggesting that therapeutic interventions have different responses between genders.

Acknowledgments

We thank Claudia Deolinda Lopes Alves Madureira for her technical assistance.

References

1. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN et al. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2011; 123(20): 2292-333.
2. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk*. 1996; 3: 213–219.

3. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Damaskos DS, Bilianou HI, Mihas C, Milionis HJ et al. Gender differences in the lipid profile of dyslipidemic subjects. *Eur J Intern Med* 2009; 20(2): 145-51.
4. D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008; 117(6): 743-53.
5. Tousoulis D, Plastiras A, Siasos G, Oikonomou E, Verveniotis A, Kokkou E et al. Fish oil PUFAs improved endothelial function and arterial stiffness with a parallel antiinflammatory effect in adults with metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2014; 232(1): 10-6.
6. Murad MH, Hazem A, Coto-Yglesias F, Dzyubak S, Gupta S, Bancos I et al. The association of hypertriglyceridemia with cardiovascular events and pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Endocr Disord* 2012, 12:2.
7. Berglund L, Brunzell JD, Goldberg AC, Goldberg II, Sacks F, Murad MH et al. Evaluation and treatment of hypertriglyceridemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(9):2969-89.
8. Matthews D, Hosker J, Rudenski A, Naylor B, Teacher D, Turner R. Homeostasis model assessment: insulin resistance and b cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-9.
9. Goff DC, Lloyd-Jones DM, Bennett G, Coady S, D'Agostino RB, Gibbons R et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Assessment of Cardiovascular Risk: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2013.
10. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(2):168-75.
11. Koh KK, Quon MJ, Shin KC, Lim S, Lee Y, Sakuma I et al. Significant differential effects of fish oil fatty acids and fenofibrate in patients with hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis* 2012; 220(2):537-44.
12. Goyal P, Igel LI, LaScalea K, Borden WB. Cardiometabolic impact of non-statin lipid lowering therapies. *Curr Atheroscler Rep* 2014;16(2):390.
13. Ford ES, Li C, Zhao G, Pearson WS, Mokdad AH. Hypertriglyceridemia and its pharmacologic treatment among US adults. *Arch Intern Med* 2009; 169(6):572-8.

14. Despres JP, Lemieux I, Bergeron J, Pibarot P, Mathieu P, Larose E et al. Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution to global cardiometabolic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(6):1039-49.
15. Rosito GA, Massaro JM, Hoffmann U, Ruberg FL, Mahabadi AA, Vasan RS et al. Pericardial fat, visceral abdominal fat, cardiovascular disease risk factors, and vascular calcification in a community-based sample: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008; 117(5):605-13.
16. Ionkers IJ, Man FH, Van der Laarse A, Frolich M, Gevers Leuven JA, Kamper AM et al. Bezafibrate reduces heart rate and blood pressure in patients with hypertriglyceridemia. *J Hypertens* 2001; 19(4):749-55.
17. Gungor N, Thompson T, Sutton-Tyrrell K, Janosky J, Arslanian S. Early signs of cardiovascular disease in youth with obesity and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28(5):1219-21.
18. Riggio S, Mandraffino G, Sardo MA, Iudicello R, Camarda N, Imbalzano E et al. Pulse wave velocity and augmentation index, but not intima-media thickness, are early indicators of vascular damage in hypercholesterolemic children. *Eur J Clin Invest* 2010; 40(3):250-7.
19. Sakuragi S, Abhayaratna K, Gravenmaker KJ, O'Reilly C, Srikanthanukul W, Budge MM et al. Influence of adiposity and physical activity on arterial stiffness in healthy children: the lifestyle of our kids study. *Hypertension* 2009; 53(4):611-6.
20. Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes DR, Kuvvin JT, Lerman A. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44(11):2137-41.
21. Spark JI, Delaney CL, Allan RB, Ho MH, Miller MD. Can fish oil supplementation improve endothelial function in asymptomatic offspring of patients with peripheral arterial disease? *Open Access Journal of Clinical Trials* 2013;5:83-91.
22. Skulas-Ray AC, Kris-Etherton PM, Harris WS, Vanden Heuvel JP, Wagner PR, West SG. Dose-response effects of fish oil fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia. *Am J Clin Nutr* 2011; 93(2):243-52.
23. Dangardt F, Osika W, Chen Y, Nilsson U, Gan LM, Gronowitz E et al. Fish oil fatty acid supplementation improves vascular function and reduces inflammation in obese adolescents. *Atherosclerosis* 2010; 212(2):580-5.

Table 1. Clinical and laboratory data in baseline and after 12 weeks treatment of hypertriglyceridemia with omega-3 and ciprofibrate in male and female groups.

Parameter	Male (n=18)				Female (n=12)			
	Omega-3 group		Ciprofibrate group		Omega-3 group		Ciprofibrate group	
	Baseline	3-Month	Baseline	3-Month	Baseline	3-Month	Baseline	3-Month
BMI, Kg/m ²	29±1	29±1	29±1	29±1	28±1	28±1	28±1	29±1
Waist, cm	103±2	103±2	103±2	102±2	97±4	97±4	98±4	98±3
CAD risk, %	15±2	11±1**	13±2	12±2	6±2	7±2	6±2	4±2*
Vascular age, years	74±3	70±3*	72±3	69±4	75±3	73±4	77±3	68±4**
SBP, mmHg	144±4	133±4**	138±3	135±3	130±3	130±6	129±3	123±2*
DBP, mmHg	84±3	79±2	82±3	79±2	82±3	82±4	82±2	76±2
Glucose, mg/dl	95±2	96±3	89±3	88±2	95±4	97±9	93±3	94±5
Insulin, µU/l	15.1±1.9	15.4±2.5	16.8±1.2	15.4±2.7	7.9±1.4	12.8±3.1	8.6±1.6	11.8±3.2
HOMA IR	3.5±0.5	3.6±0.6	3.8±0.9	3.4±0.6	2.0±0.4	3.5±1.2	2.0±0.4	2.8±0.8
HOMA β	54.1±7.3	55.2±10.6	64.2±18.1	59.5±11.3	25.3±4.8	41.9±10.1	29.3±5.7	41.4±11.9
TC, mg/dl	214±10	199±8*	203±9	190±10	209±10	220±13	230±9	193±9*
HDL-C, mg/dl	39±3	44±4	40±3	42±4	36±2	39±3	39±2	44±3*
LDL-C, mg/dl	127±11	125±6	118±8	117±9	126±8	134±10	145±9	123±9
TG, mg/dl	243±15	153±12***	236±16	146±19***	275±34	272±45	264±26	164±29***
TG/HDL	7.1±0.8	4.1±0.5**	6.3±0.7	4.8±1.3	7.9±1.1	7.6±1.4	7.0±0.9	4.2±1.1***

Data are expressed as mean ± SEM. Abbreviations: BMI, body mass index; CAD, coronary artery disease; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HOMA, homeostasis model assessment; TC, total cholesterol; HDL, high density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; TG, triglycerides. For comparison between baseline and 3-month period: *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001.

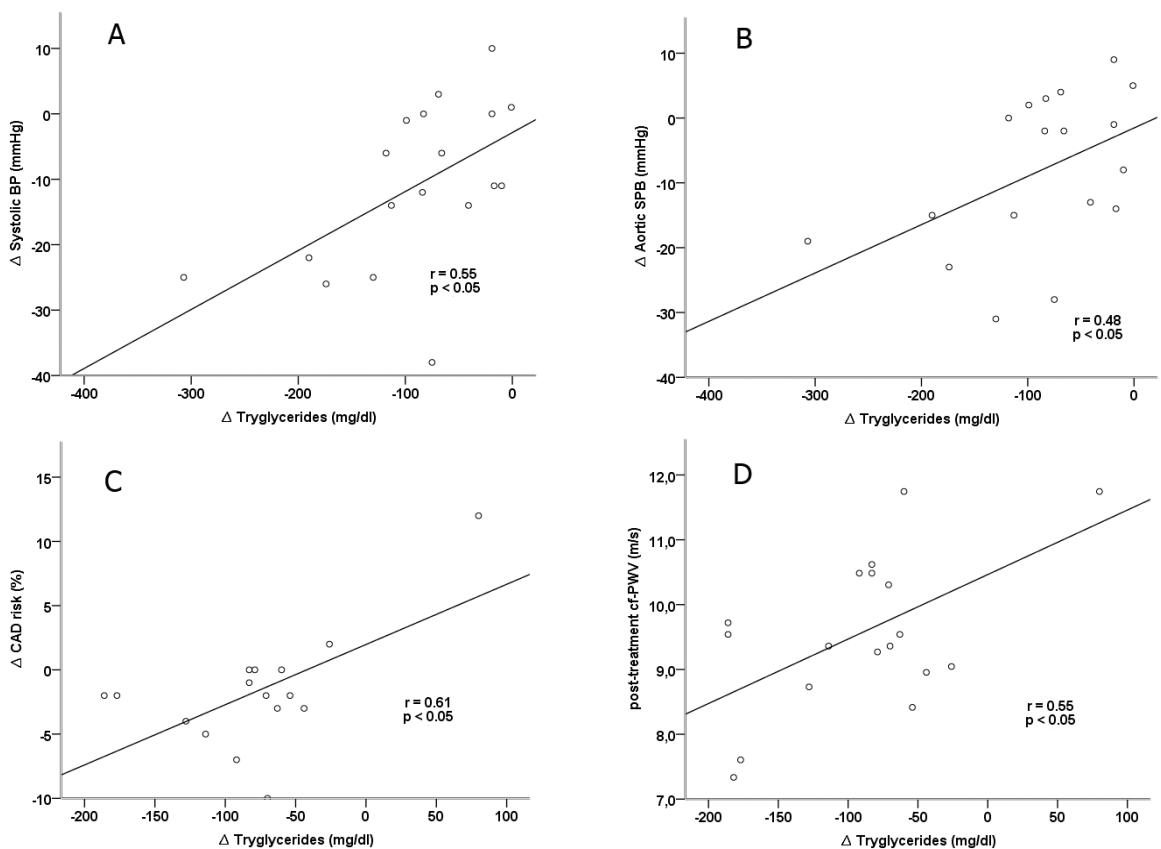
Table 2. Endothelium and vascular function data in baseline and after 12 weeks treatment of hypertriglyceridemia with omega-3 and ciprofibrate in male and female groups.

Parameter	Male (n=18)				Female (n=12)			
	Omega-3 group		Ciprofibrate group		Omega-3 group		Ciprofibrate group	
	Baseline	3-Month	Baseline	3-Month	Baseline	3-Month	Baseline	3-Month
cf-PWV, m/s	10.3±0.5	9.4±0.4*	9.6±0.4	9.5±0.3	8.6±0.4	8.6±0.4	8.8±0.5	8.9±0.6
cr-PWV, m/s	10.8±0.4	10.5±0.3	10.6±0.4	10.5±0.3	9.8±0.2	9.5±0.2	9.9±0.3	9.6±0.3
AP, mmHg	12±1	11±1	12±1	12±2	16±1	16±2	14±2	14±1
Aix, %	25±2	27±1	26±2	26±2	37±2	35±4	35±4	34±2
Aortic SBP, mmHg	131±4	123±3*	129±3	124±3*	124±3	123±6	122±3	117±2
Aortic PP, mmHg	45±3	42±2	44±2	43±3	45±5	40±4	39±3	39±3
FMD, %	11.1±1.4	9.4±0.8	8.8±1.2	8.7±1.3	9.9±1.9	12.6±1.1	8.5±1.7	13.4±4.0
RHI, units	1.9±0.2	2.0±0.2	2.0±0.1	2.1±0.1	1.9±0.2	2.1±0.3	1.8±0.1	2.3±0.1*

Data are expressed as mean ± SEM. Abbreviations: cf-PWV, carotid-femoral pulse wave velocity; cr-PWV, carotid-radial pulse wave velocity; AP: augmentation pressure; Aix: augmentation index; SBP, systolic blood pressure; PP, pulse pressure; FMD, flow mediated dilation; RHI, reactive hyperemia index. For comparison between baseline and 3-month period: *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001.

Figure legend

Figure 1. Linear correlation of the changes (Δ) in triglycerides with systolic blood pressure (SBP) changes (A), aortic SBP changes (B), coronary artery disease (CAD) risk changes (C) and post-treatment carotid-femoral pulse wave velocity (cf-PWV) (D) in hypertensive men.



3.2 Artigo 2 – Omega-3 fatty acids supplementation improves endothelial function and arterial stiffness in hypertensive patients with hypertriglyceridemia and high cardiovascular risk

Autores: Marcela A. Casanova, Fernanda Medeiros, Michelle Trindade, Célia Cohen, Wille Oigman, Mario Fritsch Neves

Submissão para: Journal of the American Society of Hypertension

Abstract

Association between hypertriglyceridemia and cardiovascular (CV) disease is still controversial. The purpose of this study was to compare omega-3 and ciprofibrate effects on the vascular structure and function in low and high CV risk hypertensive patients with hypertriglyceridemia. Twenty-nine adults with triglycerides 150-499mg/dl were divided into low (<7.5%) and high ($\geq 7.5\%$) CV risk, randomized to receive omega-3 fatty acids 1800mg/day or ciprofibrate 100mg/day for 12 weeks. Treatment was switched after 8-week washout. Clinical evaluation and vascular tests were assessed at baseline and after intervention. Peripheral (131 \pm 3 to 125 \pm 3mmHg, p<0.05) and aortic (124 \pm 3 to 118 \pm 2mg/dl, p<0.05) systolic BP were decreased by ciprofibrate in low-risk patients. In high-risk patients, pulse wave velocity was reduced (10.4 \pm 0.4 to 9.4 \pm 0.3m/s, p<0.05) and flow-mediated dilation was increased (11.1 \pm 1.6 to 13.5 \pm 1.2%, p<0.05) by omega-3. In conclusion, omega-3 improved arterial stiffness and endothelial function, pointing out the beneficial effect of this therapy on vascular aging, in high-risk patients.

Key words: hypertriglyceridemia; hypertension; arterial stiffness; cardiovascular risk; omega-3 fatty acids; ciprofibrate.

Introduction

Elevated triglycerides (TG) levels can promote atherogenesis by increasing total cholesterol (TC) levels, low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and reducing high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels. Such condition could be explained in part by increasing the conversion of very low density lipoprotein (VLDL-C) in LDL-C inducing a procoagulant state.[1] Besides that, hypertriglyceridemia has been associated with endothelial dysfunction and inflammation [2], and it could have an impact on arterial stiffness.

Pulse wave velocity (PWV) is the gold standard method to measure arterial stiffness [3] and it is considered a good indicator of vascular injury. It expresses the relationship between arterial stiffness, elasticity and compliance, and it can easily be applied to evaluate cardiovascular (CV) risk. Furthermore, the correlation between PWV and dyslipidemia in hypertensive and non-hypertensive individuals suggests that this method could be a marker of atherosclerosis associated to increased arterial stiffness.[4]

The decision to start any pharmacologic therapy for patients with TG levels between 150 to 499mg/dl should be assessed individually based on CV risk.[5] Intervention trials using omega-3 supplementation and fibrates reported an improvement in endothelial function in patients with acute myocardial infarction [6], in adults with metabolic syndrome [7] and in type 2 diabetes.[8] Moreover, prospective randomized studies have shown that short-term treatment with omega-3 fatty acids has not been associated with a significant reduction in arterial PWV in a predominant latin hypertensive population.[9] Thus, the aim of this study was to compare the effects of omega-3 fatty acids and ciprofibrate on the vascular structure and function in hypertensive patients with hypertriglyceridemia at low and high CV risk.

Materials and Methods

Study population and design

Patients were consecutively recruited from the outpatient clinic at our institution in a randomized, controlled, crossover and prospective clinical study. The study population consisted of hypertensive patients, both genders, aged 40-65 years-old, on stable anti-hypertensive drug therapy over at least 4 weeks, with plasma TG levels between 150 and 499 mg/dl and no professional dietary advice in the last 6 months. These patients were divided according to the estimated 10-year risks for atherosclerotic CV disease into low (<7.5%, n=13) and high ($\geq 7.5\%$, n=16) CV risk.[10] Exclusion criteria were diabetes mellitus, renal dysfunction, heart failure or coronary artery disease clinically evident, severe dyslipidemia

(LDL-C \geq 160mg/dl and/or TG \geq 500mg/dl), use of statin or alcohol abuse in the last 6 months. The local Ethics Committee Research approved the study protocol (2948/2011-CEP/HUPE), and all participants read and signed the informed consent. This study was registered in Clinicaltrials.gov (NCT01480687). The study design is shown in Figure 1.

Intervention

Patients were randomized to receive active treatment with omega-3 supplementation 1800mg/day (60%EPA and 40%DHA) or ciprofibrate 100mg/day for 12 weeks. A 8-week washout period followed the 12-week treatment phase and then the patients switched the treatment protocol. The aim of the active treatment was to reduce plasma TG levels around 20% to 50% compared to baseline levels.[11]

Nutritional assessment

Height and weight were obtained using an electronic scale with a stadiometer, and body mass index (BMI) was calculated as body weight (kg) divided by the square of height (m). Waist circumference was measured at the midpoint between the lower rib margin and anterior superior iliac crest, and hip circumference was measured at the maximum protuberance.

Blood Pressure measurement

Brachial blood pressure (BP) and heart rate were measured with an electronic device (Omron HEM-705CP) in individuals at resting conditions for at least five minutes, and the values used for statistical analysis represented the mean of three consecutive measurements performed during the visit. Use of antihypertensive drugs were asked and registered.

Biochemical analysis

Fasting venous blood was collected to measure TC, HDL-C, TG and glucose with an autoanalyzer (Technicon DAX96, Miles Inc). LDL-C concentrations were calculated by the Friedewald´s formula, when TG concentrations were below 400 mg/dl. Non-HDL cholesterol was calculated by subtracting the HDL-C from the TC levels. Biochemical assays for creatinine and creatine phosphokinase were performed in all subjects. Serum insulin was determinate by immunoassay. In addition, two indirect indexes were calculated to quantify insulin resistance and beta-cell function using the formula previously described [12]:

the homeostatic model assessment (HOMA)-IR = insulin ($\mu\text{U/l}$) \times [glucose (mmol/l)/22.5], and HOMA- β = insulin ($\mu\text{U/l}$) \times 20 / [glucose (mmol/l) - 3.5].

Cardiovascular risk assessment

The calculation of 10-year primary risk for atherosclerotic CV disease uses the Pooled Cohort Equations among patients without pre-existing CV disease who are between 40 and 79 years according to the new ACC/AHA guidelines.[10] Patients are considered to be at high risk if the Pooled Cohort Equations predicted risk is $\geq 7.5\%$. The predictors used in this estimation were age, gender, race, TC, HDL-C, systolic BP, use of BP lowering medication, diabetes, and smoking status.[10] Vascular age was estimated using a conversion table based on the 10-year risk prediction for general CV disease.[6]

Brachial artery flow mediated dilation

Flow mediated dilation (FMD) was assessed as a measure of endothelial function. The participant was positioned in supine position with the arm in a comfortable position, and the brachial artery was imaged above the antecubital fossa. After 10 min of resting, the right brachial artery was scanned in the longitudinal section, 5 cm above the antecubital fossa, using a linear array transducer and a baseline diameter of the brachial artery was acquired. A cuff was then inflated to at least 50 mmHg above systolic BP and deflated after 5 minutes to induce reactive hyperemia. The flow increase was documented from a pulse wave Doppler recording in the artery lumen and maximal diameter after cuff release were recorded. FMD was calculated as the percentage change of brachial artery diameter from baseline.

Peripheral Arterial Tonometry

Endothelial function was also assessed by Peripheral Arterial Tonometry (PAT) using the Endo-PAT2000 device (Itamar Medical Ltd., Israel). PAT is a noninvasive technique that assesses peripheral microvascular endothelial function by measuring changes in digital arterial pulse volume during reactive hyperemia.[13] Probes were placed on the index finger of each hand, and a BP cuff was placed in the non-dominant arm (study arm), while the contralateral arm was used as control. Continuous recording of pulsatile blood volume responses from both hands was initiated. After a 10-min period, the BP cuff on the study arm was inflated in 60 mmHg above the measured systolic pressure. Changes in arterial tone were elicited by a standard 5 min occlusion of the brachial artery. Then, the cuff was deflated to

induce reactive hyperemia, while PAT recording continued. A computer program analyzed the reactive hyperemia index (RHI) in an operator-independent manner.

Central hemodynamic parameters

Applanation tonometry was performed with the SphygmoCor system (Atcor Medical, Sydney, Australia) with the patient in the sitting position, resting the arm on a rigid surface, with a sensor in the radial artery. Augmentation pressure (AP) was defined as the difference between the late and the early peak in BP. The central augmentation index (AIx) was defined as the ratio between augmentation pressure and pulse pressure, according to the formula: AIx = (AP/pulse pressure) × 100. AIx was collected by placing the SphygmoCor tonometer over the right radial artery. The device analyzes pulse waves using a generalized transfer function validated in a catheterization laboratory to calculate a central aortic pressure wave. AIx was derived from the central pressure waveform by calculating the difference between the main outgoing wave and the reflected wave of the central arterial waveform, expressed as a percentage of the central pulse pressure.

Pulse Wave Velocity

Patients rested for 10 minutes in supine position in a quiet room with a stable temperature to measure carotid-femoral PWV using a Complior device (Alam Medical, Vincennes, France). Speaking or sleeping was not allowed during the measurements, and no meal, caffeine or smoking was permitted within 3h before the procedure. Pulse wave forms were obtained transcutaneously from the right common carotid artery and femoral artery. Aortic PWV was calculated by dividing the distance travelled by the time travelled. The time travelled was obtained by measuring the time difference between the arrival of the pulse wave at the femoral and carotid arteries. The distance travelled (DT) was estimated as 80% of the direct tape measure distance between carotid and femoral artery. Carotid-femoral PWV was calculated as distance (DT) in meters divided by transit time (TT) in seconds (PWV = DT/TT). The mean of two measurements was calculated and when the difference between them was more than 0.5 m/s, a third measurement was obtained and the median value was considered the final result.

Statistical analyses

Data were expressed as mean ± SEM. Continuous variables obtained at baseline and at the end of the study were compared using paired t-test with confidence interval of 95%. The

final values comparisons between the groups were carried out using independent Student t-test. Categorical variables were compared using Fisher exact test. Pearson coefficient was obtained in the correlation tests between continuous variables. The statistical tests were 2-tailed, the study power has been set at 80% and the criterion for significance (alpha) at 0.05. All statistical analyses were performed using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Chicago, IL) software version 18.

Results

From the initial 40 selected individuals, seven patients did not have the diagnosis of hypertriglyceridemia confirmed at baseline and four patients failed to complete the intervention period. Thus, 29 individuals (45% low CV risk and 55% high CV risk), mean age of 54 years, were included in this study. One patient had gastrointestinal disturbances related to omega-3 consumption but none discontinued the treatment.

The baseline socio-demographics, clinical and anthropometric characteristics are presented in Table 1. The sample was composed predominantly of overweight, non smoking, sedentary adult subjects. Data on antihypertensive therapy showed that the medications more frequently prescribed in low and high CV risk patients were thiazide diuretics and renin-angiotensin system inhibitors.

Both TG-lowering drugs were effective in reducing TG with 39% reduction in the ciprofibrate group and 21% decrease in the omega-3 group. In fact, TG levels reduction was more pronounced in hypertensive patients at low and high CV risk with ciprofibrate treatment (-97mg/dl vs -95mg/dl, respectively) when compared to omega-3 treatment (-59mg/dl vs -55mg/dl, respectively).

Systolic BP (131 to 125 mmHg, p<0.05), diastolic BP (84 to 79 mmHg, p<0.05), aortic systolic BP (124 to 118 mmHg, p<0.05) and TC (204 to 179 mg/dl, p<0.05) decreased in low-risk patients treated with ciprofibrate (Table 2). There were no significant changes in waist circumference, BMI, fasting glucose and HDL-C in both groups.

Only high-risk patients treated with omega-3 showed a significant decrease in carotid-femoral PWV (10.4 to 9.4 m/s, p<0.05). The significant increase in FMD was observed in therapy with omega-3 both in low CV risk (10.1 to 13.5%) and in high CV risk (11.1 to 13.5%) patients, but ciprofibrate was able to significantly increase brachial FMD only in low CV risk patients (8.7 to 14.0%, p<0.05) (Figure 2). No significant RHI difference was observed in hypertensive patients at low and high CV risk for both treatments (Tables 2 and

3). Both therapies were effective in reducing vascular age (82 to 79 years in omega-3 group, and 81 to 76 years in ciprofibrate group, $p<0.05$) in high-risk patients.

Treatment with omega-3 in high-risk patients showed a stronger correlation of Δ CV risk with Δ TG/HDL ($r=0.87$, $p\leq0.001$) and with Δ non-HDL cholesterol ($r=0.81$, $p\leq0.001$) when compared to ciprofibrate group ($r=0.63$, $p<0.01$ and $r=0.67$, $p<0.01$, respectively; Figure 3).

Discussion

In this randomized clinical trial, metabolic and vascular effects of omega-3 fatty acids and ciprofibrate treatment were different between hypertensive hypertriglyceridemic patients with low and high CV risk. Our main results demonstrate an improvement in arterial stiffness and endothelial function after 12-week omega-3 treatment in hypertensive patients with hypertriglyceridemia and high CV risk.

Clinical studies have shown the benefits of omega-3 supplementation in reducing TG [7,14] and peripheral BP levels.[15,16] Nevertheless, the effects of omega-3 on arterial stiffness remain controversial, as the mechanisms of action seem to be influenced by the intervention time.[17] A study of acute intervention using 1 g/day of omega-3 fatty acids compared to placebo performed in 20 healthy subjects showed that active treatment with omega-3 did not affect carotid-femoral PWV and AIx.[18] Our findings highlight a differential role of active treatment for hypertriglyceridemia with omega-3 fatty acids, which may attenuate arterial stiffness in hypertensive patients with high CV risk. As recent evidences have pointed out that carotid-femoral PWV, a direct marker of aortic stiffness [3], has become increasingly important to estimate CV risk [19], the decrease in PWV may be a critical target in the hypertriglyceridemia treatment.

Although still controversial, hypertriglyceridemia has been associated with increased risk for CV disease and atherosclerosis.[20,21] Our study did not find significance in CV risk reduction after 12 weeks of TG-lowering therapy in both low-and high-risk patients but there was a significant decrease in vascular age. Vascular aging is associated with an increase in collagen and calcium deposition that cause a progressive deterioration in vessel elasticity. This leads to functional changes and an increase in arterial stiffness that has detrimental effects on CV outcomes.[22, 23] Our result suggests that vascular age may be a better tool to estimate CV risk in this population.

Although observational studies have shown a positive association between hypertriglyceridemia and coronary mortality [24, 25], the lack of scientific evidence to point out their independent relationship may be explained by the fact that increased TG levels are directly combined with reduced levels of HDL-C. Thus, the atherogenic potential of TG has a special relationship with the changes associated to other plasma lipoproteins and with metabolic processes involved in transport and activity of enzymes and receptors.[26] In addition to changes in lipid profile, it also seems to exist an association between hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia and high BP. Although the causal relationship between these risk factors is not fully understood, the pathophysiological mechanisms involved in the genesis of hypertension and dyslipidemias are directly related to endothelial dysfunction.[27]

Our study showed that the improvement in endothelium-dependent vasodilatory response was achieved with both active treatments in low-risk patients but only with 12-week omega-3 therapy in high-risk patients. Although the exact mechanism has not been fully clarified, the beneficial effects of the omega-3 supplementation on endothelial function seem to result from its ability to incorporate into phospholipid membranes, by partially replacing arachidonic acid as an initial substrate to produce anti-inflammatory eicosanoids, thereby generating a reduction in inflammation, platelet aggregation and vasoconstriction.[7, 28, 29] Multiple randomized controlled trials have examined the CV effects of omega-3 providing conflicting results on endothelial function.[17, 29-31] Treatment with marine omega-3 fatty acids at a dose of 4 g/day resulted in a significant improvement in FMD compared with placebo in subjects with hypercholesterolemia.[32] On the other hand, a double-blind placebo-controlled trial with 97 diabetic patients without prior CV disease demonstrated that the supplementation of fish oil 4 g/day for 12 weeks did not improve vascular function as determined by FMD.[31] Similar findings were observed in healthy individuals with moderate hypertriglyceridemia after comparing dose-responses effects of omega-3 (3.4 g/day and 0.85g/day) on endothelial function evaluated by FMD and EndoPAT.[30]

A few clinical studies have reported a reduction in CV risk associated with decrease in TG levels in individuals treated with drugs derivate from fibric acid, especially with ciprofibrate.[33] This is the first clinical trial showing metabolic and vascular effects of ciprofibrate treatment in hypertensive patients with hypertriglyceridemia compared to omega-3 fatty acids supplementation. Fibrates are one of the chosen therapy for hypertriglyceridemia due to the most pronounced effect on lowering plasma TG levels by increasing lipoprotein lipase activity and hepatic fatty acid oxidation while decreasing apolipoprotein CIII

production and VLDL-C secretion.[21] In this study, 100mg/day of ciprofibrate and 1800mg/day of omega-3 fatty acids decreased TG levels, reaching the anticipated goal.[11] Besides, there were no significant differences in TG levels observed in the end of the treatment with omega-3 and ciprofibrate.

Clinical studies are required to compare the efficacy of different classes of antihypertensive drugs combined with lipid lowering, and to confirm whether lower lipids levels are beneficial when added to BP reduction.[34] Our study showed that only treatment with ciprofibrate had a significant reduction in BP levels in low-risk patients. Despite improvement in endothelial function, omega-3 was not able to significant decrease BP levels in low-risk patients, suggesting other mechanisms for BP lowering by ciprofibrate in this population.

The treatment of the underlying metabolic disorders such as insulin resistance should be taken into consideration in the treatment of hypertriglyceridemia.[8] Our study showed that initial values of insulin were similar between the groups but HOMA IR and HOMA β had higher values in omega-3 group at the end of the study although not reaching statistical significance. The effects of supplementation with omega-3 on insulin sensitivity and glycemic control are unclear.[35] Several clinical studies, involving a wide range of fish oil dose and study duration, have suggested that an enrichment of the muscle membrane phospholipid to 14% of omega-3 fatty acids is required to change insulin sensitivity linked to glucose and protein metabolisms.[36] In this study, no differences in glucose and insulin levels were found after three months of ciprofibrate therapy and the results are in agreement with previous studies.[37, 38]

The analysis of the lipid profile has clinical importance in the early detection of individuals at risk for CV disease. Traditional risk measures, such as TC and LDL-C, are the main therapeutic target for lipid lowering therapy.[39, 40] However, the non-HDL cholesterol is a better parameter to estimate CV risk than LDL-C levels in cases of hypertriglyceridemia associated with diabetes and metabolic syndrome [41], because it includes the circulating atherogenic lipoproteins on its calculation, such as LDL-C, VLDL-C and intermediate-density lipoprotein. In addition, TG/HDL ratio has recently been associated with an adverse cardiometabolic profile, especially in hypertensive individuals. This parameter has been studied and explored as an independent predictor of CV events.[42,43] A growing body of evidence shows that there is a strong relationship between insulin resistance and high concentrations of TG and low HDL-C levels. In fact, TG/HDL ratio has been previously used to identify individuals at high risk for coronary artery disease.[44] Our study showed that both

treatments were able to decrease TG/HDL ratio and non-HDL cholesterol, pointing out the applicability of these markers, particularly in patients with increased CV risk.

Our study has some limitations. Although our sample size can be considered small, the total number of participants was higher than estimated by the sample calculation and enough to reach statistical significance, which reinforces the internal validity. This study does not provide evidence about the impact of long-term treatment of hypertriglyceridemia regarding to vascular function. Therefore, further studies are needed to evaluate the chronic effects and to examine the possible mechanisms able to explain the improvement in arterial stiffness in hypertensive patients at high CV risk after omega-3 therapy.

Conclusion

In conclusion, both treatments reduced TG levels in low and high-risk patients. Despite smaller reduction in triglycerides levels, the treatment with omega-3 was associated with improvement in arterial stiffness and endothelial function compared to ciprofibrate in high-risk hypertensive patients. This study highlights the beneficial effect of omega-3 on early markers of atherosclerosis, especially in hypertensive patients with hypertriglyceridemia and high cardiovascular risk.

Acknowledgments

We thank Claudia Deolinda Lopes Alves Madureira for her technical assistance. This work was supported by the Brazilian agencies CNPq (National Council for Research and Technology, www.cnpq.br) and FAPERJ (Rio de Janeiro State Foundation for Research, www.faperj.br).

References

1. Simao AN, Godeny P, Lozovoy MA, Dichi JB, Dichi I. Effect of n-3 fatty acids in glycemic and lipid profiles, oxidative stress and total antioxidant capacity in patients with the metabolic syndrome. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2010;54:463-9.
2. Bartus M, Lomnicka M, Lorkowska B, Franczyk M, Kostogrys RB, Pisulewski PM, et al. Hypertriglyceridemia but not hypercholesterolemia induces endothelial dysfunction in the rat. Pharmacol Rep. 2005;57 Suppl:127-37.

3. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J.* 2006;27:2588-605.
4. Pizzi O, Brandão A, Magalhães M. Velocidade de onda de pulso - o método e suas implicações prognósticas na hipertensão arterial. *Rev bras hipertens.* 2006;13:59-62. .
5. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101:1-22.
6. D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2008;117:743-53.
7. Tousoulis D, Plastiras A, Siasos G, Oikonomou E, Verveniotis A, Kokkou E, et al. Omega-3 PUFAAs improved endothelial function and arterial stiffness with a parallel antiinflammatory effect in adults with metabolic syndrome. *Atherosclerosis.* 2014;232:10-6.
8. Murad MH, Hazem A, Coto-Yglesias F, Dzyubak S, Gupta S, Bancos I, et al. The association of hypertriglyceridemia with cardiovascular events and pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Endocr Disord.* 2012;12:2.
9. Krantz MJ, Havranek EP, Pereira RI, Beaty B, Mehler PS, Long CS. Effects of omega-3 fatty acids on arterial stiffness in patients with hypertension: a randomized pilot study. *Negat Results Biomed.* 2015;14: 21.
10. Goff DC, Lloyd-Jones DM, Bennett G, Coady S, D'Agostino RB, Gibbons R, et al. ACC/AHA Guideline on the Assessment of Cardiovascular Risk: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 2013;12.
11. Harper C, Jacobson T. An evidence based approach to the use of combination drug therapy for mixed dyslipidemia. *J Clin Outcomes Manage.* 2006;13:57-68.
12. Matthews D, Hosker J, Rudenski A, Naylor B, Teacher D, Turner R. Homeostasis model assessment: insulin resistance and b cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia.* 1985;28:412-9.
13. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:168-75.
14. Singhal A, Lanigan J, Storry C, Low S, Birbara T, Lucas A, et al. Docosahexaenoic acid supplementation, vascular function and risk factors for cardiovascular disease: a randomized controlled trial in young adults. *J Am Heart Assoc.* 2013;2:e000283.

15. Theobald HE, Goodall AH, Sattar N, Talbot DC, Chowienczyk PJ, Sanders TA. Low-dose docosahexaenoic acid lowers diastolic blood pressure in middle-aged men and women. *J Nutr.* 2007;137:973-8.
16. Minihane AM, Armah CK, Miles EA, Madden JM, Clark AB, Caslake MJ, et al. Consumption of Fish Oil Providing Amounts of Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid That Can Be Obtained from the Diet Reduces Blood Pressure in Adults with Systolic Hypertension: A Retrospective Analysis. *J Nutr.* 2016;146:516-23.
17. Dangardt F, Osika W, Chen Y, Nilsson U, Gan LM, Gronowitz E, et al. Omega-3 fatty acid supplementation improves vascular function and reduces inflammation in obese adolescents. *Atherosclerosis.* 2010;212:580-5.
18. Fahs CA, Yan H, Ranadive S, Rossow LM, Agiovlasitis S, Wilund KR, et al. The effect of acute fish-oil supplementation on endothelial function and arterial stiffness following a high-fat meal. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2010;35:294-302.
19. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55:1318-27.
20. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN, et al. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2011;123:2292-333.
21. Ito MK. Long-chain omega-3 fatty acids, fibrates and niacin as therapeutic options in the treatment of hypertriglyceridemia: a review of the literature. *Atherosclerosis.* 2015;242:647-56.
22. Pase MP, Grima NA, Sarris J. The effects of dietary and nutrient interventions on arterial stiffness: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2011;93:446-54.
23. Steppan J, Barodka V, Berkowitz DE, Nyhan D. Vascular stiffness and increased pulse pressure in the aging cardiovascular system. *Cardiol Res Pract.* 2011;2011:263585.
24. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the Prospective Cardiovascular Münster (PROCAM) Study. *Circulation.* 2002;162:1441-447.
25. Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. Triglyceride concentration and ischemic heart disease: an eight-year follow-up in the Copenhagen Male Study. *Circulation.* 1998;97:1029-36.
26. Davignon J, Cohn JS. Triglycerides: a risk factor for coronary heart disease. *Atherosclerosis.* 1996;124 Suppl:S57-64.

27. Sposito AC. Emerging insights into hypertension and dyslipidaemia synergies. *Eur Heart J* 2004;6(Suppl G):G8-G12.
28. Kopecky J, Rossmeisl M, Flachs P, Kuda O, Brauner P, Jilkova Z, et al. n-3 PUFA: bioavailability and modulation of adipose tissue function. *Proc Nutr Soc*. 2009;68:361-9.
29. Stirban A, Nandreas S, Gotting C, Tamler R, Pop A, Negrean M, et al. Effects of n-3 fatty acids on macro- and microvascular function in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*. 2010;91:808-13.
30. Skulas-Ray AC, Kris-Etherton PM, Harris WS, Vanden Heuvel JP, Wagner PR, West SG. Dose-response effects of omega-3 fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia. *Am J Clin Nutr*. 2011;93:243-52.
31. Wong CY, Yiu KH, Li SW, Lee S, Tam S, Lau CP, et al. Fish-oil supplement has neutral effects on vascular and metabolic function but improves renal function in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2010;27:54-60.
32. Goodfellow J, Bellamy MF, Ramsey MW, Jones CJ, Lewis MJ. Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improve systemic large artery endothelial function in subjects with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35:265-70.
33. Levantesi G, Silletta MG, Marchioli R. Uses and benefits of omega-3 ethyl esters in patients with cardiovascular disease. *J Multidiscip Healthc*. 2010;3:79-96.
34. Wierzbicki AS. Lipid lowering: another method of reducing blood pressure? *J Hum Hypertens*. 2002;16:753-60.
35. Clark LF, Thivierge MC, Kidd CA, McGeoch SC, Abraham P, Pearson DW, et al. Fish oil supplemented for 9 months does not improve glycaemic control or insulin sensitivity in subjects with impaired glucose regulation: a parallel randomised controlled trial. *Br J Nutr*. 2016;115:75-86.
36. Bergeron K, Julien P, Davis TA, Myre A, Thivierge MC. Long-chain n-3 fatty acids enhance neonatal insulin-regulated protein metabolism in piglets by differentially altering muscle lipid composition. *J Lipid Res*. 2007;48:2396-410.
37. Goyal P, Igel LI, LaScalea K, Borden WB. Cardiometabolic impact of non-statin lipid lowering therapies. *Curr Atheroscler Rep*. 2014;16:390.
38. Raslova K, Nagyova A, Dobiasova M, Ptackova K, Dusinska M. Effect of ciprofibrate on lipoprotein metabolism and oxidative stress parameters in patients with type 2 diabetes mellitus and atherogenic lipoprotein phenotype. *Acta Diabetol*. 2000;37:131-4.

39. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FA, Bertolami MC, Afiune Neto A, Souza AD, et al. IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology. *Arq Bras Cardiol.* 2007;88 Suppl 1:2-19.
40. 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) final report. *Circulation.* 2002;106:3143-421.
41. Ridker PM, Rifai N, Cook NR, Bradwin G, Buring JE. Non-HDL cholesterol, apolipoproteins A-I and B100, standard lipid measures, lipid ratios, and CRP as risk factors for cardiovascular disease in women. *JAMA.* 2005;294:326-33.
42. Gaziano JM, Hennekens CH, O'Donnell CJ, Breslow JL, Buring JE. Fasting triglycerides, high-density lipoprotein, and risk of myocardial infarction. *Circulation.* 1997;96:2520-5.
43. Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. Relation of high TG-low HDL cholesterol and LDL cholesterol to the incidence of ischemic heart disease. An 8-year follow-up in the Copenhagen Male Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:1114-20.
44. Salazar MR, Carbajal HA, Espeche WG, Leiva Sisnieguez CE, Balbin E, Dulbecco CA, et al. Relation among the plasma triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol concentration ratio, insulin resistance, and associated cardio-metabolic risk factors in men and women. *Am J Cardiol.* 2012;109:1749-53.

Table 1. Baseline socio-demographics, clinical and anthropometric characteristics

	CARDIOVASCULAR RISK		
	< 7.5% (n=13)	≥ 7.5% (n=16)	p value
Age, years	49±1	59±1	≤0.001
Men, n (%)	5 (38%)	12 (75%)	0.008
No alcohol drinking, n (%)	7 (54%)	9 (56%)	0.069
Current smokers, n (%)	2 (15%)	5 (31%)	0.223
Sedentary, n (%)	11 (85%)	10 (63%)	0.158
BMI, kg/m ²	28.9±0.5	29.1±0.7	0.842
Waist, cm	99±2	101±2	0.501
Cardiovascular risk, %	4.3±0.4	16.7±1.4	≤0.001
Creatine phosphokinase, UI/ml	119±15	154±16	0.152
Anti-hypertensive medication			
Thiazide diuretics, n (%)	8 (62%)	12 (75%)	0.431
Calcium channel blockers, n (%)	1 (8%)	7 (44%)	0.003
ACE inhibitors, n (%)	4 (31%)	7 (44%)	0.277
Angiotensin II receptor blockers, n (%)	7 (54%)	7 (44%)	0.434

Results are expressed as mean ± SEM or proportions as indicated. BMI, body mass index; ACE, angiotensin converting enzyme.

Table 2. Effects of omega-3 and ciprofibrate treatment on blood pressure, biochemical variables and vascular tests in low-risk hypertensive patients with hypertriglyceridemia

Parameter	Omega-3 group		Ciprofibrate group		p1	p2	p3
	Baseline	3-Month	Baseline	3-Month			
Vascular age, years	65±3	62±4	66±3	59±4	0.266	0.069	0.657
Cardiovascular risk, %	4.3±0.6	4.0±0.7	4.3±0.5	3.6±0.9	0.697	0.349	0.564
Systolic BP, mmHg	133±5	127±4	131±3	125±3	0.123	0.046	0.848
Diastolic BP, mmHg	83±3	82±3	84±3	79±2	0.745	0.015	0.522
Glucose, mg/dl	93±2	91±2	88±2	89±2	0.294	0.391	0.703
Insulin, µU/l	11.2±2.9	14.3±3.2	12.9±5.2	12.8±3.3	0.185	0.980	0.896
HOMA IR	2.6±0.7	3.3±0.8	2.8±1.1	2.8±0.8	0.221	1.000	0.763
HOMA β	39.6±10.8	52.0±11.3	49.6±22.3	49.0±13.3	0.155	0.969	0.942
TC, mg/dl	192±11	190±9	204±11	179±9	0.859	0.030	0.400
HDL-C, mg/dl	38±2	40±4	38±3	44±4	0.562	0.090	0.563
LDL-C, mg/dl	109±12	115±9	124±11	107±11	0.508	0.061	0.739
TG, mg/dl	259±29	200±26	250±26	152±28	0.040	≤0.001	0.224
TG/HDL ratio	7.2±0.9	5.8±0.9	7.1±1.0	5.2±1.7	0.073	0.056	0.766
Non-HDL, mg/dl	153±11	146±11	155±13	132±12	0.377	0.125	0.395
cf-PWV, m/s	9.0±0.5	8.7±0.5	8.5±0.4	8.6±0.5	0.305	0.815	0.884
AP, mmHg	13±2	12±1	12±2	11±2	0.200	0.580	0.767
AIx, %	32±3	32±4	31±4	29±3	0.809	0.571	0.537
Aortic SBP, mmHg	125±4	119±4	124±3	118±2	0.114	0.031	0.822
Aortic PP, mmHg	43±4	37±2	37±3	38±2	0.155	0.800	0.754
FMD, %	10.1±1.5	13.5±1.2	8.7±1.5	14.0±1.9	0.012	0.036	0.915
RHI, units	2.07±0.13	2.28±0.27	1.99±0.13	2.26±0.16	0.540	0.249	0.969

Results are expressed as mean ± SEM. BP, blood pressure; HOMA, homeostatic model assessment; IR, insulin resistance; β, β cell production; TC, total cholesterol; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C; low density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides; cf-PWV, carotid-femoral pulse wave velocity; AP, augmentation pressure; AIx, augmentation index; SBP, systolic blood pressure; PP, pulse pressure; FMD, flow-mediated vasodilation; RHI, reactive hyperemia index. Paired t-test to evaluate treatment effect in the omega-3 group (p1) and in the ciprofibrate group (p2); Independent t-test for intergroups analysis after intervention (p3).

Table 3. Effects of omega-3 and ciprofibrate treatment on blood pressure, biochemical variables and vascular tests in high-risk hypertensive patients with hypertriglyceridemia

Parameter	Omega-3 group		Ciprofibrate group		p1	p2	p3
	Baseline	3-Month	Baseline	3-Month			
Vascular age, years	82±1	79±2	81±2	76±2	0.016	0.018	0.450
Cardiovascular risk, %	18.3±2.5	14.4±1.1	15.2±1.2	13.7±1.6	0.121	0.264	0.642
Systolic BP, mmHg	143±4	136±4	139±3	134±3	0.152	0.150	0.726
Diastolic BP, mmHg	84±3	79±2	80±2	78±2	0.061	0.271	0.817
Glucose, mg/dl	97±4	100±7	93±3	91±4	0.446	0.562	0.261
Insulin, µU/l	13.8±1.7	14.3±2.7	14.6±3.3	14.9±2.9	0.769	0.860	0.877
HOMA IR	3.3±0.4	3.7±0.8	3.4±0.7	3.4±0.7	0.517	0.951	0.783
HOMA β	47.9±6.9	49.0±11.8	53.6±14.6	55.5±12.2	0.886	0.778	0.699
TC, mg/dl	227±9	219±10	219±9	198±10	0.357	0.066	0.150
HDL-C, mg/dl	37±3	43±3	41±2	42±2	0.105	0.754	0.774
LDL-C, mg/dl	139±9	136±6	129±8	126±7	0.795	0.741	0.297
TG, mg/dl	255±20	199±36	244±16	149±19	0.020	≤0.001	0.224
TG/HDL	7.6±0.9	5.3±1.1	6.2±0.5	3.9±0.8	0.058	0.004	0.351
Non HDL, mg/dl	181±10	168±8	178±8	156±9	0.205	0.050	0.346
cf-PWV, m/s	10.4±0.4	9.4±0.3	10.2±0.4	9.8±0.3	0.021	0.267	0.272
AP, mmHg	13±1	14±2	12±1	14±2	0.447	0.565	0.889
AIx, %	28±2	30±2	28±2	29±2	0.321	0.636	0.829
Aortic SBP, mmHg	132±4	127±4	129±3	125±3	0.226	0.223	0.739
Aortic PP, mmHg	46±2	46±3	45±2	45±3	0.979	0.927	0.805
FMD, %	11.1±1.6	13.5±1.2	9.2±1.2	10.7±1.1	0.010	0.098	0.099
RHI, units	1.89±0.16	1.96±0.20	2.01±0.15	2.06±0.09	0.724	0.771	0.979

Results are expressed as mean ± SEM. BP, blood pressure; HOMA, homeostatic model assessment; IR, insulin resistance; β, β cell production; TC, total cholesterol; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; LDL-C; low density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides; cf-PWV, carotid-femoral pulse wave velocity; AP, augmentation pressure; AIx, augmentation index; SBP, systolic blood pressure; PP, pulse pressure; FMD, flow-mediated vasodilation; RHI, reactive hyperemia index. Paired t-test to evaluate treatment effect in the omega-3 group (p1) and in the ciprofibrate group (p2); Independent t-test for intergroups analysis after intervention (p3).

Figure legend

Figure 1. Study design

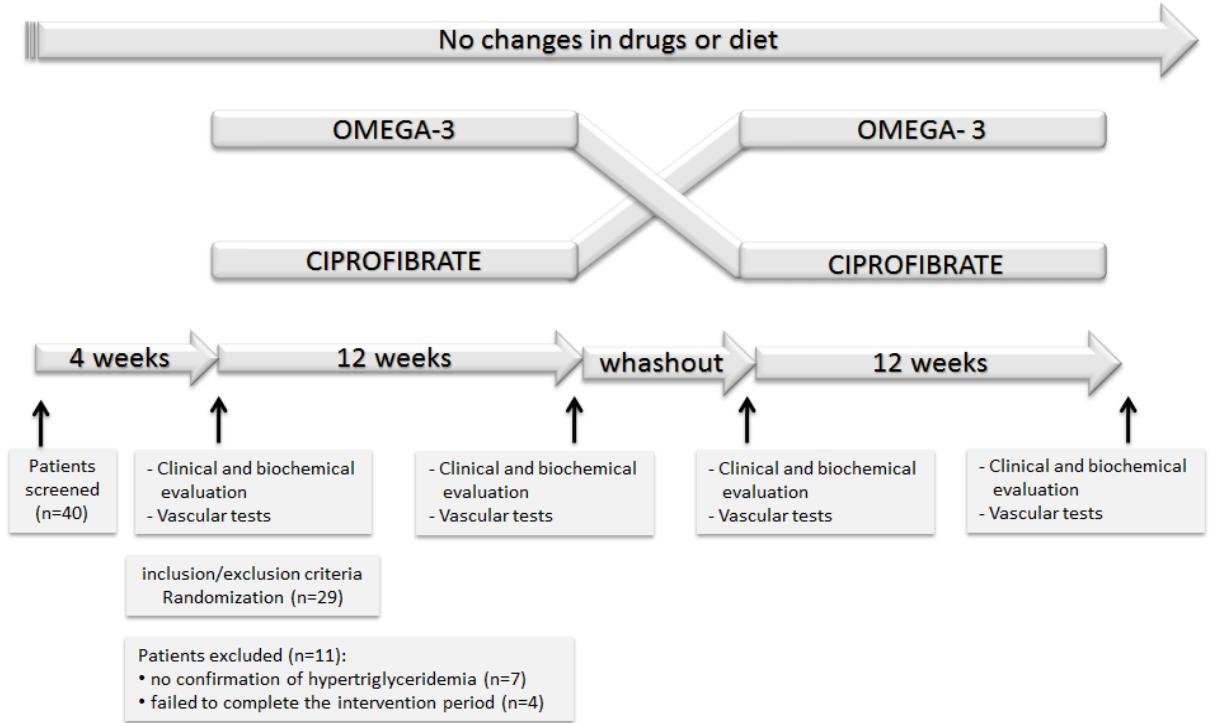


Figure 2. Baseline and final values of brachial flow mediated dilation (FMD) in low- and high-risk hypertensive patients with hypertriglyceridemia.

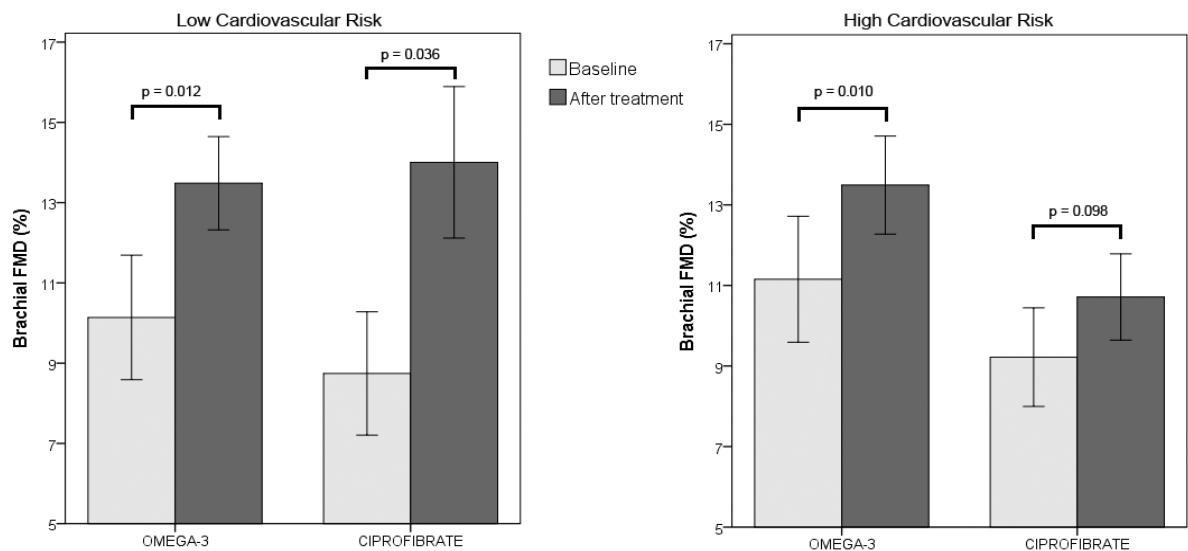
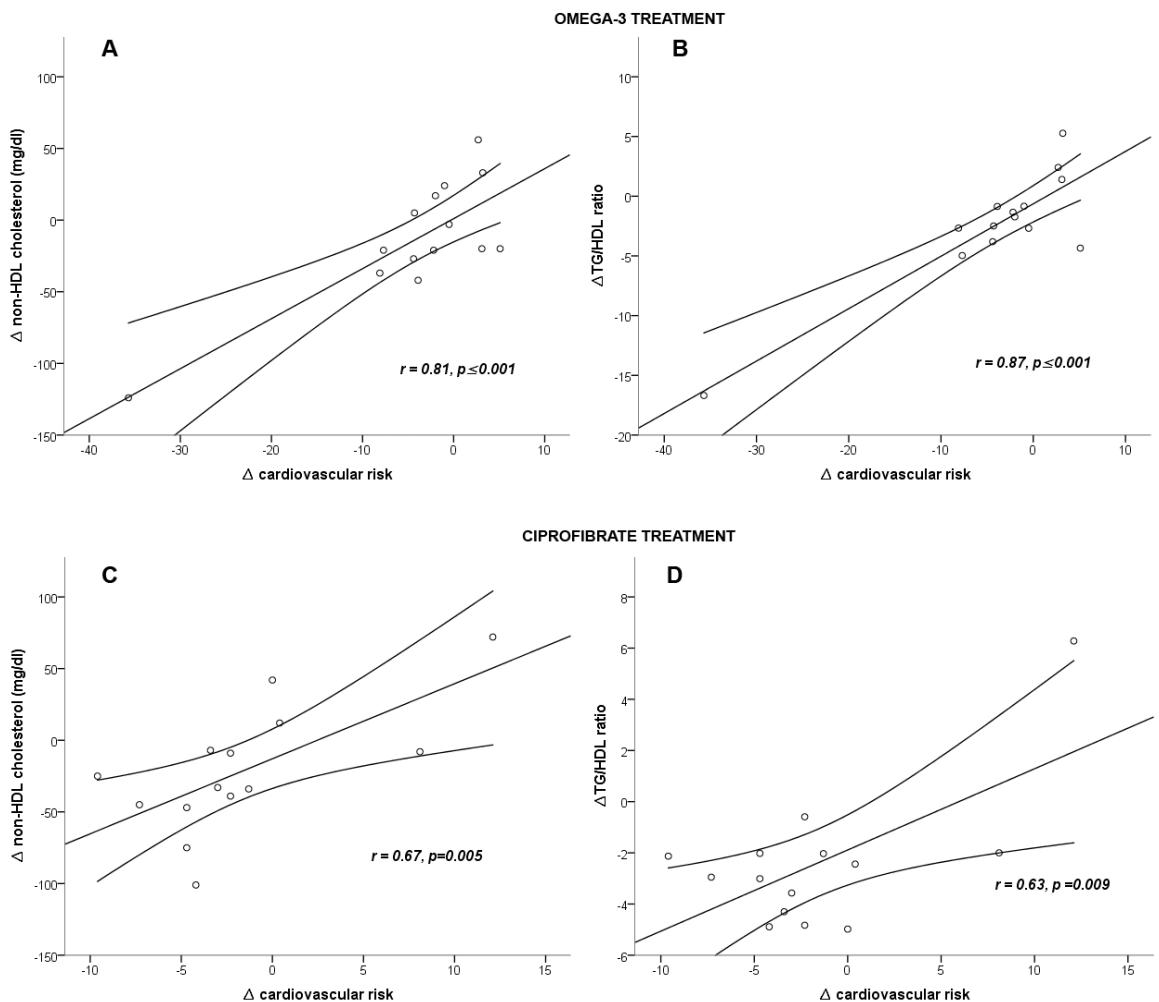


Figure 3. Linear correlation of the changes (Δ) in cardiovascular risk with Δ non-HDL-C and with Δ TG/HDL in high-risk hypertensive patients after treatment with omega-3 (A, B) and ciprofibrate (C,D).



4 DISCUSSÃO

Levando em consideração que a disfunção endotelial está associada à progressão de doenças crônicas como a HAS e as dislipidemias, medidas farmacológicas e/ou modificações no estilo de vida são utilizadas no intuito de prevenir o aparecimento da aterosclerose e de reduzir o risco de complicações micro e macrovasculares. Embora o perfil lipídico guarde relação direta com a doença aterosclerótica, ainda não é consenso na literatura científica se a hipertrigliceridemia é a causa direta da aterosclerose ou se é apenas um marcador de risco⁷, visto a sua associação com partículas aterogênicas remanescentes.

O tratamento medicamentoso da hipertrigliceridemia deverá ser avaliado de maneira individualizada e dependerá das suas concentrações basais, da presença concomitante de alterações no perfil de outras lipoproteínas plasmáticas e do risco de doença cardiovascular do indivíduo. Apesar das diretrizes nacionais e internacionais recomendarem o uso de fibratos, niacina ou de ácidos graxos ômega-3 como opção de tratamento em pacientes com hipertrigliceridemia moderada a grave⁹⁹, os mecanismos de ação de fármacos derivados do ácido fíbrico comparados aos dos ácidos graxos ômega-3 de origem marinha são distintos, levando consequentemente a efeitos clínicos diferenciados. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do gênero e do risco cardiovascular sobre os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 e do ciprofibrato na função e estrutura vascular em pacientes hipertensos com hipertrigliceridemia.

Neste ensaio clínico randomizado, os efeitos metabólicos e vasculares do ômega-3 e do ciprofibrato determinados pela redução da hipertrigliceridemia foram diferentes entre homens e mulheres hipertensos e entre indivíduos com baixo e alto risco cardiovascular, particularmente sobre a pressão arterial periférica e central, o perfil lipídico, a função endotelial e a rigidez arterial após 3 meses de intervenção. Os principais resultados mostraram que a redução dos triglicerídeos resultou em efeitos benéficos sobre a rigidez arterial em homens hipertensos tratados com ômega-3 enquanto que somente mulheres tratadas com ciprofibrato apresentaram queda expressiva nas concentrações dos triglicerídeos associada com a melhora da função endotelial. De forma especial a terapia com ômega-3 resultou na redução da rigidez arterial, avaliada pela VOP cárotida-femoral, e no aumento da DMF da artéria braquial em pacientes hipertensos hipertrigliceridêmicos de alto risco cardiovascular.

Já está bastante estabelecido na literatura que tanto a quantidade como a qualidade do ácido graxo ingerido da dieta exercem influência direta sobre as concentrações de

lipoproteínas plasmáticas e sobre os fatores de risco cardiovasculares¹¹⁸. Muitos são os trabalhos sugerindo e evidenciando os efeitos benéficos da ingestão de alimentos e/ou suplementos rico em ácidos graxos ômega-3 na saúde cardiovascular. Porém, deve-se levar em consideração que os efeitos cardioprotetores atribuídos ao seu consumo são dose-dependentes^{7,119} e a real relevância clínica dos seus efeitos ainda é incerta.

A dieta ocidental atual é pobre em ômega-3 e suas principais fontes alimentares provêm dos peixes de águas frias e profundas, como a sardinha, salmão e truta, e do óleo de linhaça¹²⁰. Os óleos de muitas espécies de peixes marinhos são ricos em EPA e em DHA, as duas formas que apresentam cadeias longas e poli-insaturadas ativas da família ômega-3. Para cada 1g de EPA/DHA consumido ao dia observa-se uma queda de 5 a 10% dos níveis de triglicerídeos⁷. Já o uso de altas doses ($\geq 2\text{g/dia}$) é capaz de levar a queda em 20% a 50% na hipertrigliceridemia¹²¹⁻¹²³ e de aumentar, discretamente, em 5% a HDL e a LDL⁹⁹. Os mecanismos envolvidos na alteração do perfil lipídico com a suplementação do ômega-3 estariam ligados à redução da lipogênese hepática¹¹⁹, o aumento na conversão de VLDL em LDL⁹⁹ e à ativação dos PPAR- α , levando ao aumento da lipólise intravascular e o clearance das partículas ricas em triglicerídeos¹²⁴. Muito embora ainda não esteja completamente esclarecido se tanto o EPA como o DHA conferem efeitos cardioprotetores similares sobre a hipertrigliceridemia, este estudo utilizou cápsulas comerciais de óleo de peixe contendo a associação de 60%EPA e 40%DHA tendo em vista a não existência de evidências atuais para recomendar o uso isolado destes ácidos graxos¹¹⁰.

Por outro lado, sabe-se que os fibratos contribuem para a redução dos triglicerídeos na magnitude de 20% a 50%, do colesterol total e da LDL em 15% e na elevação da HDL em aproximadamente 6% a 15%²¹. Tal efeito pronunciado na redução da hipertrigliceridemia poderia ser explicado pelo aumento observado na atividade da lipase lipoprotéica e da oxidação hepática dos ácidos graxos e da redução na produção da apolipoproteína CIII e da secreção da VLDL¹²⁵. De forma específica, a V Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose apontou que a terapia com ciprofibrato levaria a redução dos triglicerídeos em 15% a 45%²⁰. Neste estudo, 100 mg/dia de ciprofibrato e de 1800 mg/dia de ácidos graxos ômega-3 foram capazes de reduzir os níveis de triglicerídeos, alcançando o objetivo previsto.

Cabe destacar nesta discussão a relação obscura existente entre o tratamento com drogas derivadas do ácido fíbrico, especialmente o ciprofibrato, e entre os suplementos de óleo de peixe na redução do risco cardiovascular e na proteção sobre os desfechos cardiovasculares associados à diminuição dos níveis de triglicerídeos¹¹⁷.

Grandes ensaios clínicos como o *Diet and Reinfarction Trial*¹⁰⁶, o *Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravivenza nell' Infarto Miocardico*¹⁰⁷ e o *Japan EPA lipid intervention study*¹²⁶ mostraram o efeito protetor dos ácidos graxos ômega-3 de origem marinha na redução da mortalidade total e mortalidade cardiovascular em indivíduos portadores de doença cardiovascular. Por outro lado, recentes estudos como o *Alpha Omega Trial Group*¹²⁷, *OMEGA Study Group*¹²⁸ e o *SU.FOL.OM3 Collaborative Group*¹²⁹ realizados em indivíduos que já haviam apresentado ou não manifestações de doença aterosclerótica não apontaram os benefícios da suplementação sobre as taxas de eventos cardiovasculares maiores e morte súbita cardíaca. Diante disto, é bastante questionável os benefícios clínicos atribuídos ao ômega-3 sobre os desfechos duros (morte e infarto do miocárdio), já que questões envolvendo a forma, a dose e o tempo de suplementação bem como o perfil de tratamento medicamento da população estudada devem ser levados em consideração.

Por outro lado, revisões sistemáticas e meta-análises¹³⁰⁻¹³² mostraram o maior benefício da terapia com fibrato em reduzir o risco de eventos vasculares em indivíduos com elevados níveis de triglicerídeos (RR 0,75, IC95% 0,65 a 0,86, p<0,001) e em pacientes com dislipidemia aterogênica (colesterol HDL<40mg/dl combinado com triglicerídeos >200mg/dl, RR 0,71, IC95% 0,62 a 0,82, p<0,001)¹³³. De acordo com o NCEP ATPIII, a terapia com fibrato poderia ser utilizada em pacientes com valores de triglicerídeos limítrofes entre 150 a 199mg/dl com LDL normal e baixos níveis da HDL⁴⁰. Com base nestes achados, a intervenção terapêutica neste estudo foi aplicada tanto em pacientes com hipertrigliceridemia moderada como também em indivíduos com níveis de triglicerídeos limítrofes, visto a significativa associação existente entre as concentrações plasmáticas dos triglicerídeos (≥ 150 mg/dl) com a maior mortalidade cardiovascular³⁷.

Embora controverso, a hipertrigliceridemia tem sido associada com aumento do risco de doença cardiovascular e aterosclerose^{7,125} e com a mortalidade coronariana^{134,135}. Dados de uma recente meta-análise e revisão sistemática apontam uma forte associação entre a hipertrigliceridemia e a mortalidade cardiovascular em mulheres³⁶. As diferenças gênero específicas entre os altos níveis de triglicerídeos e os baixos níveis da fração HDL têm sido sugeridas na progressão da aterosclerose e na incidência de doença arterial coronariana¹⁸. Este estudo foi capaz de apontar uma redução no risco de doença arterial coronariana após 3 meses de tratamento hipolipemiante em ambos os gêneros. É importante destacar que somente os homens tratados com ômega-3 apresentaram uma associação da diminuição do risco com a queda dos níveis de triglicerídeos, constatação esta não presente no gênero feminino. Muito

embora os triglicerídeos não entrem no cálculo do risco de doença arterial coronariana, este resultado sugere o papel dele como importante marcador de risco no gênero masculino.

Nesta abordagem dos fatores de risco, o uso de ferramentas capazes de avaliar e de identificar indivíduos de risco mais alto para o desenvolvimento de qualquer evento cardiovascular aterosclerótico ainda são poucas utilizadas na prevenção primária¹³⁶. Além disso, não existem instrumentos atuais adaptados para o contexto brasileiro utilizados para esta estratificação de risco, sendo então empregada a estimativa do risco de *Framingham*⁵⁸. Embora esta ferramenta varie consideravelmente entre as diferentes populações estudadas dificultando a extração ou generalização dos seus resultados, ela fornece também outra medida menos específica de risco representada pela idade vascular.

O envelhecimento vascular está associado com um aumento na deposição de colágeno e de cálcio que causam uma deterioração progressiva da elasticidade dos vasos. Isto leva a alterações funcionais e um aumento na rigidez arterial que tem efeitos prejudiciais sobre os desfechos cardiovasculares^{137,138}. Este ensaio clínico não foi capaz de detectar alterações significativas na redução da estimativa do risco para doença cardiovascular aterosclerótica após 3 meses de terapia farmacológica entre pacientes de baixo e alto risco cardiovascular. No entanto, foi verificada uma queda expressiva na idade vascular em ambos os gêneros e naqueles indivíduos de alto risco cardíaco. Isto sugere que a idade vascular poderia ser uma melhor ferramenta para estimar o risco cardiovascular individualizado nesta população.

Levando em consideração que a análise do perfil lipídico tem importância clínica na detecção precoce de indivíduos em risco de doença cardiovascular, medidas de risco não-tradicional, como o colesterol não-HDL tem sido reconhecida como um melhor parâmetro para estimar o risco cardiovascular do que os níveis de LDL em casos de hipertrigliceridemia associados com diabetes e síndrome metabólica²⁰, porque inclui no seu cálculo as lipoproteínas aterogênicas, tais como a LDL, a VLDL e a IDL. Além disso, a razão triglycerídeo/HDL tem sido estudada e explorada como um preditor independente de eventos cardiovasculares^{52, 53} bem como utilizada na identificação de indivíduos em risco elevado de doença arterial coronária⁵⁶. Desse modo, as terapias hipolipemiantes utilizadas neste estudo foram capazes de diminuir a razão triglycerídeo/HDL e o colesterol não-HDL e estes parâmetros mostraram uma significativa associação com a redução da estimativa do risco cardiovascular, indicando a maior aplicabilidade destes marcadores na identificação de pacientes hipertensos com maior risco cardiovascular.

No presente estudo, não foram observadas alterações na circunferência abdominal, na glicemia de jejum e na fração LDL, o que está de acordo com outros autores^{98,139}. O estudo

NHANES realizado no período entre 1999 e 2004 constatou que aproximadamente 83% dos indivíduos com níveis de triglicerídeos $\geq 200\text{mg/dL}$ foram classificados como sobrepeso ou obesos¹⁴⁰. O excesso de adiposidade está associado com os elevados níveis de triglicerídeos e uma consequência da gordura excessiva, combinada com o armazenamento de triglicerídeos na gordura subcutânea é a deposição de gordura ectópica no músculo esquelético, fígado e miocárdio, que pode resultar em resistência à insulina^{141,142}.

O tratamento das doenças metabólicas subjacentes deve ser levado em consideração no tratamento da hipertrigliceridemia, com destaque para a resistência à insulina³⁶. O presente estudo mostrou que valores iniciais de insulina foram semelhantes entre os grupos de pesquisa analisados. No entanto, o HOMA-IR e o HOMA-β tinham valores mais elevados ao final do período de intervenção com ômega-3 embora não tenha alcançado significância estatística. Os efeitos da suplementação com ômega-3 sobre a sensibilidade à insulina e o controlo glicêmico não são totalmente esclarecidas¹⁴³. Inúmeros estudos clínicos envolvendo uma ampla variação na dose do óleo de peixe e na duração do estudo sugerem que um alcance em 14% no enriquecimento do fosfolipídio da membrana do músculo com ácidos graxos ômega-3 é necessário para alterar a sensibilidade à insulina associada à glicose e ao metabolismo de proteínas¹⁴⁴. Em adição a estes achados, este ensaio clínico também não constatou alterações sobre os níveis de glicose e insulina após três meses de terapia ativa com ciprofibrato e os resultados estão de acordo com estudos previamente publicados na literatura^{98,145}.

Além das alterações no perfil lipídico, parece também existir uma associação existente entre a hipercolesterolemia, a hipertrigliceridemia e a hipertensão arterial²⁸. As associações entre diferentes classes de fármacos anti-hipertensivos e os hipolipemiante parecem ter efeitos sinérgicos na redução da pressão arterial¹⁴⁶. Em pacientes com hipertriglyceridemia, a terapia com benzafibrato reduziu significativamente a pressão arterial sistólica em 5 mmHg e a pressão arterial diastólica em 2mmHg¹⁴⁷. Em concordância com estes achados este ensaio clínico mostrou que apenas o tratamento ativo com ciprofibrato resultou na diminuição significativa nos níveis pressóricos em hipertensos de baixo risco cardiovascular. Adicionalmente, foi verificada também uma redução na pressão arterial sistólica periférica no gênero feminino e masculino, tanto nos pacientes tratados com ciprofibrato como naqueles tratados com ômega-3. Os possíveis mecanismos biológicos capazes de explicar estes achados ainda não são conclusivos. Porém, os mecanismos sugeridos para explicar a queda dos níveis pressóricos, em especial, com a suplementação de ácidos graxos ômega-3 poderiam ser atribuídos a redução do tônus adrenérgico e da resistência vascular sistêmica¹⁴⁸ e o aumento na síntese endotelial de NO¹⁴⁹. As doses capazes de trazer os benefícios na redução em 3,5

mmHg na pressão arterial sistólica e em 2,4 mmHg na diastólica variaram entre os diferentes estudos clínicos (2 a 6g/dia), com uma média de 3,7g/dia de suplementos com óleo de peixe^{149,150}.

É importante mencionar também que o conjunto de alterações metabólicas frequentemente presentes em indivíduos hipertensos têm sido associados com maior rigidez arterial quando avaliada pela VOP¹⁵¹⁻¹⁵³. Este é o método padrão ouro que pode ser aplicado na avaliação do risco cardiovascular, por expressar a relação entre enrijecimento, elasticidade e complacência¹⁵⁴. Evidências recentes têm apontado que a VOP carótida-femoral, um marcador direto de rigidez aórtica⁹², tornou-se cada vez mais importante para estimar o risco cardiovascular⁹³, onde a diminuição nesta medida poderia ser um alvo crítico no tratamento da hipertrigliceridemia.

Muito embora os efeitos dos ácidos graxos ômega-3 sobre a rigidez arterial seja controverso, o seu mecanismo de ação parece ser influenciado pelo tempo de intervenção¹⁵⁵. Um estudo de intervenção aguda realizado em 20 voluntários saudáveis utilizando 1 g/dia do ácido graxo ômega-3 em comparação com o placebo, mostrou que o tratamento ativo com ômega-3 não afetou a VOP carótida-femoral e o índice de incremento¹⁵⁶. Por outro lado, este ensaio clínico destacou um papel diferenciado do tratamento ativo para hipertrigliceridemia com 1,8g/dia de ácidos graxos ômega-3 durante 3 meses, por atenuar a rigidez arterial em homens e em pacientes hipertensos com alto risco cardiovascular. Muito embora o mecanismo capaz de explicar a melhora na rigidez arterial ainda seja desconhecido, parecem ser independentes dos efeitos sobre a pressão arterial, pressão sistólica aórtica e índice de incremento em indivíduos saudáveis¹⁵⁷. Dessa forma, estes resultados sugerem que os benefícios da suplementação de ácidos graxos ômega-3 sobre os vasos poderiam ser atribuídos a sua ação antiinflamatória.

De modo geral, os efeitos dos suplementos de ácidos graxos ômega-3 de origem marinha sobre a função endotelial em humanos são controversos. Wong e colaboradores (2010) não verificaram melhora na DMF após suplementação com 4g/dia de óleo de peixe por 12 semanas em pacientes com diabetes *mellitus* tipo 2¹⁵⁸. Similar constatação foi observada por Skulas-Ray e colaboradores (2011)¹¹⁹, após comparar os efeitos de doses mais elevadas de ômega-3 (3,4g/dia contra 0,85g/dia) sobre a função endotelial avaliada pela DMF e EndoPAT em adultos saudáveis com hipertrigliceridemia moderada. Uma revisão de estudos de intervenção humana apontou que o uso de doses entre 2,4 a 3,8g/dia de EPA/DHA durante 17 semanas em indivíduos com fatores de risco para doença cardiovascular incluindo os dislipidêmicos com sobrepeso foi capaz de melhorar a função endotelial, seja pelo aumento da

dilatação mediada por fluxo¹⁵⁹ ou pela redução do ICAM-1¹⁶⁰. Por outro lado, os seus efeitos benéficos sobre a função do endotélio parecem ser mais consistentes em indivíduos idosos quando comparados aos jovens de meia idade¹⁶¹.

Este ensaio clínico mostrou que o aumento da resposta vasodilatadora dependente do endotélio foi atingido com ambas as terapias hipolipemiantes em pacientes de baixo risco, mas apenas com 12 semanas de terapia com ômega-3 em pacientes de alto risco. Um dos mecanismos envolvidos na relação dos seus efeitos benéficos sobre a função endotelial é resultante da capacidade de se incorporar aos fosfolipídios das membranas, substituindo, parcialmente, o ácido araquidônico como substrato inicial para a produção de eicosanóides antiinflamatórios, gerando a redução na produção do vasoconstrictor tromboxano A2, o aumento na síntese endotelial de óxido nítrico e a redução das moléculas de adesão endotelial. Após a modificação da composição dos ácidos graxos poliinsaturados nos tecidos lipídicos em relação aos eicosanóides, níveis plasmáticos estáveis são alcançados no período de um mês enquanto que nos eritrócitos a sua incorporação exibe uma cinética mais lenta^{122,162}.

Tendo em vista que a ocorrência de hipertensão e outros fatores de risco associados como dislipidemia, obesidade e diabetes podem causar agressão ao endotélio, iniciando a formação da placa de ateroma⁸, a avaliação da função endotelial de forma não-invasiva a partir da tonometria arterial periférica tem sido bastante utilizada na prática clínica¹⁶³. Um valor de RHI de 1,67 tem sido proposto para representar disfunção endotelial coronariana⁸³ e o RHI entre 1,67 e 2,07 está dentro de uma zona sensível, predispondo ao desenvolvimento futuro da disfunção endotelial. Considerando o ponto de corte de 2,07, os pacientes hipertensos avaliados neste estudo apresentaram um valor limite para disfunção endotelial. No entanto, há poucas evidências para apoiar este ponto de corte para estratificação de risco¹⁶⁴.

De forma importante, este estudo constatou uma diminuição dos níveis de triglicerídeos acompanhada por uma melhora nos parâmetros da função endotelial, avaliada pelo RHI, em mulheres tratadas com ciprofibrato. Este achado sugere que a redução da hipertrigliceridemia foi capaz de melhorar a resposta vasodilatadora em mulheres, o que poderia constituir um efeito benéfico sobre o risco cardiovascular em pacientes hipertensos tratados. Em concordância com estes resultados, 12 semanas de tratamento ativo com ácidos graxos ômega-3 melhorou o RHI em obesos adolescentes¹⁵⁵. Estes achados indicam que um período curto de intervenção pode ser suficiente para desvendar alterações funcionais sobre os vasos enquanto que modificações estruturais poderiam ser necessárias em intervenções a longo prazo (superiores a 3 meses)¹⁵⁵.

Efeitos adversos dos medicamentos hipolipemiantes devem ser monitorados mediante investigação, principalmente, de sintomas gastrointestinais e musculares. Dentre os efeitos colaterais mais comuns atribuídos à suplementação com ácidos graxos ômega-3 os desconfortos gastrointestinais podem ocorrer em até 4% dos casos com doses inferiores a 3g/dia¹⁶⁵. Além disso, efeitos moderados sobre as lipoproteínas plasmáticas com doses entre 1 a 3g/dia de ômega-3 poderiam estar relacionadas ao aumento da LDL e aumento da glicemia de jejum¹⁶⁶. Já em relação ao ciprofibrato, estes são considerados fármacos bem tolerados, tendo uma baixíssima freqüência de sintomas relacionados ao trato gastrointestinal. No entanto, pode levar ao aumento das enzimas hepáticas bem como da creatinofosfoquinase, sendo reversível com a interrupção do tratamento. Este ensaio clínico não foi capaz de detectar efeitos adversos com a terapia com ciprofibrato durante o período de intervenção. Por outro lado, um único paciente relatou distúrbio gastrointestinal após a suplementação com ômega-3, muito embora não o fizesse descontinuar o tratamento.

Diante do exposto, além das medidas terapêuticas auxiliarem na reversão do processo inflamatório na parede vascular desencadeado pela disfunção do endotélio¹⁶⁷, o emprego de métodos não invasivos capazes de avaliar a função do endotélio e a estrutura vascular devem ser incentivados na prática clínica e levados em conta na avaliação do risco do paciente. Este é o primeiro ensaio clínico randomizado que mostrou a comparação dos efeitos metabólicos e vasculares dos ácidos graxos ômega-3 e do ciprofibrato sobre a função endotelial e a rigidez arterial realizado em uma amostra de indivíduos obesos, hipertensos e hipertrigliceridêmicos.

Cabe destacar que este estudo é baseado numa amostra pequena e muito embora o número de participantes tenham sido superior ao cálculo estimado, os resultados encontrados poderiam reforçar a validade interna da pesquisa. Além disso, o desenho do estudo foi capaz de mostrar os efeitos diferenciados da terapia para a redução dos níveis de triglicerídeos sobre a função endotelial tanto no gênero feminino como nos indivíduos de maior risco cardiovascular. No entanto, este estudo não fornece evidências sobre o impacto do tratamento a longo prazo da hipertrigliceridemia em relação à função vascular. Portanto, mais estudos clínicos randomizados são necessários para avaliar os efeitos crônicos e para examinar os possíveis mecanismos capazes de explicar a melhoria na rigidez arterial e na função endotelial entre os gêneros e entre pacientes hipertensos de alto risco cardiovascular após a terapia com ácidos graxos ômega-3.

CONCLUSÃO

Nesta amostra de pacientes hipertensos e hipertrigliceridêmicos, a queda dos níveis de triglicerídeos com ciprofibrato foi associada com a melhora da função endotelial nas mulheres enquanto que ácidos graxos ômega-3 resultaram em efeitos benéficos na rigidez arterial nos homens, sugerindo a diferença de gêneros no tratamento da hipertrigliceridemia.

A redução da pressão arterial periférica e central foi obtida com o tratamento da hipertrigliceridemia, especialmente com ômega-3 nos homens e com ciprofibrato nos pacientes de baixo risco cardiovascular, mas sem relação com a estrutura e função vascular indicando uma possível relação com outros mecanismos biológicos não avaliados neste estudo.

Apesar do tratamento com ômega-3 reduzir os níveis de triglicerídeos em menor proporção em relação ao ciprofibrato, a terapia com óleo de peixe se associou com a melhora da estrutura e da função vascular. Estes resultados destacam o maior efeito benéfico da suplementação com ácidos graxos ômega-3 sobre marcadores precoces da aterosclerose em pacientes hipertensos hipertrigliceridêmicos com maior risco cardiovascular. Embora o tratamento da hipertrigliceridemia não tenha proporcionado redução do risco cardiovascular absoluto, ocorreu uma diminuição na idade vascular sugerindo que esta seria uma ferramenta mais útil na avaliação global do paciente hipertenso.

As correlações da diminuição da razão triglicerídeo/HDL e do colesterol não-HDL com a redução da estimativa do risco cardiovascular observadas neste estudo estão em concordância com os achados da literatura científica apontando a aplicabilidade destes marcadores não-tradicionais na identificação de pacientes com hipertrigliceridemia de maior risco cardiovascular.

A realização de estudos com amostras maiores e de longa duração torna-se necessária para melhor avaliação do uso comparativo de terapias redutoras dos triglicerídeos no intuito de contribuir para a maior redução da ocorrência de eventos cardíacos em indivíduos de alto risco cardiovascular.

REFERÊNCIAS

- 1 Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340: 115-26.
- 2 Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J.* 2012; 33: 1635-701.
- 3 Pereira J, Rondó P, Lemos J, de Oliveira E, Rocha C and Hipólito T. Nutritional status and lipid profile of young children in Brazil. *J Trop Pediatr.* 2013 59: 54-8.
- 4 Taylor J. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J.* 2013; 34: 2108-9.
- 5 Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, Sigurdsson G, Wareham N, Bingham S, et al. Triglycerides and the risk of coronary heart disease: 10,158 incident cases among 262,525 participants in 29 Western prospective studies. *Circulation.* 2007; 115: 450-8.
- 6 Assmann G, Schulte H, Funke H and von Eckardstein A. The emergence of triglycerides as a significant independent risk factor in coronary artery disease. *Eur Heart J.* 1998; 19 Suppl M: M8-14.
- 7 Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN, et al. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2011; 123: 2292-333.
- 8 Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FA, Bertolami MC, Afiune Neto A, Souza AD, et al. [IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology]. *Arq Bras Cardiol.* 2007; 88 Suppl 1: 2-19.
- 9 de Souza LJ, Souto Filho JT, de Souza TF, Reis AF, Gicovate Neto C, Bastos DA, et al. Prevalence of dyslipidemia and risk factors in Campos dos Goytacazes, in the Brazilian state of Rio de Janeiro. *Arq Bras Cardiol.* 2003; 81: 249-64.
- 10 Misra A and Vikram NK. Clinical and pathophysiological consequences of abdominal adiposity and abdominal adipose tissue depots. *Nutrition.* 2003; 19: 457-66.
- 11 Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK and He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet.* 2005; 365: 217-23.
- 12 Schmidt M, Duncan B and Azevedo e Silva G, et al. . Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. *Lancet.* 2011; (Série Saúde no Brasil 4): 61-74.

- 13 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro; 2010. 2010.
- 14 Mahmood SS, Levy D, Vasan RS and Wang TJ. The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *Lancet.* 2014; 383: 999-1008.
- 15 Zambrana RE, Lopez L, Dinwiddie GY, Ray RM, Phillips LS, Trevisan M, et al. Prevalence and incident prehypertension and hypertension in postmenopausal Hispanic women: results from the Women's Health Initiative. *Am J Hypertens.* 2014; 27: 372-81.
- 16 Kuhn FE and Rackley CE. Coronary artery disease in women. Risk factors, evaluation, treatment, and prevention. *Arch Intern Med.* 1993; 153: 2626-36.
- 17 Eaker ED, Chesebro JH, Sacks FM, Wenger NK, Whisnant JP and Winston M. Cardiovascular disease in women. *Circulation.* 1993; 88: 1999-2009.
- 18 Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Damaskos DS, Bilianou HI, Mihas C, Milionis HJ, et al. Gender differences in the lipid profile of dyslipidemic subjects. *Eur J Intern Med.* 2009; 20: 145-51.
- 19 Rich-Edwards JW, Manson JE, Hennekens CH and Buring JE. The primary prevention of coronary heart disease in women. *N Engl J Med.* 1995; 332: 1758-66.
- 20 V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.* 2013; 101: 1-22.
- 21 Harper C and Jacobson T. An evidencebased approach to the use of,combination drug therapy f,or mixed dyslipidemia. *J Clin Outcomes Manage.* 2006; 13: 57-68.
- 22 Melo SESFC, Yugar-Toledo JC, Coca AP and Júnior HM. Arterial hypertension, atherosclerosis and inflammation: the endothelium as target organ. *Rev Bras Hipertens.* 2007; 14: 234-38.
- 23 Batlouni M. Endotélio e hipertensão arterial. *Rev Bras Hipertens.* 2001; 8: 328-38.
- 24 Li D and Mehta JL. Antisense to LOX-1 inhibits oxidized LDL-mediated upregulation of monocyte chemoattractant protein-1 and monocyte adhesion to human coronary artery endothelial cells. *Circulation.* 2000; 101: 2889-95.
- 25 Mizuno Y, Jacob RF and Mason RP. Inflammation and the development of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2011; 18: 351-8.
- 26 Giuliano I and Caramelli B. Dislipidemias na infância e na adolescência. *Pediatria.* 2008; 29: 275-85.
- 27 Pimenta A, Kac G and Gazzinelli A, et al. Associação entre obesidade central, triglicerídeos e hipertensão arterial em uma área rural do Brasil. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia.* 2008; 90: 419-25.

- 28 Sposito AC. Emerging insights into hypertension and dyslipidaemia synergies. *Eur Heart J* 2004; 6(Suppl G): G8-G12.
- 29 Touyz RM. Intracellular mechanisms involved in vascular remodelling of resistance arteries in hypertension: role of angiotensin II. *Exp Physiol*. 2005; 90: 449-55.
- 30 John S and Schmieder RE. Potential mechanisms of impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia. *Curr Hypertens Rep*. 2003; 5: 199-207.
- 31 Gimbrone MA, Jr. Vascular endothelium: an integrator of pathophysiologic stimuli in atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 1995; 75: 67B-70B.
- 32 Ganz P and Vita JA. Testing endothelial vasomotor function: nitric oxide, a multipotent molecule. *Circulation*. 2003; 108: 2049-53.
- 33 Dominiczak A, Davidson A and Bohr D. Plasma membrane in hypertension: microviscosity and calcium stabilization. *Hypertens Res*. 1994; 17: 79-86.
- 34 Tanoue T and Nishida E. Molecular recognitions in the MAP kinase cascades. *Cell Signal*. 2003; 15: 455-62.
- 35 Taniyama Y and Griendl KK. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms. *Hypertension*. 2003; 42: 1075-81.
- 36 Murad MH, Hazem A, Coto-Yglesias F, Dzyubak S, Gupta S, Bancos I, et al. The association of hypertriglyceridemia with cardiovascular events and pancreatitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Endocr Disord*. 2012; 12: 2.
- 37 Liu J, Zeng FF, Liu ZM, Zhang CX, Ling WH and Chen YM. Effects of blood triglycerides on cardiovascular and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of 61 prospective studies. *Lipids Health Dis*. 2013; 12: 159.
- 38 Simao AN, Godeney P, Lozovoy MA, Dichi JB and Dichi I. [Effect of n-3 fatty acids in glycemic and lipid profiles, oxidative stress and total antioxidant capacity in patients with the metabolic syndrome]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2010; 54: 463-9.
- 39 Davignon J and Cohn JS. Triglycerides: a risk factor for coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 1996; 124 Suppl: S57-64.
- 40 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) final report. *Circulation*. 2002; 106: 3143-421.
- 41 Ridker PM, Rifai N, Cook NR, Bradwin G and Buring JE. Non-HDL cholesterol, apolipoproteins A-I and B100, standard lipid measures, lipid ratios, and CRP as risk factors for cardiovascular disease in women. *JAMA*. 2005; 294: 326-33.
- 42 Bays HE, Jones PH, Brown WV and Jacobson TA. National Lipid Association Annual Summary of Clinical Lipidology 2015. *J Clin Lipidol*. 2014; 8: S1-36.

- 43 Brunzell JD, Davidson M, Furberg CD, Goldberg RB, Howard BV, Stein JH, et al. Lipoprotein management in patients with cardiometabolic risk: consensus statement from the American Diabetes Association and the American College of Cardiology Foundation. *Diabetes Care.* 2008; 31: 811-22.
- 44 Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M and Fogelman AM. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res.* 2004; 95: 764-72.
- 45 Sudano I, Spieker LE, Hermann F, Flammer A, Corti R, Noll G, et al. Protection of endothelial function: targets for nutritional and pharmacological interventions. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2006; 47 Suppl 2: S136-50; discussion S72-6.
- 46 Tselepis AD, Karabina SA, Stengel D, Piedagnel R, Chapman MJ and Ninio E. N-linked glycosylation of macrophage-derived PAF-AH is a major determinant of enzyme association with plasma HDL. *J Lipid Res.* 2001; 42: 1645-54.
- 47 Barter PJ, Baker PW and Rye KA. Effect of high-density lipoproteins on the expression of adhesion molecules in endothelial cells. *Curr Opin Lipidol.* 2002; 13: 285-8.
- 48 Navab M, Berliner JA, Subbanagounder G, Hama S, Lusis AJ, Castellani LW, et al. HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidized phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 481-8.
- 49 Ridker PM, Brown NJ, Vaughan DE, Harrison DG and Mehta JL. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation.* 2004; 109: IV6-19.
- 50 Gotto AM, Jr. Low high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor in coronary heart disease: a working group report. *Circulation.* 2001; 103: 2213-8.
- 51 von Eckardstein A, Nofer JR and Assmann G. High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 13-27.
- 52 Gaziano JM, Hennekens CH, O'Donnell CJ, Breslow JL and Buring JE. Fasting triglycerides, high-density lipoprotein, and risk of myocardial infarction. *Circulation.* 1997; 96: 2520-5.
- 53 Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P and Gyntelberg F. Relation of high TG-low HDL cholesterol and LDL cholesterol to the incidence of ischemic heart disease. An 8-year follow-up in the Copenhagen Male Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 1114-20.
- 54 Urbina EM, Khoury PR, McCoy CE, Dolan LM, Daniels SR and Kimball TR. Triglyceride to HDL-C ratio and increased arterial stiffness in children, adolescents, and young adults. *Pediatrics.* 2013; 131: e1082-90.
- 55 Tsimihodimos V, Gazi I, Kostara C, Tselepis AD and Elisaf M. Plasma lipoproteins and triacylglycerol are predictors of small, dense LDL particles. *Lipids.* 2007; 42: 403-9.

- 56 Salazar MR, Carbajal HA, Espeche WG, Leiva Sisnieguez CE, Balbin E, Dulbecco CA, et al. Relation among the plasma triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol concentration ratio, insulin resistance, and associated cardio-metabolic risk factors in men and women. *Am J Cardiol.* 2012; 109: 1749-53.
- 57 Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H and Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation.* 1998; 97: 1837-47.
- 58 D'Agostino RB, Sr., Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2008; 117: 743-53.
- 59 Goff DC, Jr., Lloyd-Jones DM, Bennett G, Coady S, D'Agostino RB, Sr., Gibbons R, et al. ACC/AHA Guideline on the Assessment of Cardiovascular Risk: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 2013.
- 60 Barrett-Connor E and Bush TL. Estrogen and coronary heart disease in women. *JAMA.* 1991; 265: 1861-7.
- 61 Wenger NK, Speroff L and Packard B. Cardiovascular health and disease in women. *N Engl J Med.* 1993; 329: 247-56.
- 62 Jousilahti P, Virtainen E, Tuomilehto J and Puska P. Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland. *Circulation.* 1999; 99: 1165-72.
- 63 McGrath KC, McRobb LS and Heather AK. Androgen therapy and atherosclerotic cardiovascular disease. *Vasc Health Risk Manag.* 2008; 4: 11-21.
- 64 Miller VM and Duckles SP. Vascular actions of estrogens: functional implications. *Pharmacol Rev.* 2008; 60: 210-41.
- 65 Su TC, Chien KL, Jeng JS, Chen MF, Hsu HC, Tornng PL, et al. Age- and gender-associated determinants of carotid intima-media thickness: a community-based study. *J Atheroscler Thromb.* 2012; 19: 872-80.
- 66 Liao YC, Lin HF, Guo YC, Yu ML, Liu CK and Juo SH. Sex-differential genetic effect of phosphodiesterase 4D (PDE4D) on carotid atherosclerosis. *BMC Med Genet.* 2010; 11: 93.
- 67 Lin JW, Caffrey JL, Chang MH and Lin YS. Sex, menopause, metabolic syndrome, and all-cause and cause-specific mortality--cohort analysis from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95: 4258-67.
- 68 Habib SS, Asla M and Hameed W. Gender differences in lipids and lipoprotein (a) profile in healthy individuals and patients with type 2 diabetes mellitus. *Pak J Physiol.* 2005; 1 (1-2).

- 69 Hokanson JE and Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk.* 1996; 3: 213-9.
- 70 Stensvold I, Tverdal A, Urdal P and Graff-Iversen S. Non-fasting serum triglyceride concentration and mortality from coronary heart disease and any cause in middle aged Norwegian women. *BMJ.* 1993; 307: 1318-22.
- 71 Baldassarre D, Nyysönen K, Rauramaa R, de Faire U, Hamsten A, Smit AJ, et al. Cross-sectional analysis of baseline data to identify the major determinants of carotid intima-media thickness in a European population: the IMPROVE study. *Eur Heart J.* 2010; 31: 614-22.
- 72 Verma S and Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation.* 2002; 105: 546-9.
- 73 Reriani MK, Lerman LO and Lerman A. Endothelial function as a functional expression of cardiovascular risk factors. *Biomark Med.* 2010; 4: 351-60.
- 74 Rubinstein R, Kuvvin J, Soffler M, Lennon R, Lavi S and Nelson R. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. . *Eur Hear J.* 2010; 31: 1142-8.
- 75 Teixeira H, Mesquita E, Ribeiro M, Bazin A, Mesquita C and Teixeira M. Estudo da reatividade vascular em portadores de HIV com e sem uso de inibidor de protease. . *Arq Bras Cardiol.* 2009; 93: 367-73.
- 76 Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, Charbonneau F, Delagrange D, Creager MA, et al. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 1995; 75: 71B-74B.
- 77 Corretti M, Anderson T and Benjamin E, et al. . Guidelines for The Ultrasound Assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilation of The braquial Artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. . *J Am Coll Cardiol.* 2000; 39: 257-65.
- 78 Patel AR, Kuvvin JT, Sliney KA, Rand WM, Chiang JC, Udelson JE, et al. Gender-based differences in brachial artery flow-mediated vasodilation as an indicator of significant coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2005; 96: 1223-6.
- 79 Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Mitchell GF, Vasan RS, Keaney JF, Jr., et al. Clinical correlates and heritability of flow-mediated dilation in the community: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2004; 109: 613-9.
- 80 Juonala M, Kahonen M, Laitinen T, Hutri-Kahonen N, Jokinen E, Taittonen L, et al. Effect of age and sex on carotid intima-media thickness, elasticity and brachial endothelial function in healthy adults: the cardiovascular risk in Young Finns Study. *Eur Heart J.* 2008; 29: 1198-206.

- 81 Garrido K, Rezende J, Leite S, Montenegro C, Koch H and Soares A. Flow-mediated dilatation of the brachial artery. Study of the endothelial function in menopause women. *Rev Bras Ecocardiogr.* 2008; 21: 22 - 26.
- 82 Bonetti PO, Lerman LO and Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23: 168-75.
- 83 Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes DR, Jr., Kuvin JT and Lerman A. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 44: 2137-41.
- 84 Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasan RS, Schnabel R, Pryde MM, et al. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2008; 117: 2467-74.
- 85 Bruno RM, Gori T and Ghiadoni L. Endothelial function testing and cardiovascular disease: focus on peripheral arterial tonometry. *Vasc Health Risk Manag.* 2014; 10: 577-84.
- 86 Matsuzawa Y, Kwon TG, Lennon RJ, Lerman LO and Lerman A. Prognostic Value of Flow-Mediated Vasodilation in Brachial Artery and Fingertip Artery for Cardiovascular Events: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc.* 2015; 4.
- 87 Asmar R, Topouchian J, Pannier B, Benetos A and Safar M. Pulse wave velocity as endpoint in large-scale intervention trial. The Complior study. Scientific, Quality Control, Coordination and Investigation Committees of the Complior Study. *J Hypertens.* 2001; 19: 813-8.
- 88 Safar H, Mourad JJ, Safar M and Blacher J. Aortic pulse wave velocity, an independent marker of cardiovascular risk. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2002; 95: 1215-8.
- 89 Laurent S, Katsahian S, Fassot C, Tropeano AI, Gautier I, Laloux B, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension. *Stroke.* 2003; 34: 1203-6.
- 90 Podolec P, Kopec G, Podolec J, Wilkokek P, Krochin M and Rubis Pea. Aortic Pulse Wave Velocity and carotid-femoral - Pulse Wave Velocity: similarities and discrepancies. . *Hypertens Res.* 2007; 30: 1151–58.
- 91 Pizzi O, Brandão A, Magalhães M and al. e. Velocidade de onda de pulso - o método e suas implicações prognósticas na hipertensão arterial. . *Rev bras hipertens.* 2006; 13: 59-62. .
- 92 Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J.* 2006; 27: 2588-605.
- 93 Vlachopoulos C, Aznaouridis K and Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 55: 1318-27.
- 94 Luo KQ, Feng XW, Xu BC and Long HB. Association between arterial stiffness and risk of coronary artery disease. *Pak J Med Sci.* 2014; 30: 1314-8.

- 95 van Sloten TT, Schram MT, van den Hurk K, Dekker JM, Nijpels G, Henry RM, et al. Local stiffness of the carotid and femoral artery is associated with incident cardiovascular events and all-cause mortality: the Hoorn study. *J Am Coll Cardiol.* 2014; 63: 1739-47.
- 96 Pejic RN and Lee DT. Hypertriglyceridemia. *J Am Board Fam Med.* 2006; 19: 310-6.
- 97 Labreuche J, Touboul PJ and Amarenco P. Plasma triglyceride levels and risk of stroke and carotid atherosclerosis: a systematic review of the epidemiological studies. *Atherosclerosis.* 2009; 203: 331-45.
- 98 Goyal P, Igel LI, LaScalea K and Borden WB. Cardiometabolic impact of non-statin lipid lowering therapies. *Curr Atheroscler Rep.* 2014; 16: 390.
- 99 Berglund L, Brunzell JD, Goldberg AC, Goldberg IJ, Sacks F, Murad MH, et al. Evaluation and treatment of hypertriglyceridemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97: 2969-89.
- 100 Zuchi C, Ambrosio G, Luscher TF and Landmesser U. Nutraceuticals in cardiovascular prevention: lessons from studies on endothelial function. *Cardiovasc Ther.* 2010; 28: 187-201.
- 101 Ratnayake WM and Galli C. Fat and fatty acid terminology, methods of analysis and fat digestion and metabolism: a background review paper. *Ann Nutr Metab.* 2009; 55: 8-43.
- 102 Waitzberg D. Ômega-3: o que existe de concreto, São Paulo: Nutrilite, 2007. Disponível em: <<http://www.nutritotal.com.br/publicacoes/files/644--MonografiaOmega3.pdf>>. Acesso em: 6 dez. 2011. 2007.
- 103 Stirban A, Nandreas S, Gotting C, Tamler R, Pop A, Negrean M, et al. Effects of n-3 fatty acids on macro- and microvascular function in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91: 808-13.
- 104 Balakumar P and Taneja G. Fish oil and vascular endothelial protection: bench to bedside. *Free Radic Biol Med.* 2012; 53: 271-9.
- 105 Din JN, Newby DE and Flapan AD. Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease--fishing for a natural treatment. *BMJ.* 2004; 328: 30-5.
- 106 Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF, Rogers S, Holliday RM, Sweetnam PM, et al. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet.* 1989; 2: 757-61.
- 107 Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. *Lancet.* 1999; 354: 447-55.
- 108 Kris-Etherton PM, Grieger JA and Etherton TD. Dietary reference intakes for DHA and EPA. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2009; 81: 99-104.
- 109 Simao AF, Precoma DB, Andrade JP, Correa FH, Saraiva JF, Oliveira GM, et al. [I Brazilian Guidelines for cardiovascular prevention]. *Arq Bras Cardiol.* 2013; 101: 1-63.

- 110 Santos RD, Gagliardi AC, Xavier HT, Magnoni CD, Cassani R, Lottenberg AM, et al. [First guidelines on fat consumption and cardiovascular health]. Arq Bras Cardiol. 2013; 100: 1-40.
- 111 Mozaffarian D and Rimm EB. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. JAMA. 2006; 296: 1885-99.
- 112 Secondary prevention by raising HDL cholesterol and reducing triglycerides in patients with coronary artery disease. Circulation. 2000; 102: 21-7.
- 113 Keech A, Simes RJ, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen MR, et al. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. Lancet. 2005; 366: 1849-61.
- 114 Miller M. Why triglycerides need to be aggressively managed: A guide for physicians. CardiovascRev Rep. 2003; 24: 520-26.
- 115 Capell W, DeSouza C and Poirier P, et al. . Short-term triglyceride lowering with fenofibrate improves vasodilator function in subjects with hypertriglyceridemia. . Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology. 2003; 23: 307-33.
- 116 Kovacs I, Toldy E, Abel T, Tarjan J and Csaszar A. The effect of ciprofibrate on flow-mediated dilation and inflammatory markers in patients with combined hyperlipidemia. Endothelium. 2005; 12: 179-83.
- 117 Levantesi G, Silletta MG and Marchioli R. Uses and benefits of omega-3 ethyl esters in patients with cardiovascular disease. J Multidiscip Healthc. 2010; 3: 79-96.
- 118 Lands B. A critique of paradoxes in current advice on dietary lipids. Prog Lipid Res. 2008; 47: 77-106.
- 119 Skulas-Ray AC, Kris-Etherton PM, Harris WS, Vanden Heuvel JP, Wagner PR and West SG. Dose-response effects of omega-3 fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia. Am J Clin Nutr. 2011; 93: 243-52.
- 120 Novello D, Franceschini P and Quintiliano D. A importância dos ácidos graxos w-3 e w-6 para a prevenção de doenças e na saúde humana. . Revista Salus-Guarapuava-PR. 2008; 21: 77-87.
- 121 Musa-Veloso K, Binns MA, Kocenas AC, Poon T, Elliot JA, Rice H, et al. Long-chain omega-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid dose-dependently reduce fasting serum triglycerides. Nutr Rev. 2010; 68: 155-67.
- 122 Tousoulis D, Plastiras A, Siasos G, Oikonomou E, Verveniotis A, Kokkou E, et al. Omega-3 PUFAs improved endothelial function and arterial stiffness with a parallel antiinflammatory effect in adults with metabolic syndrome. Atherosclerosis. 2014; 232: 10-6.
- 123 Saravanan P, Davidson NC, Schmidt EB and Calder PC. Cardiovascular effects of marine omega-3 fatty acids. Lancet. 2010; 376: 540-50.

- 124 Liu M, Montgomery MK, Fiveash CE, Osborne B, Cooney GJ, Bell-Anderson K, et al. PPARalpha-independent actions of omega-3 PUFAs contribute to their beneficial effects on adiposity and glucose homeostasis. *Sci Rep.* 2014; 4: 5538.
- 125 Ito MK. Long-chain omega-3 fatty acids, fibrates and niacin as therapeutic options in the treatment of hypertriglyceridemia: a review of the literature. *Atherosclerosis.* 2015; 242: 647-56.
- 126 Yokoyama M, Origasa H, Matsuzaki M, Matsuzawa Y, Saito Y, Ishikawa Y, et al. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis. *Lancet.* 2007; 369: 1090-8.
- 127 Kromhout D, Giltay EJ and Geleijnse JM. n-3 fatty acids and cardiovascular events after myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2010; 363: 2015-26.
- 128 Rauch B, Schiele R, Schneider S, Diller F, Victor N, Gohlke H, et al. OMEGA, a randomized, placebo-controlled trial to test the effect of highly purified omega-3 fatty acids on top of modern guideline-adjusted therapy after myocardial infarction. *Circulation.* 2010; 122: 2152-9.
- 129 Galan P, Kesse-Guyot E, Czernichow S, Briancon S, Blacher J and Hercberg S. Effects of B vitamins and omega 3 fatty acids on cardiovascular diseases: a randomised placebo controlled trial. *BMJ.* 2010; 341: c6273.
- 130 Labreuche J, Deplanque D, Touboul PJ, Bruckert E and Amarenco P. Association between change in plasma triglyceride levels and risk of stroke and carotid atherosclerosis: systematic review and meta-regression analysis. *Atherosclerosis.* 2010; 212: 9-15.
- 131 Bruckert E, Labreuche J, Deplanque D, Touboul PJ and Amarenco P. Fibrate's effect on cardiovascular risk is greater in patients with high triglyceride levels or atherogenic dyslipidemia profile: a systematic review and meta-analysis. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2011; 57: 267-72.
- 132 Jun M, Foote C, Lv J, Neal B, Patel A, Nicholls SJ, et al. Effects of fibrates on cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2010; 375: 1875-84.
- 133 Lee M, Saver JL, Towfighi A, Chow J and Ovbiagele B. Efficacy of fibrates for cardiovascular risk reduction in persons with atherogenic dyslipidemia: a meta-analysis. *Atherosclerosis.* 2011; 217: 492-8.
- 134 Assmann G, Cullen P and Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) Study. *Circulation.* 2002; 162: 1441-447.
- 135 Jeppesen J, Hein HO, Suadicani P and Gyntelberg F. Triglyceride concentration and ischemic heart disease: an eight-year follow-up in the Copenhagen Male Study. *Circulation.* 1998; 97: 1029-36.

- 136 Brindle P, Beswick A, Fahey T and Ebrahim S. Accuracy and impact of risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Heart.* 2006; 92: 1752-9.
- 137 Pase MP, Grima NA and Sarris J. The effects of dietary and nutrient interventions on arterial stiffness: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2011; 93: 446-54.
- 138 Steppan J, Barodka V, Berkowitz DE and Nyhan D. Vascular stiffness and increased pulse pressure in the aging cardiovascular system. *Cardiol Res Pract.* 2011; 2011: 263585.
- 139 Koh KK, Quon MJ, Shin KC, Lim S, Lee Y, Sakuma I, et al. Significant differential effects of omega-3 fatty acids and fenofibrate in patients with hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis.* 2012; 220: 537-44.
- 140 Ford ES, Li C, Zhao G, Pearson WS and Mokdad AH. Hypertriglyceridemia and its pharmacologic treatment among US adults. *Arch Intern Med.* 2009; 169: 572-8.
- 141 Despres JP, Lemieux I, Bergeron J, Pibarot P, Mathieu P, Larose E, et al. Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution to global cardiometabolic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28: 1039-49.
- 142 Rosito GA, Massaro JM, Hoffmann U, Ruberg FL, Mahabadi AA, Vasan RS, et al. Pericardial fat, visceral abdominal fat, cardiovascular disease risk factors, and vascular calcification in a community-based sample: the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2008; 117: 605-13.
- 143 Clark LF, Thivierge MC, Kidd CA, McGeoch SC, Abraham P, Pearson DW, et al. Fish oil supplemented for 9 months does not improve glycaemic control or insulin sensitivity in subjects with impaired glucose regulation: a parallel randomised controlled trial. *Br J Nutr.* 2016; 115: 75-86.
- 144 Bergeron K, Julien P, Davis TA, Myre A and Thivierge MC. Long-chain n-3 fatty acids enhance neonatal insulin-regulated protein metabolism in piglets by differentially altering muscle lipid composition. *J Lipid Res.* 2007; 48: 2396-410.
- 145 Raslova K, Nagyova A, Dobiasova M, Ptackova K and Dusinska M. Effect of ciprofibrate on lipoprotein metabolism and oxidative stress parameters in patients with type 2 diabetes mellitus and atherogenic lipoprotein phenotype. *Acta Diabetol.* 2000; 37: 131-4.
- 146 Wierzbicki AS. Lipid lowering: another method of reducing blood pressure? *J Hum Hypertens.* 2002; 16: 753-60.
- 147 Jonkers IJ, de Man FH, van der Laarse A, Frolich M, Gevers Leuven JA, Kamper AM, et al. Bezafibrate reduces heart rate and blood pressure in patients with hypertriglyceridemia. *J Hypertens.* 2001; 19: 749-55.
- 148 Grynberg A. Hypertension prevention: from nutrients to (fortified) foods to dietary patterns. Focus on fatty acids. *J Hum Hypertens.* 2005; 19 Suppl 3: S25-33.
- 149 Cicero AF, Ertek S and Borghi C. Omega-3 polyunsaturated fatty acids: their potential

- role in blood pressure prevention and management. *Curr Vasc Pharmacol.* 2009; 7: 330-7.
- 150 Geleijnse JM, Giltay EJ, Grobbee DE, Donders AR and Kok FJ. Blood pressure response to fish oil supplementation: metaregression analysis of randomized trials. *J Hypertens.* 2002; 20: 1493-9.
- 151 Gungor N, Thompson T, Sutton-Tyrrell K, Janosky J and Arslanian S. Early signs of cardiovascular disease in youth with obesity and type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2005; 28: 1219-21.
- 152 Riggio S, Mandraffino G, Sardo MA, Iudicello R, Camarda N, Imbalzano E, et al. Pulse wave velocity and augmentation index, but not intima-media thickness, are early indicators of vascular damage in hypercholesterolemic children. *Eur J Clin Invest.* 2010; 40: 250-7.
- 153 Sakuragi S, Abhayaratna K, Gravenmaker KJ, O'Reilly C, Srikusalanukul W, Budge MM, et al. Influence of adiposity and physical activity on arterial stiffness in healthy children: the lifestyle of our kids study. *Hypertension.* 2009; 53: 611-6.
- 154 Townsend RR, Wilkinson IB, Schiffrin EL, Avolio AP, Chirinos JA, Cockcroft JR, et al. Recommendations for Improving and Standardizing Vascular Research on Arterial Stiffness: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Hypertension.* 2015; 66: 698-722.
- 155 Dangardt F, Osika W, Chen Y, Nilsson U, Gan LM, Gronowitz E, et al. Omega-3 fatty acid supplementation improves vascular function and reduces inflammation in obese adolescents. *Atherosclerosis.* 2010; 212: 580-5.
- 156 Fahs CA, Yan H, Ranadive S, Rossow LM, Agiovlasitis S, Wilund KR, et al. The effect of acute fish-oil supplementation on endothelial function and arterial stiffness following a high-fat meal. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2010; 35: 294-302.
- 157 Monahan KD, Feehan RP, Blaha C and McLaughlin DJ. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on central arterial stiffness and arterial wave reflections in young and older healthy adults. *Physiol Rep.* 2015; 3.
- 158 Wong CY, Yiu KH, Li SW, Lee S, Tam S, Lau CP, et al. Fish-oil supplement has neutral effects on vascular and metabolic function but improves renal function in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2010; 27: 54-60.
- 159 Goodfellow J, Bellamy MF, Ramsey MW, Jones CJ and Lewis MJ. Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improve systemic large artery endothelial function in subjects with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2000; 35: 265-70.
- 160 Hjerkinn EM, Seljeflot I, Ellingsen I, Berstad P, Hjermann I, Sandvik L, et al. Influence of long-term intervention with dietary counseling, long-chain n-3 fatty acid supplements, or both on circulating markers of endothelial activation in men with long-standing hyperlipidemia. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81: 583-9.
- 161 Egert S and Stehle P. Impact of n-3 fatty acids on endothelial function: results from human interventions studies. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011; 14: 121-31.

- 162 Kopecky J, Rossmeisl M, Flachs P, Kuda O, Brauner P, Jilkova Z, et al. n-3 PUFA: bioavailability and modulation of adipose tissue function. *Proc Nutr Soc.* 2009; 68: 361-9.
- 163 Ellins EA and Halcox JP. Where are we heading with noninvasive clinical vascular physiology? Why and how should we assess endothelial function? *Cardiol Res Pract.* 2011; 2011: 870132.
- 164 Spark JI, Delaney CL, Allan RB, Ho MH and Miller MD. Can fish oil supplementation improve endothelial function in asymptomatic offspring of patients with peripheral arterial disease? . *Open Access Journal of Clinical Trials.* 2013; 5: 83 - 91.
- 165 Wang C, Harris WS, Chung M, Lichtenstein AH, Balk EM, Kupelnick B, et al. n-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not alpha-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84: 5-17.
- 166 Kris-Etherton PM, Harris WS and Appel LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation.* 2002; 106: 2747-57.
- 167 Hein TW, Singh U, Vasquez-Vivar J, Devaraj S, Kuo L and Jialal I. Human C-reactive protein induces endothelial dysfunction and uncoupling of eNOS in vivo. *Atherosclerosis.* 2009; 206: 61-8.

APÊNDICE – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO DE PESQUISA: Efeitos da suplementação do óleo de peixe sobre a função endotelial e rigidez vascular em pacientes hipertensos com hipertrigliceridemia: comparação com ciprofibrato.

Projeto de Doutorado da Pós Graduação em Ciências Médicas

Investigador Principal: Marcela de Abreu Casanova

Orientador: Prof. Dr. Mario Fritsch T. Neves

Instituição: Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE/UERJ) e Policlínica Piquet Carneiro (PPC)

O(A) Sr(a). está sendo convidado(a) para participar de uma pesquisa. Antes de decidir participar, é importante que entenda por que a pesquisa está sendo feita, quais são os passos do estudo e os possíveis riscos e benefícios que podem lhe causar.

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS: É bem conhecida a associação existente entre níveis elevados de triglicerídeos e a doença cardiovascular. Quando associada à hipertensão arterial, pode oferecer efeito aditivo para aumentar o risco de complicações para o coração. Os fibratos e as cápsulas de óleo de peixe têm mostrado um bom efeito na redução dos níveis de triglicerídeos no sangue, atuando como um fator protetor contra doenças cardiovasculares. O objetivo principal deste estudo é comparar os fibratos com a suplementação do ômega 3 presente no óleo de peixe na capacidade de melhorar a estrutura e a função dos vasos sanguíneos de pacientes hipertensos com hipertrigliceridemia.

PROCEDIMENTOS: Os exames que fazem parte da sua rotina de tratamento serão realizados por profissionais treinados e capacitados (médico, nutricionista e técnico de enfermagem). A avaliação nutricional, a coleta de sangue, a medida da pressão arterial e os exames para avaliar o funcionamento dos vasos sanguíneos serão agendados de acordo com a sua disponibilidade. Todos os participantes serão esclarecidos no início e no decorrer do estudo sobre os exames que serão submetidos e sobre o tratamento a ser realizado.

CUSTOS, NÃO REMUNERAÇÃO E COMPENSAÇÃO: Sua participação neste estudo não terá nenhum custo adicional e não será remunerada.

RISCOS E BENEFÍCIOS: Como todos os exames que você realizará não serão invasivos, não há riscos relacionados à coleta de informações para este estudo.

CONFIDENCIALIDADE: As normas brasileiras garantem o sigilo dos seus dados. Todas as informações de pesquisa obtidas durante este estudo, proveniente de registros médicos e dados pessoais, são confidenciais. Sua identidade pessoal, quer dizer, seu nome, endereço e outros dados, permanecerão sob sigilo, no Hospital, mesmo que os dados possam vir a ser publicados/divulgados em artigos científicos.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA: Sua participação é totalmente voluntária; você não é obrigado (a) a participar. Seu tratamento e relacionamento com o médico não serão afetados pela decisão de participar ou não deste estudo. Caso decida participar, receberá este termo de consentimento para assinar em duas vias. Uma ficará com você e outra com o pesquisador responsável. Você ainda tem liberdade para deixar o estudo a qualquer momento sem precisar se explicar por que decidiu sair. Caso você recuse participar deste estudo, você não será penalizado de nenhuma forma e sua decisão não prejudicará qualquer cuidado médico ao qual você tem direito.

OUTRAS INFORMAÇÕES IMPORTANTES: O Investigador Principal deste estudo é a **Marcela de Abreu Casanova**, que pode ser encontrada na **Av. 28 de Setembro, 77 – sala 329 e pelo telefone (21) 2868-8484**. Se você tiver dúvidas em relação aos seus direitos como participante da pesquisa entre em contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto na Av. 28 de Setembro, 77 – Térreo e no telefone (21) 2868-8253 ou fax (21) 2264-0853 ou e-mail: cep-hupe@uerj.br.**

Eu _____, declaro estar ciente do que foi explicitado nos parágrafos anteriores do presente termo e concordo em participar desse estudo. As minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente.

Assinatura do paciente: _____ **Data:** _____ / _____ / _____

Nome da Pesquisadora: _____

Assinatura da pesquisadora: _____ **Data:** _____ / _____ / _____

ANEXO A – Idade vascular baseada no escore do risco de Framingham

General CVD Risk Prediction Using Lipids

Sex:
 M F

Age (years):

Systolic Blood Pressure (mmHg):

Treatment for Hypertension:
 Yes No

Current smoker:
 Yes No

Diabetes:
 Yes No

HDL:

Total Cholesterol:

Calculate

Your Heart/Vascular Age: 72

10 Year Risk

	Your risk	
	9.6%	
	4.2%	Normal
	2.1%	Optimal

ANEXO B — Estimativa do risco de doença cardiovascular aterosclerótica

ASCVD Risk Estimator*

10-Year ASCVD Risk		Lifetime ASCVD Risk	
		10.8% calculated risk	50% calculated risk
		3.6% risk with optimal risk factors**	5% risk with optimal risk factors
Recommendation Based On Calculation ➔			
Gender	Age	Race	
<input checked="" type="button"/> Male <input type="button"/> Female	55	<input checked="" type="radio"/> White <input type="radio"/> African American <input type="radio"/> Other	
HDL - Cholesterol (mg/dL)	Total Cholesterol (mg/dL)	Systolic Blood Pressure	
40	230	140	
Diabetes	Treatment for Hypertension	Smoker	
<input type="radio"/> Yes <input checked="" type="radio"/> No	<input type="radio"/> Yes <input checked="" type="radio"/> No	<input type="radio"/> Yes <input checked="" type="radio"/> No	

ANEXO C — Aprovação do comitê de ética em pesquisa



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**



Rio de Janeiro, 08 de Junho de 2011

Do: Comitê de Ética em Pesquisa

Prof.: Wille Oigman

Para: Aut. Marcela de Abreu Casanova – Orient. Prof. Mário Fritsch T. Neves

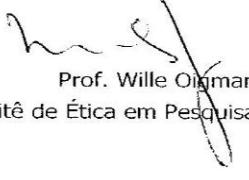
Registro CEP/HUPE: 2948/2011 (este número deverá ser citado nas correspondências referentes ao projeto)

CAAE: 0097.0.228.000-11

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, após avaliação, considerou o projeto, "EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DO ÓLEO DE PEIXE NA ESTRUTURA E NA FUNÇÃO DO SISTEMA VASCULAR DE PACIENTES HIPERTENSOS" aprovado, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.

O Comitê de Ética solicita a V. Sª., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.


Prof. Wille Oigman
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
HUPE/UERJ

ANEXO D — Registro no *clinical trials*

ClinicalTrials.gov
A service of the U.S. National Institutes of Health

Example: "Heart attack" AND "Los Angeles"
Search for studies:
[Advanced Search](#) | [Help](#) | [Studies by Topic](#) | [Glossary](#)

Find Studies ▾ About Clinical Studies ▾ Submit Studies ▾ Resources ▾ About This Site ▾

Home > Find Studies > Study Record Detail Text Size ▾

Fish Oil Supplementation and Vascular Function in Hypertensive Patients With Hypertriglyceridemia

Verified November 2011 by Hospital Universitario Pedro Ernesto.
Recruitment status was Recruiting

Sponsor:
Hospital Universitario Pedro Ernesto

Collaborator:
Rio de Janeiro State Research Supporting Foundation (FAPERJ)

Information provided by (Responsible Party):
Mario Fritsch Neves, Hospital Universitario Pedro Ernesto

ClinicalTrials.gov Identifier:
NCT01480687

First received: June 22, 2011
Last updated: November 23, 2011
Last verified: November 2011
[History of Changes](#)