

## AVALIAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO SANGUÍNEO DE ATLETAS CORREDORES NO ENSAIO ERGOESPIROMÉTRICO DE BRUCE UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Francielle Pasqualotti Meinhardt<sup>1</sup>, Hildegard Hedwig Pohl<sup>2</sup>, Miriam Beatris Reckziegel<sup>3</sup>, Valeriano Antonio Corbellini<sup>4</sup>

### RESUMO

Os constituintes do perfil lipídico compõem o sangue e são importantes marcadores bioquímicos de doenças cardiovasculares, que é reconhecida como grande causa de morbidade e mortalidade. Para um diagnóstico mais amplo das possíveis alterações do perfil lipídico se apresenta o método da espectroscopia no infravermelho (FTIR) que consiste de uma técnica analítica que envolve a identificação de misturas complexas. Este estudo tem como objetivo avaliar a aplicação da espectroscopia de infravermelho na obtenção de dados do perfil lipídico de atletas corredores. Trata-se de um estudo analítico observacional comparativo, tendo como método de referência os ensaios enzimáticos baseados na reação de Trinder, comparados à espectroscopia no infravermelho por reflectância difusa com Transformada de Fourier (DRIFTS), com auxílio das ferramentas quimiométricas de análise exploratória por agrupamento hierárquico (HCA) e análise preditiva por mínimos quadrados parciais (PLS) para previsão destes marcadores bioquímicos. Foram sujeitos 14 atletas da equipe de Atletismo da UNISC, de 18 a 30 anos, de ambos os sexos, avaliados em repouso e após o teste ergoespirométrico de Bruce. Os resultados apontam que, na avaliação de atletas, a técnica de infravermelho (DRIFTS) juntamente com o PLS, foi adequada para a construção de modelos de calibração e na definição da correlação entre testes bioquímicos padrões no perfil lipídico e na determinação pelo infravermelho. Nessa perspectiva, considera-se possível a utilização da FTIR na obtenção de dados que determina o perfil lipídico em amostras de sangue total em atletas.

**Palavras-Chave:** Lipídios, doenças cardiovasculares, espectroscopia no infravermelho, quimiometria.

### EVALUATION OF BLOOD LIPID PROFILE IN THE CORRIDORS OF ATHLETES OF BRUCE ERGOSPIROMETRY TEST USING INFRARED SPECTROSCOPY IN

### ABSTRACT

The constituents of the blood lipid profile component and are important biochemical markers of cardiovascular disease, which is recognized as major cause of morbidity and mortality. For a broader diagnosis of possible changes in lipid profile presents the method of infrared spectroscopy (IR) that consists of an analytical technique that involves the identification of complex mixtures. This study aims evaluate the application of infrared spectroscopy to obtain data lipid profile of athletes. This is an analytical study comparative observational, with the reference method tests enzyme based on the Trinder reaction, and compared to spectra Diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy (DRIFTS), and using the tools of multivariate analysis, being analysis exploratory by hierarchical clustering (HCA) and predictive analysis by least partial squares (PLS) for prediction of biochemical markers. as HCA and PLS. The subjects were 14 athletes in the Athletics team UNISC, 18-30 years, of both sexes evaluated at rest and after cardiopulmonary exercise test Bruce. The results indicate that the

<sup>1</sup> Acadêmica do Curso Farmácia da Universidade de Santa Cruz do Sul. fran2403@hotmail.com

<sup>2</sup> Doutora em Desenvolvimento regional – Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), Docente do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde – Mestrado da UNISC. hpohl@unisc.br

<sup>3</sup> Doutoranda em Ciências Aplicadas a La Actividad Física y Salud da Universidade de Córdoba/ES. Docente da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC). miriam@unisc.br

<sup>4</sup> Doutor em Química: área de concentração: Síntese Orgânica – Universidade Federal do Rio Grande Sul – UFRGS; Docente do Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde – Mestrado da UNISC. valer@unisc.br

evaluation of athletes, the technique infrared (DRIFTS) coupled with the PLS was adequate for the construction of calibration models and determining the correlation between biochemical patterns in the lipid profile in determining the infrared, with correlation. From this perspective, it is possible to use the FTIR obtaining data that determines the lipid profile in whole blood samples in athletes.

**Keywords:** Lipid, cardiovascular disease, infrared, multivariate analysis.

## INTRODUÇÃO

O perfil lipídico é constituído pelas concentrações de triglicerídeos, colesterol total, HDL e LDL no sangue dos indivíduos e deve ser controlado, pois concentrações alteradas pode estar relacionadas à certas doenças<sup>1,2</sup>. Os lipídeos são componentes sanguíneos importantes, pois além de atuarem como fontes energéticas, desempenham outras funções como um componente da membrana celular, isolante na condução nervosa e precursores hormonais<sup>3</sup>. Também são utilizados para a produção de energia, principalmente os ácidos graxos livres<sup>4</sup>.

O colesterol é sintetizado por quase todos os tecidos, principalmente no fígado, e é basicamente transportado pelas lipoproteínas 3,5, podendo ser de origem exógena, (proveniente da dieta) ou endógena (sintetizado a partir da Acetil-CoA<sup>6</sup>). A fração LDL tem como função o transporte do colesterol do fígado para o plasma<sup>5</sup> e fração HDL faz o processo inverso, atuando na captação do colesterol celular e conduzindo-o até o fígado onde é catabolizado e eliminado<sup>3,5</sup>. Os triglicerídeos são sintetizados no fígado e intestino, se acumulando principalmente nas células adiposas<sup>6,4,5</sup>, sendo uma forma eficiente de armazenamento de energia<sup>7</sup>.

O controle do metabolismo lipídico no homem é feito por hormônios, insulina e glucagon, no período pós prandial e de jejum, respectivamente<sup>7</sup>. Este controle é baseado na dieta do indivíduo, pois a alteração das concentrações, especialmente a elevação dos níveis de colesterol e triglicerídeos, associados a doenças como a hipertensão e obesidade, constituem-se fatores de risco no aumento das doenças cardiovasculares como a aterosclerose (formação de ateromas) que causa a restrição do fluxo sanguíneo, levando a consequências patológicas como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença vascular periférica. As concentrações elevadas de HDL atuam como um fator de proteção para estas doenças, pois retiram este lipídeo da circulação sanguínea<sup>8,9</sup>. Os casos de dislipidemias, primeiramente, devem ser tratados através de programas de prevenção e educação, e se necessário com intervenções medicamentosa<sup>10,11,12</sup>.

Para um diagnóstico mais preciso das possíveis alterações metabólicas em fluidos biológicos torna-se necessário o uso de técnicas analíticas mais potentes entre as quais destaca-se a espectroscopia FTIR caracterizada pela identificação de compostos orgânicos e inorgânicos bem como análise de misturas complexas com base em movimentos vibracionais. A região denominada por infravermelho corresponde à região do espectro situada na faixa de onda de 14290 a 200  $\text{cm}^{-1}$ , sendo que a faixa de maior utilidade está situada entre 4.000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ , denominada infravermelho médio (MIR)<sup>13,14</sup>. A caracterização de uma substância submetida a esta técnica se dá através da formação de um espectro caracterizado por bandas oriundas da interação da radiação infravermelha com grupos funcionais das moléculas presentes no fluido biológico em estudo<sup>15</sup>.

A aplicação clínico-laboratorial de espectroscopia no infravermelho é bastante utilizada, pois apresenta como vantagem um espectro de maior sensibilidade ou menor razão sinal ruído, além de ser uma técnica simples e rápida, não destrutiva, capaz de oferecer alta precisão e exatidão para análises de amostras biológicas, apresentando a necessidade de amostras mais reduzidas, eliminando a utilização de reagentes. A espectroscopia do MIR é uma poderosa ferramenta da análise química para detectar constituintes biológicos, tais como DNA/RNA, proteínas, hidratos de carbono, lipídeos, entre outros<sup>16,17,14,18</sup>.

Os espectros de FTIR contêm muitas bandas sobrepostas, a sua interpretação não pode ser feita visualmente, e sim por ferramentas analíticas multivariadas<sup>19,18</sup>. Estes métodos de

calibração multivariada estão sendo aplicados com sucesso, principalmente nas técnicas espectroscópicas, a fim de construir modelos para análises específicas em amostras biológicas. A Análise Discriminante (DA) é um algoritmo particularmente popular que se caracteriza como uma análise de agrupamento baseado em método e envolve a projeção de dados. Os métodos não supervisionados, como análise por agrupamento hierárquico (HCA) que é usado para encontrar diferenças e semelhanças entre os espectros e também os métodos da regressão que são intrinsecamente lineares, têm sido propostos para a análise multicomponentes, entre os quais encontram-se o de mínimos quadrados parciais (PLS)<sup>20,21,19</sup>.

Devido à grande demanda destes testes em laboratórios e sua importância clínica, esse trabalho tem como objetivo geral avaliar a utilização do método de espectroscopia FTIR, para determinação do perfil lipídico de atletas visando oferecer novas possibilidades de acompanhamento do desempenho dos mesmos durante treinamentos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se a presente pesquisa de um estudo analítico observacional comparativo, de determinação de perfil lipídico em adultos, por métodos enzimáticos de referência e por espectroscopia FTIR e se encontra inserida no projeto: “Correlação entre perfil bioquímico sanguíneo e desempenho de atletas corredores, no ensaio ergoespirométrico de Bruce e em provas específicas utilizando espectroscopia no infravermelho”, que é realizado na Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa pelo protocolo 2280/09.

Neste estudo foram realizadas duas coletas sanguíneas em 14 atletas da equipe de Atletismo da UNISC, incluindo adultos de 18 a 30 anos, de ambos os sexos e de várias modalidades, que aderiram voluntariamente o projeto.

Os sujeitos da pesquisa foram submetidos à coleta (realizada por pessoal capacitado) de 5 mL de sangue total com *vacutainer*® sem anticoagulante em repouso e 10 min após a aplicação do teste de força através do protocolo de Bruce. Logo em seguida, foram recolhidas três alíquotas de 5 µL do sangue total de cada coleta e introduzidos em tubos eppendorfs de 2 mL com 150 mg de brometo de potássio grau espectroscópico (Vetec) sendo o material liofilizado por 2 horas a  $1 \times 10^{-3}$  torr<sup>22</sup>.

O restante das amostras de sangue foi submetido à incubação a 37°C por 15 min e centrifugação a 3500g por 15 min para obtenção do soro o qual foi armazenado a -20°C até a determinação de triglicerídeos, colesterol total e colesterol HDL pelos métodos de referência baseados na determinação fotocolorimétrica de antipirilquinonimina conforme protocolos dos kits nº de catálogo 76, 13 e 87, respectivamente, da LABTEST®<sup>23,24,25</sup>. LDL foi calculado pela fórmula de Friedewald.

Os espectros das amostras de sangue dos atletas foram adquiridos em triplicatas utilizando acessório de reflectância difusa com fonte de luz monocromática (PIKE Technologies Madison, USA) conectado a um espectrofotômetro Nicolet Magna 550 FT-IR (Thermo Nicolet Coporation, Madison, USA) com 32 varreduras na faixa 4000-600 cm<sup>-1</sup>, 4 cm<sup>-1</sup> de resolução. Todos os espectros foram adquiridos em escala de absorbância e normalizados entre 0 e 1, utilizando o programa computacional OMNIC® E.S.P vol 4.1.

Foi utilizada a avaliação multivariada conduzida pelo programa computacional PIROUETTE® 3.11 da INFOMETRIX, com aplicação dos algoritmos de análise por agrupamento hierárquico (HCA) das replicatas e de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) para prever os valores dos parâmetros estudados usando como conjunto de previsão as amostras excluídas nos respectivos modelos de validação cruzada (mútua exclusão de um por vez). A seleção do melhor modelo PLS-DRIFTS para cada parâmetro bioquímico analisado baseou-se (pela ordem de prioridade) nas seguintes figuras de mérito: valor de coeficiente de correlação (R<sup>2</sup>) mais próximo de 1 e valor de erro de validação cruzada (*root mean square error of cross validation*- RMSECV) mais próximo de zero.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 se encontram descritos os dados dos atletas participantes do projeto, como a sua respectiva modalidade e idade. Os resultados de peso e altura foram obtidos antes da realização do protocolo de Bruce e através da divisão do peso pela altura<sup>2</sup> foi calculado o índice de massa corporal (IMC) dos atletas. Esta variável apresentou médias de 20,95 e 21,17, correspondendo, respectivamente, ao sexo masculino e feminino ambas classificadas como “faixa recomendável”.

**Tabela 1** - Dados dos atletas que foram submetidos ao protocolo de Bruce realizado em novembro de 2009.

Nº	MODALIDADE	IDADE (anos)	SEXO	ALTURA (cm <sup>-1</sup> )	PESO (Kg)	IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	IMC (class.)
1	Fundista	16	masculino	1,79	58,40	18,13	BP
2	Velocista (100 e 200m)	18	masculino	1,68	62,80	22,12	FR
3	Atleta	19	masculino	1,84	70,70	20,88	FR
4	Atleta	16	masculino	1,64	51,20	19,04	FR
5	Fundista	29	masculino	1,73	68,10	22,62	FR
6	Fundista	29	masculino	1,72	65,20	22,04	FR
7	Fundista	14	masculino	1,75	66,50	21,84	FR
<b>Média</b>		<b>20,14</b>		<b>1,74</b>	<b>63,27</b>	<b>20,95</b>	<b>FR</b>
8	400m	19	feminino	1,66	59,10	21,32	FR
9	Salto em distância e triplo	20	feminino	1,68	59,60	21,12	FR
10	Fundista	16	feminino	1,61	49,00	18,90	FR
11	Arremesso de peso	19	feminino	1,68	79,60	28,20	S
12	Meio fundista	19	feminino	1,65	45,20	16,60	BP
13	Marcha	21	feminino	1,67	62,60	22,45	FR
14	Atleta	34	feminino	1,72	58,30	19,71	BP
<b>Média</b>		<b>21,14</b>		<b>1,67</b>	<b>59,06</b>	<b>21,17</b>	<b>FR</b>

Legenda: IMC: Índice de massa corpórea. CLAS: Classificação do IMC; BP = baixo peso; FR = faixa recomendável; S = sobrepeso. Valores em negrito são as médias dos parâmetros calculados.

As médias obtidas, somando-se os valores no repouso e pós exercício, nos testes bioquímicos de triglicérides, colesterol total, colesterol HDL e colesterol LDL são, respectivamente, 79,75; 161,60; 49,57 e 96,08 mg dL<sup>-1</sup>. No entanto, quando se observa os valores de repouso as médias são 77,44; 162,88; 48,95 e 98,46 mg dL<sup>-1</sup>, já após o protocolo de Bruce foi obtidos os resultados de 82,06; 160,33; 50,19 e 93,71 mg dL<sup>-1</sup>. Ao comparar essas duas médias observa-se o aumento na média dos parâmetros de triglicérides e colesterol HDL e diminuição nos outros parâmetros (colesterol total e LDL), o que é possível visualizar na tabela a seguir.

**Tabela 2** - Parâmetros bioquímicos (em mg dL<sup>-1</sup>) avaliados em amostras de atletas corredores do Projeto de Atletismo - UNISC durante avaliação espiroergométrica no protocolo de Bruce, com destaque as valores considerados elevados pelas valores de referência.

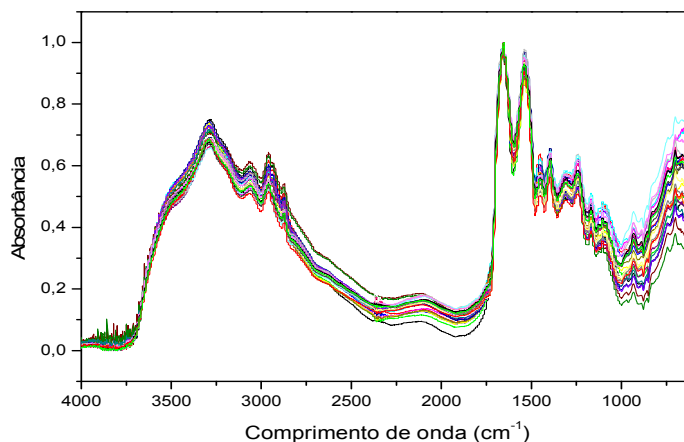
Atletas	Triglicérides		Colesterol Total		Colesterol HDL		Colesterol LDL	
	Repouso	Final	Repouso	Final	Repouso	Final	Repouso	Final
01	47,5±1,4	66,4±3,2	185,7±10,6	172,4±9,3	57,1±1,2	57,7±0,5	119,06	101,37
02	111,1±1,2	82,1±7,3	142,4±9,6	139,0±5,8	40,3±0,8	45,1±4	79,9	77,49
03	77,7±6,6	90,1±6,9	153,3±12,8	162,2±10,9	46,7±1,5	48,3±1,5	91,12	95,86

<b>04</b>	68,0±1,8	100,5±5,5	120,9±10,6	113,1±9,5	<b>39,6±1,3</b>	<b>39,0±3,1</b>	67,74	54,02
<b>05</b>	70,4±3,8	94,8±3,2	<b>276,0±45,9</b>	196,2±6,5	44,3±2,1	52,2±0,1	<b>217,63</b>	125,13
<b>06</b>	110,9±3,7	93,8±4,6	163,9±8,4	172,7±10,9	43,9±3,7	45,7±2,8	97,83	108,33
<b>07</b>	28,9±1,3	44,6±1,9	118,2±4,2	125,7±7,3	43,9±2,0	44,0±1,4	68,49	72,76
<b>08</b>	<b>153,5±9,5</b>	129,2±7,9	<b>208,5±8,2</b>	187,0±2,5	49,5±2,2	48,5±0,5	128,37	112,37
<b>09</b>	66,0±3	65,6±0,7	198,0±2,9	<b>209,5±4,6</b>	61,9±1,7	62,2±0,3	122,82	134,25
<b>10</b>	52,3±2,5	54,7±0,7	127,4±6,3	131,5±4,3	56,9±1,6	59,4±2,7	60,07	61,19
<b>11</b>	66,2±6,4	92,6±5,7	127,7±11,3	136,9±4,7	57,9±2,2	55,4±2,0	56,61	62,35
<b>12</b>	78,9±7,4	44,7±3,6	124,1±2,7	139,3±8,1	44,6±2,5	45,2±1,3	63,75	85,23
<b>13</b>	78,9±7,4	93,0±7,5	176,8±7,4	183,0±8,4	45,1±1,2	48,4±0,4	115,94	115,92
<b>14</b>	73,9±5,3	96,6±6,3	157,4±3,0	176,1±8,4	53,6±1,6	51,7±0,7	89,06	105,71
<b>Média</b>	<b>77,44</b>	<b>82,05</b>	<b>162,88</b>	<b>160,33</b>	<b>48,95</b>	<b>50,19</b>	<b>98,46</b>	<b>93,71</b>
<b>Média Geral</b>	<b>79,75</b>		<b>161,60</b>		<b>49,57</b>		<b>96,08</b>	

LDL calculado pela fórmula de Friedewald; VALORES DE REFERÊNCIA: triglicérides(TG): >150 mg dL<sup>-1</sup>; Colesterol Total(CT): desejável < 200 mg dL<sup>-1</sup>, limítrofes: 200 a 239 mg dL<sup>-1</sup> e alto > 240 mg dL<sup>-1</sup> Colesterol HDL: entre 40 a 60 mg dL<sup>-1</sup> e Colesterol LDL: desejável <130 mg dL<sup>-1</sup>, limítrofe: 130 a 159 mg dL<sup>-1</sup> e elevados >160 mg dL<sup>-1</sup>. Em negrito estão os valores que encontram-se a cima dos valores de referência.

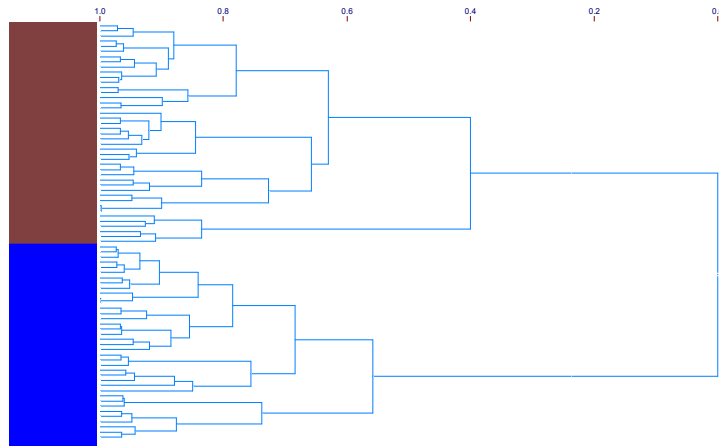
A análise de todos os parâmetros estudados apresenta desvio padrão dentro da variabilidade aceitável e descrita pelos protocolos dos testes realizados. Também todos os valores de triglicérides, colesterol total e colesterol HDL estavam dentro dos limites aceitáveis pela fórmula de Friedewald para obtenção dos valores de LDL.

Na figura 1 encontra-se o conjunto de todos os espectros dos atletas investigados, podendo se observar uma homogeneidade entre os mesmos, o que tornou necessária a utilização de análise multivariada como forma de obter informações com poder discriminatório.

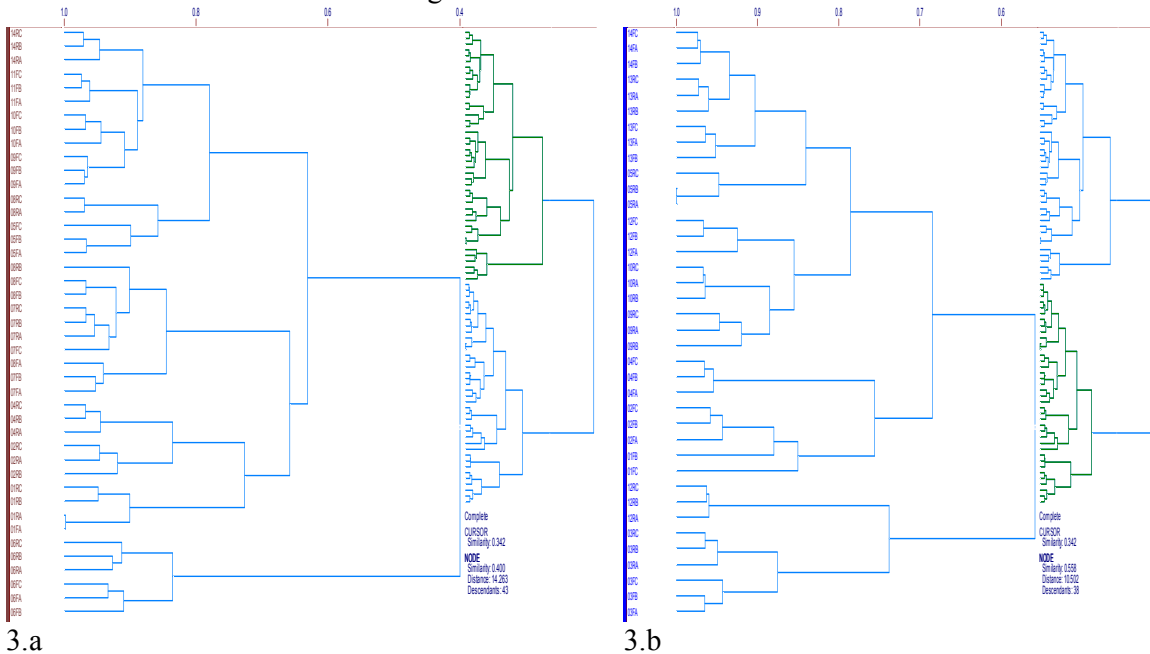


**Figura 1** - Conjunto de espectros de infravermelho médios de sangue total de atletas submetidos ao ensaio espiroergométrico de Bruce.

A aplicação de análise por agrupamento hierárquico (HCA) gerou um dendrograma (Figuras 2 e 3) onde foi possível visualizar o grau de reprodutibilidade das replicatas de leituras espectrais, se observa a formação de dois grupos com níveis de similaridade de 40%, mantendo próxima entre si as replicatas de uma mesma amostra, e todas dentro de um mesmo grupo.



**Figura 2** - Dendrograma fornecido pela HCA das triplicatas de espectros no infravermelho de sangue total de amostra de atletas.



**Figura 3** - Dendrogramas referente aos grupos do HCA das triplicatas sangue total de amostra de atletas. 3.a Dendrograma do primeiro grupo (superior) 3.b Dendrograma do segundo grupo (inferior) do HCA.

O método se mostrou reprodutível, entretanto, as replicatas geradas foram de forma aparentes no que se refere a três leituras sequenciais de uma mesma amostra de sangue total pela técnica de DRIFTS. Apesar da boa reprodutibilidade do método, sugere-se atenção na etapa de impregnar a amostra de sangue total no KBr, devido a suscetibilidade a variações na estabilidade da mistura até o momento da análise. Na literatura não foram observados relatos de problemas com a instabilidade do sangue, pois não são utilizadas amostras de sangue total, e sim soro ou plasma<sup>13, 20</sup>.

Um espectro de infravermelho de sangue contém muitas informações importantes e não há necessidade de utilização de todas as bandas para descrevê-las, sendo necessário, então, selecionar aquelas onde há maior quantidade de informação química relevante<sup>19</sup>. Este princípio, junto com a exclusão de amostras consideradas *outliers*, foi aplicado aos conjuntos de dados em estudo sendo obtidos os modelos de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) para alguns parâmetros bioquímicos da amostra populacional, descritos na Tabela 3 junto com as respectivas figuras de mérito.

**Tabela 3** - Resultados de modelagem de PLS-DRIFTS entre amostras de sangue total e níveis séricos de triglicerídeos, colesterol total e colesterol HDL de atletas.

Modelo	Região Espectral (cm <sup>-1</sup> )	RMSECV (mg dL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	VRA (%)	VL
TG-C	4000-2400 e 2200-400	23	0,55	99	9
TG-O	3150-2960 e 1700-1400	12,2	0,88	99,8	8
CT-C	4000-2400 e 2200-400	26	0,60	98	5
CT-O	3150-2700	9,3	0,94	98	8
HDL-C	4000-2400 e 2200-400	7,20	0,04	99	10
HDL-O	4000-3600 e 3290-3060	3,8	0,82	91,8	5

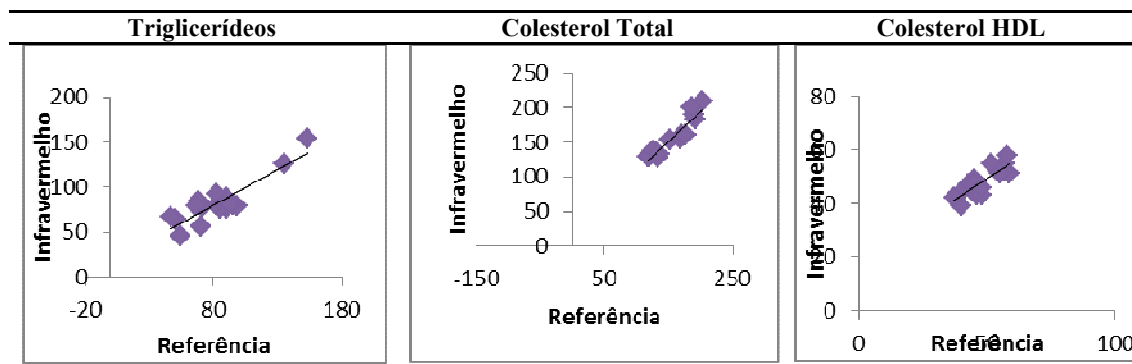
RMSECV = erro de validação cruzada; R<sup>2</sup> = coeficiente de correlação de validação cruzada; VRA = variância relativa acumulada; VL = variáveis latentes; TG = triglicerídeos; CT = colesterol total; HDL = colesterol HDL. C = Faixa espectral completa; O = Faixa espectral otimizada.

Em todos os três modelos otimizados observa-se uma melhora significativa na capacidade preditiva dos componentes do perfil lipídico mostrando que parte da informação apresentada pelo conjunto de espectros FTIR de sangue total não tem relação com os níveis séricos dos respectivos biomarcadores. Em relação às regiões espectrais selecionadas observa-se, em todos os modelos, a contribuição total ou parcial de frequências vibracionais características de lipídios incluindo 3020-3000 (ν=CH de ácidos graxos insaturados e ésteres de colesterol), 3000-2950 cm<sup>-1</sup> (ν<sub>as</sub>CH<sub>3</sub> e ν<sub>as</sub>CH<sub>2</sub> de ésteres de colesterol e lipídios) e 2950-2880 cm<sup>-1</sup> (ν<sub>s</sub>CH<sub>3</sub> e ν<sub>s</sub>CH<sub>2</sub> de ácidos graxos, ésteres, glicerol, fosfolipídios e triglicerídeos). Neste contexto, o modelo preditivo de colesterol total é o mais simples e seletivo constituído por contribuições de todas as vibrações acima referidas sem mais nenhuma outra informação estrutural provinda do infravermelho médio<sup>18</sup>.

Já o modelo de colesterol HDL considera apenas parte da contribuição de ν=CH de lipídios insaturados mas inclui informações parciais sobre movimentos vibracionais de proteínas (ν=N-H, a 3700-3400 cm<sup>-1</sup>) mostrando a grande contribuição deste componente bioquímico na organização da estrutura desta lipoproteína.

Por outro lado, o modelo de triglicerídeos é o mais complexo e inclui também informações de proteínas, porém de outra natureza, diferente daquelas observadas no modelo de colesterol HDL. As contribuições de informação estrutural protéica no modelo de previsão de triglicerídeos de atletas, com base nos espectros FTIR de sangue total, incluem informações das bandas de amida I (νC=O a 1720-1600 cm<sup>-1</sup>) e II (δN-H a 1600-1480cm<sup>-1</sup>). Entretanto, este modelo é ainda mais simples que o encontrado por Shaw e Mantsch<sup>13</sup>, com base em espectros FTIR de soro, o qual incluiu as faixas espectrais de 3000-2800, 1800-1700 e 1500-900 cm<sup>-1</sup>.

A representação dos gráficos de correlação entre os valores preditos pelos respectivos modelos otimizados e os valores experimentais encontram-se representados na Figura 4.



**Figura 4** – Gráficos de correlação de modelagem de regressão PLS-DRIFTS otimizados, entre amostras de sangue total e triglicerídeos séricos, colesterol total e colesterol HDL, para atletas.

A calibração do modelo foi baseada na recuperação de informações analíticas quantitativas a partir dos espectros<sup>20</sup>. Os modelos de calibração são desenvolvidos separadamente para cada analito alvo. Por fim cada modelo é validado através de comparação dos valores previstos pelo PLS com os valores de referência.

Para calibração dos modelos, foram previstas as concentrações de algumas amostras (tabelas 4), as quais foram inicialmente descartadas na elaboração do modelo em questão. Para as previsões dos valores de concentração de triglicerídeos, colesterol total e colesterol HDL, obteve-se uma correlação de 0,95, 0,15 e 0,10 e um erro 7,4, 30 e 6,9 mg dL<sup>-1</sup> respectivamente. Podendo observar um bom modelo para a previsão das amostras de triglicerídeos, considerando uma alta correlação aliada a um baixo erro, alcançando o objetivo frente a este parâmetro. Já para as previsões de colesterol total e HDL os valores obtidos não foram reprodutíveis, mostrando uma baixa correlação, e no caso do colesterol total aliado a um alto erro de previsão.

**Tabela 4** - Correlação de valores entre método referência e infravermelho na concentração sérica de triglicerídeos, colesterol total e colesterol HDL em atletas.

Parâmetros	Atletas	Referência (mg dL <sup>-1</sup> )	Infravermelho (mg dL <sup>-1</sup> )
TG	02R	116,09	116,75
TG	04F	97,41	92,51
TG	05F	94,76	103,92
TG	09R	68,98	71,39
TG	06R	110,88	104,19
TG	10F	54,68	54,27
TG	07F	44,65	46,92
TG	14R	73,92	85,53
TG	14F	97,16	85,53
CT	01F	178,88	178,34
CT	02R	142,42	178,35
CT	02F	143,10	178,40
CT	05R	243,78	178,40
CT	09R	197,96	178,40
CT	09F	209,54	178,40
CT	06R	169,68	178,40
CT	06F	180,41	178,40
CT	11F	139,52	178,40
CT	14R	157,41	166,48
CT	14F	176,15	166,48
HDL	05R	43,14	50,90
HDL	08R	49,46	50,94
HDL	08F	48,53	50,90
HDL	09R	61,94	60,00
HDL	09F	62,17	50,95
HDL	06R	41,98	51,00
HDL	10R	56,90	51,00
HDL	07F	43,95	50,90
HDL	14R	53,57	52,90
HDL	14F	51,71	52,90

TG = triglicerídeos; CT = colesterol total; HDL = colesterol HDL; R: Repouso; F: Final do exercício.

Os resultados apontam que, na avaliação de atletas, a técnica de infravermelho (DRIFTS) juntamente com o método de regressão multivariado por mínimos quadrados (PLS) foi adequado para a construção de modelos de calibração e para a dosagem de marcadores bioquímicos de perfil lipídico. Nessa perspectiva, considera-se possível a utilização da FTIR na obtenção de dados que determinam o perfil lipídico em amostras de sangue total em atletas. Contudo, é uma aplicação limitada e dependente de fatores operacionais envolvidos nas etapas de coleta e disposição das amostras de sangue em presença do KBr, requerendo ainda métodos de análises multivariadas para melhor previsão dos resultados. Por fim, a técnica estudada se mostra promissora no monitoramento da evolução da aptidão física e desempenho de atletas



durante diferentes testes de esforço, inclusive em provas específicas de atletismo, o que está sendo desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa.

Agradecimentos:

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela bolsa de Iniciação Científica.

## REFERÊNCIAS

1. Moreira RO, et al. Perfil lipídico de pacientes com alto risco para eventos cardiovasculares na prática clínica diária. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, 50(3), 481-489, 2006.
2. Lerario AC, BETTI RTB, Wajchenberg BL. O perfil lipídico e a síndrome metabólica. *Revista da Associação Médica Brasileira*. [online]. 55(3), 232-233, 2009
3. Motta VT. *Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações*. 4. ed. São Paulo: Robe Editorial, 419 p, 2003.
4. Campbell MK, Ferrell SO. *Bioquímica*. São Paulo: Thomson, v.3, 2007.
5. Kanaan S, Garcia MAT. *Bioquímica clínica*. São Paulo: Atheneu, 241, 2008.
6. Baynes JW, Dominiczack MH. *Bioquímica médica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 716 p. 2007.
7. Devlin TM (Coord). *Manual de bioquímica: com correlações clínicas*. São Paulo: E. Blucher, p. 1186, 2007.
8. Coelho VG. et al. Perfil lipídico e fatores de risco para doenças cardiovasculares em estudantes de Medicina. *Sociedade Brasileira de Cardiologia*, 85(1), 57-62, 2005.
9. Zanella AM, Souza DRS, Godoy MF. Influência do exercício físico no perfil lipídico e estresse oxidativo. *Arquivos de Ciências e Saúde*. 12(2), 107-112. 2007.
10. Guedes DP, Guedes JERP. Distribuição de gordura corporal, pressão arterial e níveis lipídicos – lipoproteínas plasmáticas. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 70, 93-98, 1998.
11. Dasamo Ana. *Nutrição e exercício na prevenção de doenças*. Rio de Janeiro: Medsi, p.433, 2001.
12. Krauss RM. Lipids and lipoproteins in patients with Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 27, 1496-1504, 2004.
13. Shaw A, Mantsch H. *Infrared spectroscopy in clinical and diagnostic analysis*. Encyclopedia of Analytical Chemistry. 2006.
14. Barbosa LCA. *Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 189p. 2007.
15. Silverstein RM, Webster FX. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 490 p. 2007.
16. Hall JW, Pollard A. Near-Infrared Spectrophotometry: A New Dimension in Clinical Chemistry. *Clinical Chemistry*, 38(9), 1623-1631, 1992.
17. Greff Jan van der, Stroobant PH e Heijden Rob van der, The role of analytical sciences in medical systems biology. *Current Opinion in Chemical Biology*, 8(5), 559–565, 2004.
18. Wang L, Mizaikoff B. Application of multivariate data-analysis techniques to biomedical diagnostics based on mid-infrared spectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391(5), 1641-1654, 2008.

19. Ellis DI, Goodacre R. Metabolic fingerprinting in disease diagnosis: biomedical applications of infrared and Raman. *The Analyst*, 131, 875–885, 2006.
20. Escandar Graciela M. et al. A review of multivariate calibration methods applied to biomedical analysis. *Microchemical Journal*, 82, 29-42, 2006.
21. Hollywood K, Brison DR, Goodacre, R., *Metabolomics: Current technologies and future trends*. *Proteomics*, 6, 4716–4723, 2006.
22. Boss, Edinara A., *Modelagem e otimização do processo de liofilização: aplicação para leite desnatado e café solúvel*, D.Sc. Tese, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, Brasil, 2004.
23. Bucolo G, David H. Quantitative determination of plasma triglycerides by the use of enzymes. *Clinical Chemistry*, 19, 476-482, 1973.
24. Alain CC., et al, Enzymatic determination of total plasma cholesterol. *Clinical Chemistry*, 20(4), 470-475, 1974.
25. Friedewald WT, Levy R I, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6), 499-502, 1972.

---

---

*Recebido em Maio de 2010*

*Aceito em Agosto de 2010*

*Publicado em Dezembro de 2010*

---

---