



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**ANTÔNIO AUGUSTO GUIMARÃES LIMA**

**ESTUDO DA CORRELAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE CITOCINAS  
(IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18BP, IL-33 E TNF- $\alpha$ ) E DA ATIVIDADE DA  
MIELOPEROXIDASE COM O GRAU DE OBSTRUÇÃO  
CORONARIANA EM PACIENTES COM HIPÓTESE DIAGNÓSTICA  
DE DOENÇA ISQUÊMICA DO MIOCÁRDIO**

**FORTALEZA**

**2012**

ANTÔNIO AUGUSTO GUIMARÃES LIMA

**ESTUDO DA CORRELAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE CITOCINAS  
(IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18BP, IL-33 E TNF- $\alpha$ ) E DA ATIVIDADE DA  
MIELOPEROXIDASE COM O GRAU DE OBSTRUÇÃO  
CORONARIANA EM PACIENTES COM HIPÓTESE DIAGNÓSTICA  
DE DOENÇA ISQUÊMICA DO MIOCÁRDIO**

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Área de Concentração: Farmacologia Clínica.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro

**FORTALEZA**

**2012**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

- 
- L696e Lima, Antônio Augusto Guimarães.  
Estudo da correlação dos níveis séricos de citocinas (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18BP, IL-33 e TNF- $\alpha$ ) e da mieloperoxidase com o grau de obstrução coronariana em pacientes com hipótese diagnóstica de doença isquêmica do miocárdio / Antônio Augusto Guimarães Lima. – 2012.  
126 f. : il.
- Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2012.  
Área de concentração: Farmacologia Clínica.  
Orientação: Prof. Dr. Ronaldo de Albuquerque Ribeiro.
1. Aterosclerose. 2. Citocinas. 3. Interleucinas. 4. Mieloperoxidase. 5. Isquemia Miocárdica I. Título.

---

CDD: 616.136

ANTÔNIO AUGUSTO GUIMARÃES LIMA

**ESTUDO DA CORRELAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE CITOCINAS (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18BP, IL-33 E TNF- $\alpha$ ) E DA ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE COM O GRAU DE OBSTRUÇÃO CORONARIANA EM PACIENTES COM HIPÓTESE DIAGNÓSTICA DE DOENÇA ISQUÊMICA DO MIOCÁRDIO**

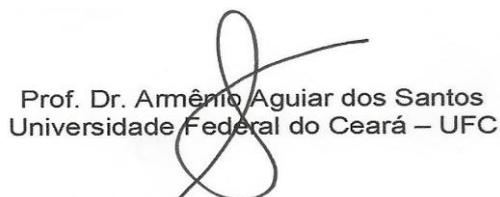
Tese submetida à coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Aprovada em: 31/07/2012.

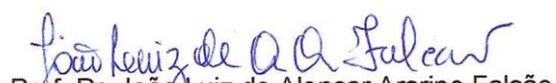
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Ronaldo Albuquerque Ribeiro  
Universidade Federal do Ceará – UFC  
(Orientador)



Prof. Dr. Armênio Aguiar dos Santos  
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. João Luiz de Alencar Araripe Falcão  
Universidade de Fortaleza – UNIFOR



Prof. Dr. Ricardo Pereira Silva  
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. Almino Cavalcante Rocha Neto  
Universidade de Fortaleza – UNIFOR

*Ao meu pai (in memoriam) e à minha mãe pelos ensinamentos que me proporcionaram.*

*À minha esposa Valéria e aos nossos filhos, Tiago, Lucas e Aline que foram co-responsáveis por este trabalho.*

*A todos os meus pacientes que, de uma maneira ou de outra, foram “pacientes” na espera do término deste trabalho.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Ronaldo de Albuquerque Ribeiro**, amigo e orientador, pela paciência e pelo carinho com que me acolheu.

Ao Prof. Dr. **Demóstenes Gonçalves Lima Ribeiro** amigo e companheiro, pelo que devo na embriogênese e co-orientação deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Roberto César Pereira Lima Júnior**, do departamento de fisiologia e farmacologia da UFC e a sua esposa, **Deysi Viviana T. Wong**, pela grande ajuda na metodologia e no esboço final deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Ricardo Pereira Silva**, do departamento de medicina clínica da faculdade de medicina da UFC, pelo carinho e cordialidade quando necessitei dos seus préstimos.

À Sra. **Aura Rhanes Nogueira Yida**, Secretária do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC, pelo modo sempre prestativo e encorajador, quando solicitamos a sua ajuda.

Ao **André** e ao **Bosco**, do Serviço de Hemodinâmica do Hospital Universitário Walter Cantídio, pelo pronta disposição na seleção dos filmes de cateterismo cardíaco.

Ao acadêmico **Marcos Rafael Nogueira Cavalcante** e ao grande profissional, **Rogério Ruscitto do Prado**, pela contribuição nas suas análises estatísticas.

Aos **meus alunos** da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará pela ajuda e compreensão na realização deste trabalho.

Aos acadêmicos de medicina, **Cláudia Ciarlini Martins, Davi Lima Rabelo de Melo, Eduardo de Oliveira Ramalho** e demais componentes da Liga do Coração, pela ajuda e pela compreensão da minha ausência nesses momentos de realização deste trabalho.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> **Helena Serra Azul Monteiro**, aos demais professores, aos colegas e aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC, pelo convívio, pela atenção e pela amizade.

## RESUMO

LIMA, A. A. G. **Estudo da correlação dos níveis séricos de citocinas (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18BP, IL-33 E TNF- $\alpha$ ) e da atividade da mieloperoxidase com o grau de obstrução coronariana em pacientes com hipótese diagnóstica de doença isquêmica do miocárdio.** Tese (Doutorado). Orientador: RIBEIRO, R. A. Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

Aterosclerose é uma doença complexa multifatorial caracterizada pelo acúmulo de células inflamatórias, lipoproteínas e tecido fibroso na parede das grandes e médias artérias. A imunidade inata e adaptativa, com a presença dos leucócitos, principalmente, monócitos e linfócitos, têm uma participação importante nesse processo. Esta participação poderá acontecer pela sinalização com as citocinas e com a liberação da enzima mieloperoxidase (MPO) pelos grânulos citoplasmáticos. Os fatores de risco cardiovasculares (CV) clássicos têm uma função importante na prevenção, porém, a maioria dos pacientes com eventos CV têm um ou nenhum fator de risco. Portanto novos marcadores biológicos são necessários para definir diagnóstico e prognóstico. Esse estudo selecionou pacientes com a hipótese diagnóstica de angina estável (AE) ou síndrome coronariana aguda (SCA), submetidos à coronariografia e avaliados pelo escore de Gensini (EG). Realizados a atividade da MPO, dosagens séricas do Fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucinas (1 $\beta$ , 6, 18bp e 33) (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18bp e IL-33, respectivamente). Em 2 anos realizado revisão de prontuários ou entrevistas por telefone em 93 pacientes desta amostra. Utilizado na análise as variáveis: carga aterosclerótica (aterosclerose em carótidas ou coronárias ou em membros inferiores); quadro clínico em 2 anos (assintomático ou dor torácica ou morte); apresentação clínica (AE ou SCA); eventos cardiovasculares (stent, cirurgia de revascularização miocárdica (CRM), dor torácica ou morte). Os resultados das associações das citocinas e MPO com as variáveis apresentadas demonstraram que a IL-6 relacionou-se em análise univariada com presença de carga aterosclerótica ( $p < 0,014$ ); níveis séricos elevados da IL-18bp associou-se em pacientes com SCA, tanto na análise uni e multivariada ( $p < 0,001$  e  $p < 0,045$  respectivamente); a IL-1 $\beta$  apresentou correlação negativa com o grau do EG na análise univariada e multivariada ( $p < 0,042$  e  $< 0,002$  respectivamente); em uma análise univariada o EG associou-se com pacientes que apresentaram dor torácica ou óbito, submetidos à CRM, com eventos CV e com SCA ( $p < 0,001$  em todos). Na análise multivariada os pacientes com EG mais elevados submeteram-se mais frequentemente a CRM e apresentaram mais dor torácica ou óbito ( $p < 0,001$  em todos). A atividade da MPO não apresentou correlação ou associação com as diversas variáveis analisadas. Pacientes portadores de Diabetes mellitus e em uso de estatinas apresentaram EG mais elevados ( $p < 0,001$  nos dois). Como conclusão, pacientes com obstruções coronarianas importante foram preditores de eventos cardiovasculares e mais frequentemente foram submetidos à CRM. A IL-1 $\beta$  correlacionou-se negativamente com o EG e pacientes com algum sítio de aterosclerose apresentaram IL-6 elevados. A IL-18bp orrelacionou-se com níveis séricos elevados em pacientes com SCA.

**Palavras-chave:** Aterosclerose. Citocinas. Interleucina. Mieloperoxidase. doença cardíaca isquêmica.

## ABSTRACT

LIMA, A. A. G. **Correlation of serum cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18BP, IL-33 and TNF- $\alpha$ ) and myeloperoxidase activity with the degree of coronary obstruction in patients with a diagnosis of ischemic myocardial disease.** Thesis (pHD). Orientation: RIBEIRO, R. A. Faculty of Medicine, Federal University of Ceará.

Atherosclerosis is a complex multifactorial disease characterized by accumulation of inflammatory cells, lipoproteins, and fibrous tissue in the walls of large and medium arteries. The innate and adaptive immunity, with the presence of leukocytes, mainly monocytes and lymphocytes, have an important role in this process. This participation can take place by signaling with cytokines and the release of the enzyme myeloperoxidase (MPO) by the cytoplasmic granules. Cardiovascular risk factors classically play an important role in prevention, however, the majority of patients with CV events have one or no risk factor. Therefore new biomarkers are needed to define diagnosis and prognosis. This study selected patients with a diagnosis of stable angina (SA) or acute coronary syndrome (ACS) undergoing coronary angiography and evaluated by the Gensini score (GS). Performed serum activity MPO, serum tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukins (1 $\beta$ , 6, 18bp and 33) (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18bp, and IL-33, respectively). In two years carried out a review of medical records or telephone interviews in 93 patients in this sample. Used to analyze the variables: atherosclerotic burden (carotid, coronary or lower limb atherosclerosis); the clinical picture in two years (asymptomatic or chest pain or death); clinical presentation (SA or ACS); cardiovascular events (stent, CABG, chest pain or death). The results combinations of cytokines and myeloperoxidase, with the variables presented demonstrate that IL-6 related in univariate analysis with the presence of atherosclerotic load ( $p < 0.014$ ), elevated serum levels of IL-18bp in patients with ACS both in univariate and multivariate analysis ( $p < 0.001$  and  $p < 0.045$  respectively), IL-1 $\beta$  was negatively correlated with the degree of GS in univariate and multivariate analysis ( $p < 0.042$  and  $< 0.002$  respectively); in a univariate analysis associated with the GS on patients who had chest pain or death, undergoing CABG, with CV events and ACS ( $p < 0.001$  for all). In multivariate analysis, patients with higher GS underwent CABG more often and had more chest pain or death ( $p < 0.001$  for all). The MPO activity showed no correlation or association with different variables. Patients with diabetes mellitus and in use of statin had higher GS ( $p < 0.001$  for both). In conclusion, patients with coronary stenosis were important predictors of cardiovascular events and more often underwent CABG. The IL-1 $\beta$  correlated negatively with GS and patients with at least one of the sites previously mentioned atherosclerosis had IL-6 levels elevated. IL-18bp correlated with elevated serum levels in patients with ACS.

**Key words:** Atherosclerosis. Cytokines. Interleukin. Myeloperoxidase. myocardial ischemic disease.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	A evolução da aterosclerose.....	19
<b>Figura 2</b>	Mortes por doenças cardiovasculares nos EUA de 1900 a 2008.....	21
<b>Figura 3</b>	Percentagem de mortes atribuídas às doenças cardiovasculares....	21
<b>Figura 4</b>	O reaparecimento da inflamação na hipótese da aterogênese, 1970-2009.....	23
<b>Figura 5</b>	O desenvolvimento de uma lesão aterosclerótica.....	25
<b>Figura 6</b>	Fatores inflamatórios da aterosclerose.....	31
<b>Figura 7</b>	Classificação da placa ateromatosa por histologia virtual - ultrassom intravascular.....	34
<b>Figura 8</b>	Cálculo do escore de Gensini.....	46
<b>Figura 9</b>	Descrição dos locais acometidos.....	51
<b>Figura 10</b>	Associação da IL-6 com um dos locais de aterosclerose.....	56
<b>Figura 11</b>	Associação da IL-33 com um dos locais de aterosclerose.....	57
<b>Figura 12</b>	Associação de IL-18bp com a presença clínica.....	62
<b>Figura 13</b>	Diagrama de dispersão do escore de Gensini segundo IL-1 $\beta$ .....	68

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Descrição das características basais dos pacientes.....	50
<b>Tabela 2</b>	Descrição dos desfechos clínicos, interleucinas e marcadores.....	52
<b>Tabela 3</b>	Descrição da carga aterosclerótica segundo cada característica qualitativa e resultado dos testes de associação.....	54
<b>Tabela 4</b>	Descrição das interleucinas e MPO segundo carga aterosclerótica e resultado dos testes comparativos.....	55
<b>Tabela 5</b>	Descrição dos eventos cardiovasculares segundo cada característica qualitativa e resultado dos testes de associação.....	58
<b>Tabela 6</b>	Descrição das interleucinas e MPO segundo eventos cardiovasculares e resultado dos testes comparativos.....	59
<b>Tabela 7</b>	Descrição da apresentação clínica segundo cada característica qualitativa e resultado dos testes de associação.....	60
<b>Tabela 8</b>	Descrição das interleucinas e MPO segundo apresentação clínica e resultado dos testes comparativos.....	61
<b>Tabela 9</b>	Descrição do quadro clínico segundo cada característica qualitativa e resultado dos testes de associação.....	63
<b>Tabela 10</b>	Descrição das interleucinas e MPO segundo quadro clínico e resultado dos testes comparativos.....	64
<b>Tabela 11</b>	Resultado das regressões logísticas múltiplas, para explicar os desfechos de interesse, exames laboratoriais, interleucinas e marcadores.....	65
<b>Tabela 12</b>	Valores das correlações de Spearman entre o escore de Gensini e as medidas laboratoriais, interleucinas e marcadores.....	66
<b>Tabela 13</b>	Descrição do escore de Gensini segundo características qualitativas e resultado dos testes comparativos.....	67
<b>Tabela 14</b>	Resultado do modelo de Poisson, para explicar o escore de Gensini segundo interleucinas e marcadores.....	69

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABCA 1	Binding cassette transporter A1
ACUITY	<i>Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage Strategy</i>
AfCAPS/TexCAPS	<i>The Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study</i>
ApoE	Apolipoproteína E
ASCOT	<i>Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes</i>
A to Z	<i>Aggrastat to Zocor</i>
AUC	Area under curve (área abaixo da curva)
AVC	Acidente vascular cerebral
BSA	Soro da albumina bovina
CANTOS	<i>Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study</i>
CARE	<i>Cholesterol and Recurrent Events</i>
CD	Coronária direita
CD4	<i>Cluster of differentiation 4</i>
CD40L	Tipo de citocina
CD8	Cluster of differentiation ou Grupamento de diferenciação 8
CK-Mb	Fração Mb da creatinofosfoquinase
CNHDL	colesterol não HDL
CoA	Coezima A
CT	Colesterol total
CX	Artéria circunflexa
CXC2	Quimiocina (mesmo que MCP-1)
DA	Artéria descendente anterior
DAC	Doença arterial coronariana
DM	Diabetes mellitus
Enos	Expressão da óxido nítrico sintase endotelial

FE	Fração de Ejeção
FRISC	<i>Fragmin During Instability in Coronary Artery Disease</i>
GUSTO IV	<i>Global Utilization of Strategies to Open Occluded Arteries</i>
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HDL	High density lipoprotein ou lipoproteínas de alta densidade
HFDAP	História familiar de doença aterosclerótica prematura
HMG CoA	hidroxi-3-methyl-glutaril-Coenzyme A redutase
HRP	<i>Horseradish Peroxidase</i>
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICAM-1	<i>intercellular adhesion molecule 1</i>
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
IFN- $\alpha$	interferon-alfa
IFN- $\gamma$	interferon-gama
IHC	<i>Intermountain Heart Collaborative</i>
IL-1	Interleucina 1
IL-18BP	proteína de ligação da Interleucina 18
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 Beta
IL-33	interleucina-33
IL-6	interleucina-6
IMC	índice de massa corpórea
IVUS	<i>Intravascular ultrasound</i>
JUPITER	<i>Justification for the use of Statins in prevention: an intervention Trial</i>
LDL	liproteínas de baixa densidade
MCP-1	<i>Monocyte chemotactic protein-1</i>
M-CSF	macrophage colony stimulating factor
MIBI	<i>methoxy isobutyl isonitrile</i>
MIC-1	<i>macrophage-inhibitory cytokine-1</i>

MMII	Membros inferiores
MMP-1	matriz metaloproteinase-1
MMP-3	matriz metaloproteinase-3
MMP-9	matriz metaloproteinase-9
MPO	Mieloperoxidase
NEJM	<i>New England Journal of Medicine</i>
NRI	net reclassification improvement
NT-proBNP	fração amino terminal do peptídeo natriurético cerebral
OCT	Tomografia de coerência óptica
OPD-o	<i>Phenylenediamine (O-Fenilenodiamina)</i>
PAI-1	Inibidor do ativador do plasminogênio-1
PARIS II	<i>Persantine-Aspirin Reinfarction Study II</i>
PCRus	<i>Proteína C reativa ultrasensível</i>
PDF	<i>prostate-derived factor</i>
PET	tomografia computadorizada com emissão de pósitrons
PGI2	Prostaciclina
PLAB	<i>placental bone morphogenetic protein</i>
PRIME	<i>Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction</i>
PROSPECT	<i>Providing Regional Observations to Study Predictors of Events in the Coronary Tree</i>
PROVE-II	<i>Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy</i>
PTGF-B	<i>placental transforming growth factor-B</i>
REVERSAL	<i>Reversal of Atherosclerosis With Aggressive Lipid Lowering</i>
ROC	<i>receiver operating characteristic</i>
SCA	Síndrome coronariana aguda
TCE	Tronco da coronária esquerda
TG	Triglicerídeos
TGF-β	<i>transforming growth factor-β</i>

Th1	Células T helper 1
Th2	Células T helper 2
TNF- $\alpha$	fator de necrose tumoral-alfa
VCAM-1	vascular cell-adhesion molecule 1
VLDLC	Lipoproteína de muito baixa densidade

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>1.1</b>	<b>Aterosclerose</b> .....	17
<b>1.1.1</b>	<b><i>Epidemiologia da aterosclerose</i></b> .....	20
<b>1.1.2</b>	<b><i>Evolução histórica no estudo da aterosclerose</i></b> .....	22
<b>1.1.3</b>	<b><i>Patogenia da aterosclerose</i></b> .....	25
1.1.3.1	O endotélio.....	26
1.1.3.2	Mecanismos celulares e moleculares da aterosclerose.....	27
1.1.3.3	Placas vulneráveis.....	29
<b>1.1.4</b>	<b><i>Imagem na aterosclerose (diagnóstico por imagem)</i></b> .....	32
<b>1.1.5</b>	<b><i>Marcadores biológicos</i></b> .....	35
1.1.5.1	Proteína C reativa ultrasensível.....	37
1.1.5.2	Mieloperoxidase.....	39
1.1.5.3	Citocinas.....	40
1.1.5.4	Outros marcadores biológicos.....	41
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	43
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	43
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	43
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	44
<b>3.1</b>	<b>Metodologia e descrição dos pacientes</b> .....	44
<b>3.2</b>	<b>Parâmetros avaliados</b> .....	45
<b>3.2.1</b>	<b><i>Apresentação clínica</i></b> .....	45
<b>3.2.2</b>	<b><i>Carga aterosclerótica</i></b> .....	45

3.2.3	<i>Escore de Gensini</i> .....	45
3.2.4	<i>Tipos de tratamento</i> .....	46
3.2.5	<i>Seguimento clínico tardio</i> .....	46
3.3	Exames laboratoriais.....	47
3.3.1	<i>Interleucinas</i> .....	47
3.3.2	<i>Mieloperoxidase</i> .....	48
3.3.3	<i>Outros exames</i> .....	48
3.4	Análise estatística.....	48
4	RESULTADOS.....	50
5	DISCUSSÃO.....	70
5.1	Limitações do estudo.....	84
6	CONCLUSÕES.....	85
	REFERÊNCIAS.....	86
	ANEXOS.....	106

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Aterosclerose

A aterosclerose é, por natureza, uma doença dos médios e dos grandes vasos arteriais. Pode acometer qualquer território vascular, sejam os vasos cerebrais, os coronarianos, a aorta e seus ramos abdominais, as artérias dos membros inferiores, as carótidas e as artérias vertebrais (ROSS, 1993). Inúmeras são as apresentações clínicas decorrentes desse fato, no entanto a grande maioria permanece assintomática, caracterizando a aterosclerose subclínica. Apesar desse acometimento difuso, frequentemente ocorre uma predileção individual por um território vascular e em um mesmo vaso, ocorre uma afinidade pela formação das placas em determinados pontos, especificamente nas regiões de bifurcação. Esta preferência deve-se às forças mecânicas, nas quais o fluxo se torna mais lento (redução do “shear stress”), (TRAUB; BERK, 1998) permitindo, assim, uma maior exposição dos fatores que proporcionam a adesão e a migração dos leucócitos (ICAM-1 e V-CAM-1).

A artéria mamária é, geralmente, poupada do envolvimento aterosclerótico, por isso bastante utilizada em procedimentos de revascularização miocárdica. Não se sabem as razões do privilégio dessa artéria, talvez, relacionado a uma liberação maior de óxido nítrico (TOPOL, 2007).

Até há algumas décadas, pensava-se que a formação da placa ateromatosa devia-se, somente, ao depósito e ao acúmulo de lipídeos. A mudança de paradigma veio com uma nova teoria da aterosclerose, o processo inflamatório. (ROSS, 1999). Ele participa de todas as fases da formação do ateroma e que vai desde a disfunção endotelial inicial, a participação de células do sistema imune e de mediadores celulares (interleucinas e quimiocinas), facilitando a entrada das moléculas de LDL-colesterol modificada através da íntima vascular, até ao processo final que culmina com complicação trombótica da placa ateromatosa. Esta última poderá ocorrer de três modos: ruptura da placa, erosão da placa e nódulo calcificado (VIRMANI *et al.*, 2000).

A aterosclerose é responsável pelo maior número de mortes na população. São enormes os gastos em saúde pública e privada, com medidas terapêuticas invasivas e não invasivas. Nos Estados Unidos, a cada ano, mais do que 30% das mortes são decorrentes da doença cardiovascular (ROGER *et al.*, 2012). Vários são os fatores que contribuíram para a incidência aumentar: uma diminuição do acesso à assistência médica e da qualidade dos cuidados à saúde, a idade da população, a explosão na prevalência de diabetes e obesidade, o consumo de cigarro e a inatividade física. Há, também fatores regionais, econômicos, políticos e culturais. Entre os costumes alimentares pode-se citar a ocidentalização dos alimentos em que as frutas, vegetais e os grãos estão sendo substituídos por alimentos de fácil acesso, ricos em caloria. Não obstante, as medidas de prevenção trouxeram um declínio importante nas últimas décadas.

O processo aterosclerótico tem um largo espectro de apresentação clínica. A maioria da população permanece assintomática, apesar de albergar placas ateromatosas em vários estágios de desenvolvimento. Outros desenvolvem os sintomas isquêmicos em decorrência da complicação trombótica (SPAGNOLI *et al.*, 2007). Na aterosclerose coronariana não são raras algumas apresentações clínicas, como, insuficiência cardíaca, arritmia cardíaca e morte súbita.

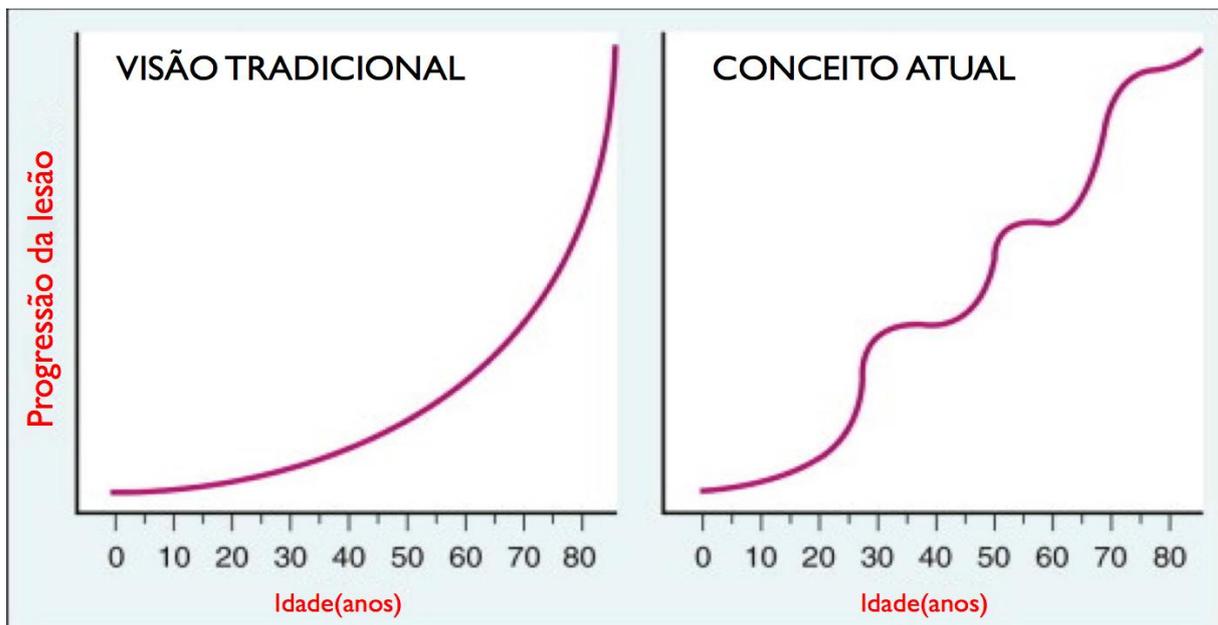
No entanto o que caracteriza melhor a doença coronariana, em sua apresentação clínica, são as anginas do peito (estável e instável) e o infarto do miocárdio. Para que tudo isso ocorra, o processo é lento e progressivo, muitas vezes, se inicia no útero materno (NAPOLI *et al.*, 1997) e termina no final da vida. Neste ambiente, existe todo um processo inflamatório.

Com os primeiros trabalhos de Ross *et al.* (1999), a inflamação tornou-se uma nova concepção da gênese, da progressão e da complicação da placa ateromatosa. Tudo começa com a migração de leucócitos, mais especificamente monócitos, que auxiliados por algumas substâncias endógenas (citocinas), penetram no interior da parede vascular, transformando-se em macrófagos. A modificação do LDL, ao entrar na íntima do vaso e ser englobado pelos macrófagos, dá origem à célula espumosa (Foam cells). Durante este processo, tanto a imunidade inata (receptores Toll-like), quanto a imunidade adaptativa (Linfócitos T), participam deste

processo como coadjuvantes. Ainda carecemos de conhecimentos amplos deste quadro inflamatório.

Após o advento da teoria inflamatória, surgiram incontáveis pesquisas, sejam experimentais, sejam clínicas. A pesquisa com camundongos geneticamente modificados propiciou um conhecimento maior da participação das células do sistema imune e de algumas substâncias. Os avanços da indústria farmacêutica, com medicamentos antiplaquetários, antitrombóticos, as estatinas e os vários dispositivos implantáveis intracoronarianos fazem parte do arsenal tecnológico que florescem entre os inúmeros trabalhos clínicos. No entanto, necessitamos conhecer melhor a fisiopatologia da placa, para podermos agir melhor na prevenção dos eventos catastróficos. Afinal de contas, a aterosclerose é um problema que se desenvolve por décadas, já as suas sequelas maiores, infarto agudo do miocárdio e morte súbita, ocorrem em minutos (PLUTZKY; LIBBY, 2003).

**Figura 1**– A evolução da aterosclerose.



Fonte: adaptada de Libby (2012).

O ensinamento tradicional assegura que a aterosclerose apresenta um curso progressivo com a idade, como mostrado na figura à esquerda. Um modelo alternativo, mostrado na figura à direita, reflete melhor o pensamento atual. O processo aterosclerótico apresenta períodos de estabilidade. Atualmente, os recursos das intervenções medicamentosa e do controle rigoroso dos fatores de risco, fazem com que o curso da aterosclerose seja diferente.

A evolução lenta e insidiosa criou uma visão pessimista de tentar mudar a progressão da doença com o tratamento medicamentoso. Por muito tempo, deu-se pouca ênfase ao diagnóstico e ao tratamento de pessoas de alto risco e assintomáticas. O foco encontrava-se dirigido para intervenções nas lesões sintomáticas, acarretando maior número de angioplastias e de revascularização miocárdica. Com a nova visão da patogênese inflamatória na placa aterosclerótica, pode-se retornar o conceito do tratamento medicamentoso preferencial. Três fatores contribuíram para um novo modo de abordagem diagnóstica e terapêutica da doença aterosclerótica coronariana. Primeiro, estudos descritivos da patologia básica da aterosclerose demonstram que há uma mudança na composição celular da placa aterosclerótica, inclusive com predomínio de alguns tipos celulares que poderá acarretar um evento clínico fatal. Segundo, aparecimento de novos e modificáveis fatores de risco, além daqueles estipulados pelo estudo de Framingham. Terceiro, grandes estudos clínicos revelaram que drogas, como inibidores da HMG CoA redutase (estatinas), conseguem reduzir eventos clínicos em pacientes com aterosclerose estabelecida.

### **1.1.1 Epidemiologia da aterosclerose**

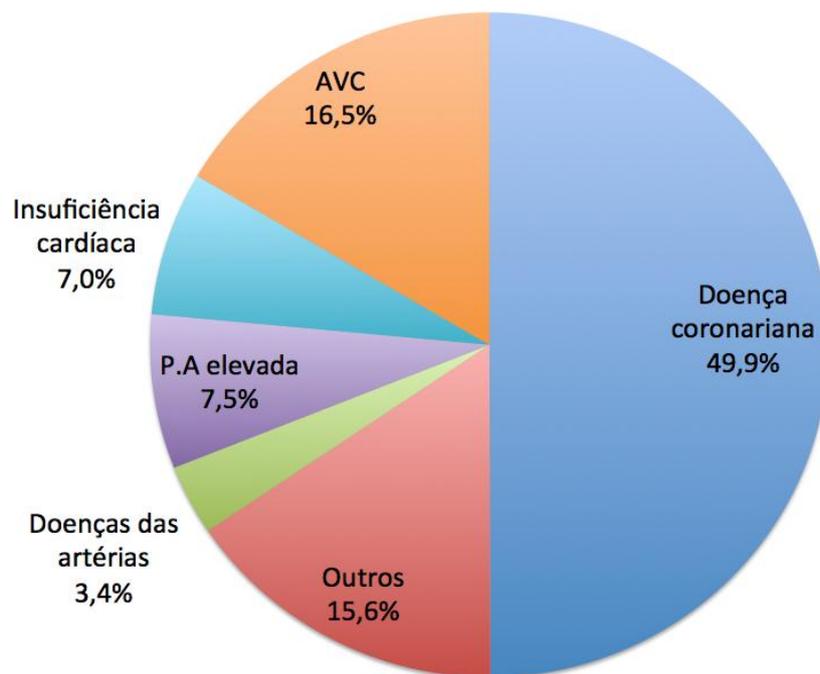
Nos Estados Unidos, de 1998 a 2008, a taxa de morte atribuível a doenças cardiovasculares regrediu 30,6%. Em 2008, a mortalidade por doença cardiovascular foi responsável por um de cada três mortes (32,8%). A doença coronariana, isoladamente, nesta mesma data, foi responsável por um em cada seis mortes (ROGER *et al.*, 2012). Desde 1900, a cada ano, exceto o ano de 1918, a doença cardiovascular permanece como causa número um de mortalidade. Porém, neste ano de 1918, aconteceu a grande epidemia da gripe espanhola que dizimou boa parte da população mundial.

**Figura 2**– Mortes por doenças cardiovasculares nos EUA de 1900 a 2008.



Fonte: Adaptado de Roger *et al.* (2012).

**Figura 3**– Percentagem de mortes atribuídas às doenças cardiovasculares.



Fonte: Adaptado de Roger *et al.* (2012).

A epidemia das doenças cardiovasculares tem sua origem relacionada à revolução industrial no século XVIII. Três fatores contribuíram para isto: o aumento no uso de produtos do tabaco, a atividade física reduzida e a adoção de dietas ricas em gorduras, calorias e colesterol. Esta epidemia começou a diminuir no século XX, após o estudo de Framingham ter identificado alguns fatores de risco modificáveis (hipercolesterolemia, hipertensão arterial sistêmica, tabagismo e outros). Isto contribuiu para o controle destes fatores de risco (TOPOL, 2007).

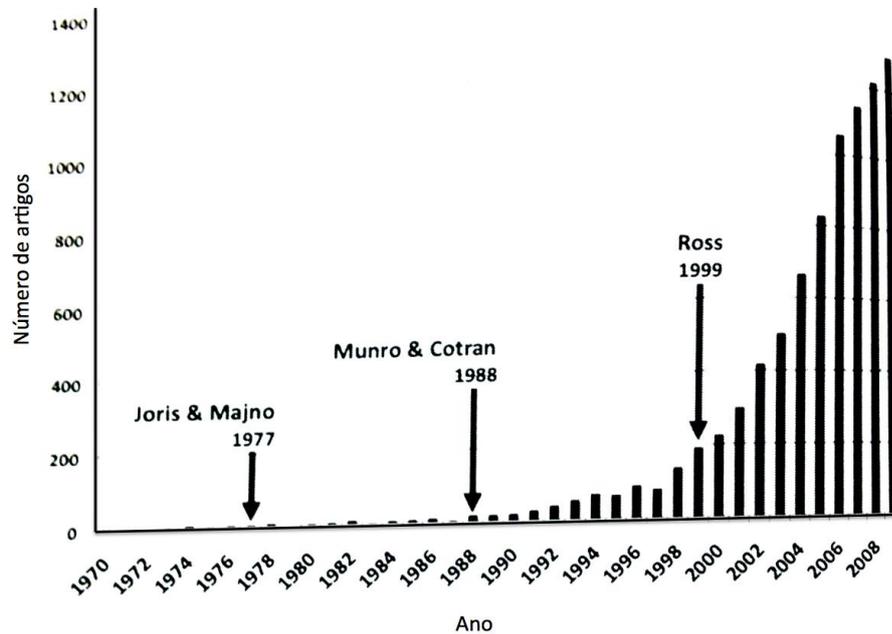
No Brasil também houve um declínio na mortalidade das doenças crônicas não transmissíveis, em que se incluem as doenças cardiovasculares. Estudo do Ministério da Saúde aponta queda de 20,5% nas mortes por doenças cardiovasculares, no período de 16 anos, de 1990 a 2006. Principal causa de óbito no país, esse grupo de doenças, que inclui o infarto e o acidente vascular cerebral (AVC), matou cerca de 300 mil pessoas em 2006, quase 30% do total de óbitos registrados. Já as mortes especificamente por doenças cerebrovasculares tiveram uma redução de 30,9% no mesmo período. Houve aumento nos óbitos por diabetes como causa básica, que passaram de 16,3 para 24 por 100 mil habitantes.

### ***1.1.2 Evolução histórica no estudo da aterosclerose***

Durante muitos anos, a aterosclerose foi considerada somente um envelhecimento do vaso arterial. Muitas dúvidas surgiram e ainda surgem nesta patologia que se encontra em franca ascensão. Grandes patologistas foram, no início, os principais articuladores, na tentativa de propor teorias sobre a gênese da aterosclerose. Carl Rokitanski (1804–1878) afirmou que a aterosclerose era um processo degenerativo com proliferação intimal e calcificação. Rudolf Virchow (1821–1902) considerou o ateroma como uma doença inflamatória crônica, chamando-a de “chronic endarteritis deformans”. Coube a Russel Ross (1929 – 1999), patologista da universidade de Washington, propor a teoria da “resposta à injúria”. Seus estudos, desde a década de 70, foram finalizados com uma excelente revisão científica, publicada em 14 de janeiro de 1999 – “Atherosclerosis – An Inflammatory disease”. Nos últimos 20 anos, é o segundo artigo mais citado da revista NEJM. Artigo publicado dois meses antes de sua morte

(18 de março de 1999). Desde então, houve um crescimento exponencial das publicações científicas relacionadas com o assunto (Figura 4) (Javier Neto, 2012).

**Figura 4**– O reaparecimento da inflamação na hipótese da aterogênese, 1970–2009.



Fonte: Adaptado de Javier Neto (2012).

Realizado uma pesquisa no Pubmed.org com as palavras chaves “inflammation” e “atherosclerosis”. Número de artigos listados por ano.

Ainda na corrente dos patologistas, temos estudos recentes relacionados às placas ateromatosas e ao risco de morte súbita, caracterizando a placa ateromatosa, em termos patológicos, como estável e instável. Esta última foi definida como placa vulnerável. Virmani *et al.* (2000) afirmaram que a presença de trombo nas coronárias deve-se à ruptura da placa em 75%, à erosão da placa em 20% e, os 5% restantes, à presença de nódulo calcificado.

Até o início do século XX, as teorias apontadas da aterosclerose eram puramente descritivas e baseadas somente em observações anatômicas. No século XX, tivemos acontecimentos importantes, para proporcionar um conhecimento maior do mecanismo da aterosclerose.

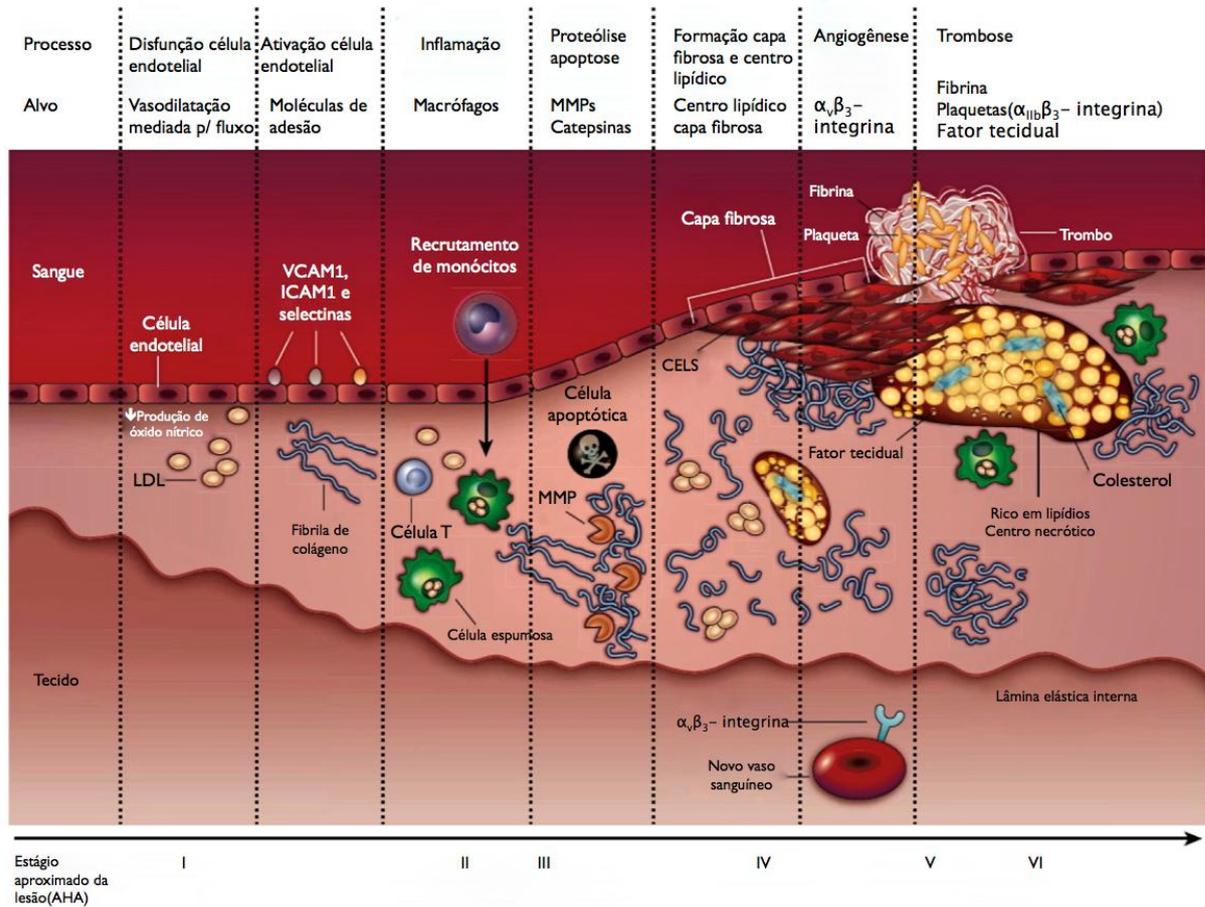
Em 1908, o cientista russo Alexander Ignatowski demonstrou que, alimentando coelhos com uma dieta de leite e ovos, produziu-se uma aterosclerose experimental. Logo após, em 1913, Nikolai N. Anitschikov e Semen S Chalotov alimentaram coelhos com colesterol puro e também produziram aterosclerose experimental. Portanto eles foram os primeiros a relacionar o colesterol à aterosclerose (HANSSON; HERMANSSON, 2011).

Na década de 70, os cientistas Brown e Goldstein descobriram o receptor de LDL-colesterol. Foram os ganhadores do prêmio Nobel de Medicina em 1985. Desde então, o LDL oxidado ou modificado faz parte da pesquisa da aterosclerose e pesquisas envolvendo o colesterol proporcionaram 13 ganhadores do prêmio Nobel (LI, 2009).

Na década de 90, tivemos o surgimento dos camundongos modificados geneticamente ("Knockout mice") (ABBOTT, 2007). Criaram-se alguns modelos de aterosclerose, como o ApoE<sup>-/-</sup> e o LDL<sup>-/-</sup> (receptor deficiente) (GLASS; WITZTUM, 2001). Muitos trabalhos são realizados com estes animais, para que se entenda melhor todo o processo que permeia a aterosclerose.

### 1.1.3 Patogenia da aterosclerose

Figura 5– O desenvolvimento de uma lesão aterosclerótica



Fonte: Adaptada de Sanz e Fayad (2008).

A progressão de uma lesão aterosclerótica mostrada de forma simplificada, iniciando com o vaso sanguíneo normal (à esquerda) até o vaso com uma placa aterosclerótica e complicada pelo aparecimento do trombo (à direita). AHA, American Heart Association; ICAM-1, intercellular adhesion molecule 1; LDL, low-density lipoprotein; MMP, matrix metalloproteinase; VCAM1, vascular cell-adhesion molecule 1.

### 1.1.3.1 O endotélio

O processo da formação da placa aterosclerótica tem um percurso de décadas de duração e às vezes finaliza em questão de minutos, com um processo trombótico frequentemente fatal (PLUTZKY; LIBBY, 2003; HANSSON; HERMANSSON, 2011). Participa desse quadro toda uma gama de células e moléculas, em que os lipídios, as células endoteliais e o processo inflamatório dominam o cenário fisiopatológico. Fazendo parte deste contexto, estão as células musculares lisas da parede vascular, o sistema imune inato e adaptativo e muitas outras substâncias.

O endotélio é uma camada de células que separa o intravascular da parede do vaso. No estado saudável normal, as células endoteliais mantêm a homeostase vascular através da produção de componentes protetores que inibem o sistema de coagulação. O endotélio previne a adesividade plaquetária e a de leucócitos modulando o estado proliferativo e contrátil do músculo liso básico. Também regula o tônus e a permeabilidade vascular. Controla a proliferação e a migração de células vasculares. Responde a forças mecânicas que atingem os vasos sanguíneos, sinaliza hormônios no sangue e sinaliza moléculas produzidas localmente por células vasculares (LIBBY, 2002).

Ele, o endotélio é considerado um grande órgão endócrino. Produz substâncias como o óxido nítrico e a prostaciclina. O fator relaxante derivado do endotélio (óxido nítrico) promove a vasodilatação e inibe a adesão de leucócitos e a proliferação do músculo liso. A PGI<sub>2</sub> (Prostaciclina) inibe a adesão e agregação plaquetária (LIBBY, 2002).

Na inflamação vascular, ocorre uma mudança fenotípica do endotélio, com diminuição da produção de óxido nítrico, de prostaciclina e geração de moléculas protrombóticas, como a trombina e o fator antifibrinolítico inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1). Isto proporciona aumento de radicais livres de oxigênio e expressão aumentada de moléculas de adesão. Tudo isto acarreta a vasoconstrição, adesividade aumentada de plaquetas e de leucócitos e coagulação aumentada (KINLAY; LIBBY; GANZ, 2001).

A expressão aumentada de moléculas de rolamento e adesão (VCAM-1, ICAM-1, p-selectina e e-selectina) facilita a aderência dos leucócitos e, em conjunto com as citocinas, mais especificamente a CXC2, também chamada de MCP-1 (Proteína quimiotática dos monócitos), facilita a entrada dos monócitos na parede vascular (FÉLÉTOU; VANHOUTTE, 2006).

Disto se conclui que um achado comum, no desenvolvimento da aterosclerose, é a disfunção endotelial precoce e a inflamação intimal. Em circunstâncias normais, o processo celular e molecular que controla a injúria vascular responde com um reparo direto e cicatrização vascular. Em condições patológicas, a não regulação da resposta inflamatória resulta em inflamação vascular persistente e remodelamento arterial adverso (SANZ; FAYAD, 2008).

#### 1.1.3.2 Mecanismos celulares e moleculares da aterosclerose

Muito do nosso conhecimento detalhado das alterações celulares e moleculares, durante a aterogênese, provém de observações em modelos de camundongos geneticamente modificados. As alterações na aterosclerose humana corroboram com as conclusões de modelos experimentais de aterosclerose (HANSSON *et al.*, 2002).

Não é bem definido o fator inicial que promove a disfunção endotelial. Estudos epidemiológicos definiram os fatores de risco envolvidos neste processo (hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, dislipidemia, tabagismo etc.), no entanto até 10% dos pacientes com infarto agudo do miocárdio não apresentam um fator de risco conhecido (YUSUF *et al.*, 2004).

Na teoria da resposta à injúria, há um ou mais fatores agressores. Nem sempre bem definidos. Alguns agentes infecciosos, como a *Chlamydia pneumoniae* e o *Citomegalovirus*, são citados, no entanto estudos randomizados com uso de antibióticos apropriados não demonstraram benefício na redução de eventos coronarianos (GRAYSTON, 2003).

O fator agressor mais estudado e provavelmente o mais importante é a molécula de LDL colesterol em seu estado modificado. Esta modificação se dá por oxidação, glicação (no diabetes), agregação, associação com proteoglicanos ou incorporação dentro de complexos imunes (ROSS, 1999).

Como existe uma agressão, surge o sistema imune. No primeiro momento, há o monócito, que, ajudado pelo VCAM-1 e MCP-1, adere ao endotélio, entra no espaço subintimal, transforma-se em macrófago, fagocita as moléculas de LDL modificadas transforma-se em células espumosas (foam cells). Para isto, participam receptores TOLL like tipo 4, *scavengers receptors* e fatores estimuladores de colônia de macrófagos (M-CSF). Esta é a participação da imunidade inata.

A hiperlipidemia em camundongos aumenta o número de uma subpopulação de monócitos pró-inflamatórios que podem, preferencialmente, penetrar na parede arterial (SWIRSKI *et al.*, 2006; SWIRSKI *et al.*, 2007; TACKE *et al.*, 2007).

A participação da imunidade adaptativa, considerada mais específica e mais tardia, se dá com a chegada de linfócitos T que são aproximadamente 10% das células na placa ateromatosa. A relação de células T *helper* (CD4) e células T citotóxica (CD8) é a mesma do sangue periférico. O participante mais aterogênico deve-se a linhagem *helper*, precisamente o linfócito T helper1 (Th1). A participação dos linfócitos B é ainda discreta. Outra linhagem, denominada células T regulatórias, controla, rigorosamente, o balanço entre as respostas Th1 e Th2, que é um processo de manutenção da tolerância imunológica (SAKAGUCHI *et al.*, 2006; GALKINA; LEY, 2009). A função diminuída ou a ausência destas células contribuem para a inflamação local e para a resposta pró-inflamatória na aterosclerose. Estas células são promissoras na elaboração futura de vacinas antiaterosclerótica (GALKINA; LEY, 2009).

Estudos epidemiológicos demonstram que pacientes com níveis elevados de neutrófilos têm maior risco cardiovascular (HORNE *et al.*, 2005) e alguns produtos circulantes de neutrófilos ativados agem como biomarcadores

(mieloperoxidase e metaloproteinases), predizendo risco de eventos aterotrombogênicos (BRENNAN *et al.*, 2003; BLANKENBERG *et al.*, 2003).

A participação de outras células, como os mastócitos e as células dendríticas, está relacionada com o risco de complicação da placa ateromatosa. Em camundongos com aterosclerose, os mastócitos promovem hemorragia intraplaca, regulam a permeabilidade intravascular e modulam o recrutamento de leucócitos adicional para o ateroma (BOT *et al.*, 2007; SUN *et al.*, 2007), predispondo a ruptura da placa. As células dendríticas são consideradas apresentadoras de antígeno, muito relacionadas à imunidade adaptativa. Alguns estudos mostraram que estas células são abundantes nas regiões suscetíveis à aterosclerose em artérias do camundongo, do coelho e do homem (MILLONIG *et al.*, 2001; JONGSTRA-BILEN *et al.*, 2006).

#### 1.1.3.3 Placas vulneráveis

Embora o entendimento da aterosclerose tenha melhorado nos últimos anos, as complicações decorrentes dessa patologia ainda continuam como a causa principal de mortalidade. A definição da placa vulnerável está vinculada a características patológicas (FINN *et al.*, 2010). O fibroateroma de capa fina representa o achado histopatológico característico. Possui uma capa fibrosa com diâmetro < 65 micrometro, presença de um grande centro necrótico, capa infiltrada por macrófagos e linfócitos. A capa fibrosa é composta por colágeno tipo I e com poucas ou sem células musculares lisas, bastante vasa vasorum e frequentemente hemorragia e ou calcificação estão presentes (VIRMANI *et al.*, 2000).

Durante muito tempo, o foco das lesões ateromatosas, na síndrome coronariana aguda, era relacionado ao grau de obstrução. Estudos, a partir da década de 80, demonstraram que o grau de obstrução não é tão importante quanto a composição da placa envolvida (HALVORSEN *et al.*, 2008). A evidência clínica deste achado foi desenvolvida por Ambrose e Fuster, em 1988, quando eles observaram que em pacientes na fase aguda do infarto do miocárdio, as lesões obstrutivas apresentavam diâmetro de estenose em torno de 48% (AMBROSE *et al.*, 1988).

No passado, a presença de trombo coronariano, encontrado em pacientes com infarto agudo do miocárdio, foi estimada como consequência e não causa do infarto. No ano de 1980, o professor DeWood, da universidade de Washington, realizando cateterismo cardíaco na fase aguda do infarto do miocárdio, demonstrou que o trombo era a causa e não a consequência (DEWOOD *et al.*, 1980). A partir de então se iniciou o tratamento trombolítico na tentativa de reperfusão coronariana e, no mesmo ano, veio o tratamento pelo cateter com a angioplastia primária com balão (HARTZLER *et al.*, 1980).

Todos os estudos da placa vulnerável, até há algumas décadas, ficaram restritos à patologia. Depois, com a introdução dos camundongos geneticamente modificados e com o aperfeiçoamento da tecnologia de imagem, permitiram um entendimento melhor sobre a história natural do fibroateroma de capa fina.

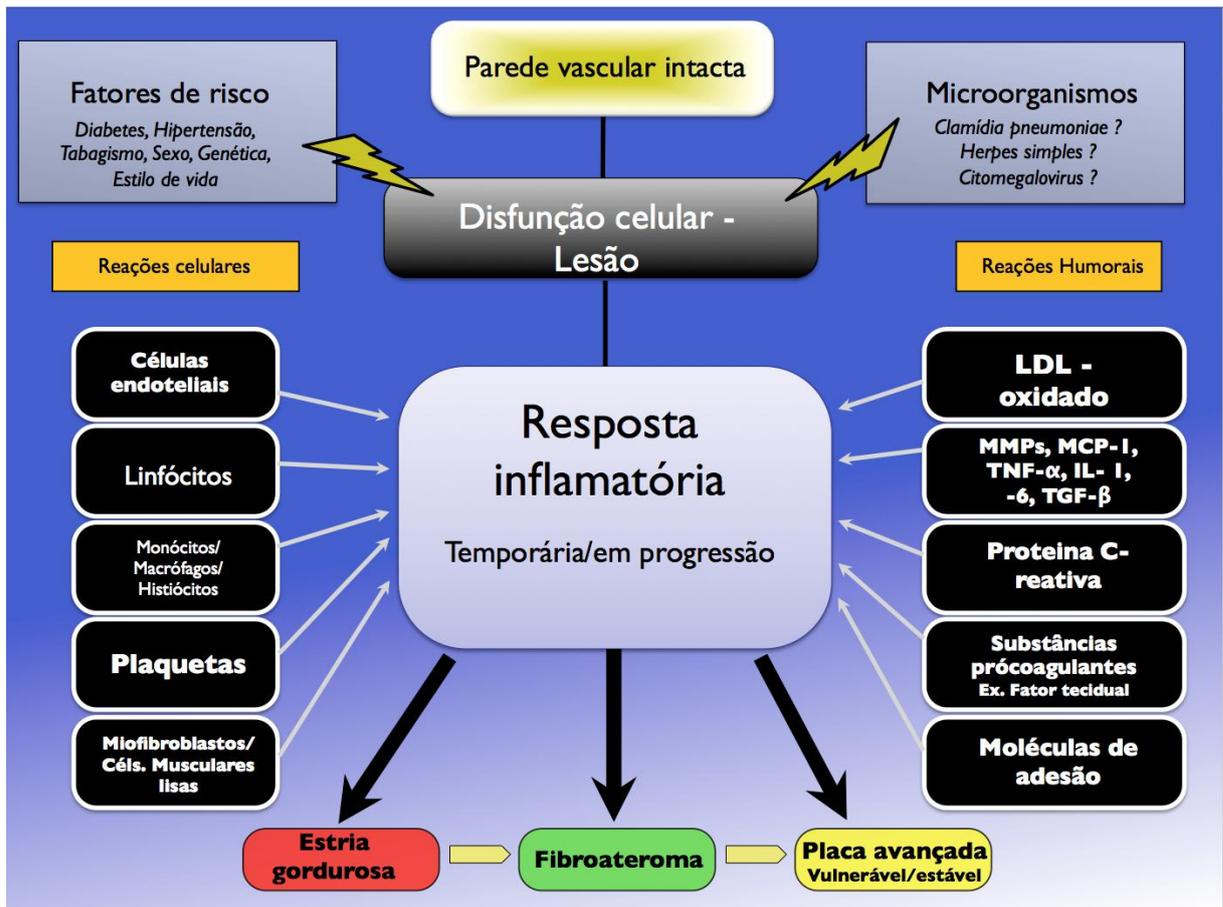
A presença do trombo coronariano, relacionado à erosão da placa ocorre preferencialmente em mulheres abaixo de 50 anos que apresentam morte súbita (FINN *et al.*, 2010). A ruptura da placa é a apresentação mais frequente no homem e em mulheres pós-menopausa.

Entre os fatores principais, que estão envolvidos na ruptura da placa ateromatosa, encontram-se o afinamento da capa fibrosa, a degradação da matriz extracelular e a formação e a trombose de microvasos dentro da placa. O afinamento da capa fibrosa deve-se à apoptose das células musculares lisas e dos macrófagos. A primeira resulta na produção diminuída da matriz extracelular, e a segunda gera um aumento do centro necrótico da placa ateromatosa (GEORGE; LYON, 2010).

A produção por células inflamatórias, mais especificamente, os macrófagos, de citocinas tipo interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) e de metaloproteinases tipo 1, 3 e 9 (MMP-1, MMP-3 e MMP-9), acarreta a degradação da matriz extracelular. Isso se dá pela diminuição na produção de colágenos tipo I e tipo III. O IFN- $\gamma$  acelera a apoptose das células musculares lisas (HARVEY; RAMJI, 2005), e as metaloproteinases ajudam a clivar alguns componentes da matriz extracelular (BACK; KETELHUTH ; AGEWALL, 2010).

A formação de microvasos facilita a trombose ou a hemorragia dentro de placas instáveis. Isto leva a um aumento do volume da placa e, em consequência, a diminuição da luz vascular, podendo, deste modo desencadear um evento coronariano agudo.

**Figura 6**– Fatores inflamatórios da aterosclerose.



Fonte: Adaptada de Langheinrich e Bohle (2005).

Demonstra as interrelações entre fatores celulares e humorais que ocorrem na resposta inflamatória da aterosclerose.

#### **1.1.4 Imagem na aterosclerose (diagnóstico por imagem)**

Tradicionalmente, fazia-se o diagnóstico de aterosclerose, somente quando a doença se encontrava em seu estado avançado, através da revelação direta da luz arterial pela estenose ou da avaliação do efeito da estenose arterial sobre a perfusão do órgão. Esta última se dá pela realização de provas isquêmicas funcionais como teste ergométrico, cintilografia do miocárdio com MIBI ou ecocardiograma com dobutamina. Atualmente, além de analisarmos a morfologia dos vasos sanguíneos, procuramos identificar a composição da placa ateromatosa (SANZ; FAYAD, 2008).

Na doença coronariana aguda, foi evidenciado que a placa ateromatosa responsável pelo evento, na maioria dos casos, apresentava uma obstrução da luz coronariana menor que 50%. Desde então, o objetivo principal é definir a composição placa vulnerável, que é constituída de capa fibrosa fina (<65 micrometro), um grande centro necrótico, ocupando 23 +-17% da área da placa, um remodelamento positivo da artéria, alguns focos de calcificação, a formação de novos vasos e uma infiltração de macrófagos de 14+-10% na capa fibrosa (VANCRAEYNEST *et al.*, 2011). Na histopatologia, a placa vulnerável é chamada de fibroateroma de capa fina (VIRMANI *et al.*, 2000).

A evidência científica demonstra que a inflamação se encontra em todos os estágios da aterosclerose. Os recursos de imagem modernos estão aperfeiçoando-se, para detectar estas alterações inflamatórias e com isso, analisar melhor a evolução do processo aterosclerótico e monitorar com precisão maior as intervenções terapêuticas.

Embora a aterosclerose seja considerada uma doença relativamente benigna, ela é frequentemente complicada por trombose aguda, decorrente de uma ruptura, de uma erosão da placa ateromatosa ou de um nódulo calcificado. Isto, muitas vezes, precipita um evento coronariano agudo, que pode vir a ser fatal.

Identificar um paciente de alto risco de morte ou de complicação vascular, estava, simplesmente vinculado ao escore de risco de Framingham. Esta avaliação

de escore, apesar de estimar corretamente o risco cardiovascular de adultos de meia idade, subestima em pacientes jovens (VANCRAEYNEST *et al.*, 2011).

O valor preditivo dos testes não invasivos para eventos vasculares agudos é pobre (VANCRAEYNEST *et al.*, 2011). Daí a necessidade de exames que consigam definir melhor a placa vulnerável.

A tomografia computadorizada com multidetectores, além da análise do escore de cálcio coronariano, apresenta uma acurácia diagnóstica para estenose coronariana maior que 95% (CORDEIRO; LIMA, 2006). Ela ajuda a detectar alguns achados compatíveis com placa vulnerável, como a presença de remodelação positiva, pontos de calcificação e uma baixa densidade da placa (< 30 unidades Hounsfield). Na síndrome coronariana aguda, a presença destes três achados confirma uma lesão instável com um valor preditivo positivo de 95%, um valor preditivo negativo de 60% e uma acurácia diagnóstica de 70% (MOTOYAMA *et al.*, 2007).

A ressonância magnética, apesar de definir algumas características biológicas do tecido, como água, lipídeo e conteúdo fibroso, possui algumas limitações. O coração em movimento e as pequenas artérias dificultam a aquisição das imagens. Torna-se uma boa técnica para grandes artérias sem movimento, como as carótidas (YUAN *et al.*, 2002).

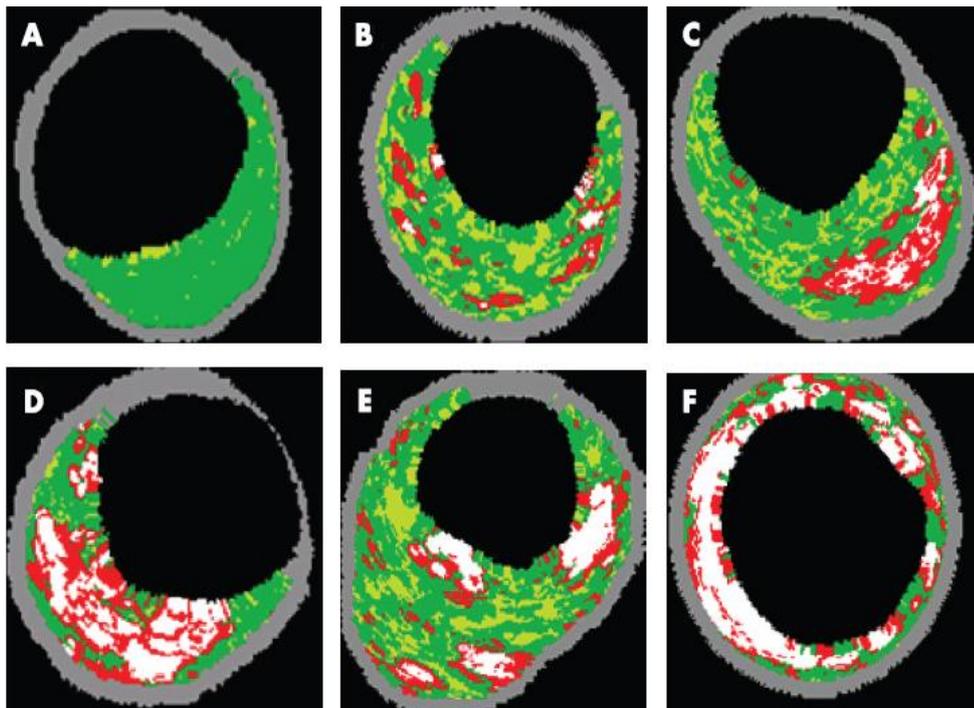
A tomografia computadorizada com emissão de pósitrons (PET) apresenta uma boa resolução espacial (4 a 5 mm), por isso é muito utilizada em estudos da aterosclerose (DAVIES *et al.*, 2006). Além da captação da glicose, esta técnica permite que ocorram inúmeras vias metabólicas e de sinalização, como apoptose de macrófagos, MCP-1 e inibidores das metaloproteinases ligadas a uma substância radioativa, geralmente o tecnécio 99 (VANCRAEYNEST *et al.*, 2011), no entanto, a exposição à radiação, repetidas vezes, para acompanhamento da placa vulnerável, torna-se um exame de risco.

A ultrassonografia intravascular (IVUS) foi uma das primeiras técnicas utilizadas, para avaliar a placa coronariana. Tem uma resolução espacial de

somente 150 micrômetros, o que dificulta a identificação do fibroateroma de capa fina (< 65 micrometros). Não detalha com acurácia os componentes da placa ateromatosa e é um exame invasivo (VANCRAEYNEST *et al.*, 2011).

A histologia virtual é realizada através do IVUS, com análise dos dados de radiofrequência e tecnologia criada pela Volcano Corporation (Califórnia). Permite caracterizar 4 componentes da placa ateromatosa: fibroso, fibrogorduroso, centro necrótico e tecido calcificado denso (KÖNIG; KLAUSS, 2007). Os componentes são codificados por cores definidas (ver figura 7). A histologia virtual possui uma sensibilidade de 79% e uma especificidade de 93%, para detectar todos os 4 componentes da placa (MORENO, 2010). Ela é a técnica mais promissora, para detectar a placa vulnerável e consequentemente a sua história natural.

**Figura 7**– Classificação da placa ateromatosa por histologia virtual - ultrassom intravascular.



Fonte: Modificada de König e Klauss (2007).

Caracterizam-se por espessamento intimal (A, B) e por placas mais vulneráveis, como o fibroateroma (C, D, E). No fibroateroma de capa fina (D), o centro necrótico encontra-se sobre a superfície da placa. (A) Espessamento intimal adaptativo; (B) espessamento intimal patológico; (C) fibroateroma; (D) fibroateroma de capa fina (FACF) definida pelo ultrassom intravascular; (E) FACF, múltiplos folhetos; (F) placa fibrocalcificada.

Em 2011, autores publicaram, no New England Journal of Medicine (NEJM) o resultado do estudo “Providing Regional Observations to Study Predictors of Events in the Coronary Tree” (Prospect trial). Acompanharam 697 pacientes com síndrome coronariana aguda, no período de 3,4 anos. Realizaram IVUS e histologia virtual nas três principais artérias coronárias e trataram a artéria culpada. Na conclusão do estudo Prospect, encontraram como preditores de eventos clínicos relacionados a fatores do paciente, diabetes mellitus insulínica e angioplastia coronariana prévia. Como preditores relacionados à lesão ateromatosa, encontraram a carga da placa > 70 %, o fibroateroma de capa fina e a área luminal menor ou igual a 4 mm<sup>2</sup> (STONE *et al.*, 2011).

Um trabalho recente usando a histologia virtual, caracterizou a natureza dinâmica da morfologia das placas ateromatosas. Concluiu que ¾ dos fibroateromas de capa fina “cicatrizavam” no período de 12 meses (KUBO *et al.*, 2010).

Portanto, somos agora capazes de detectar fibroateromas de capa fina *in vivo* (placa vulnerável), mas, o próximo questionamento é “Qual é o valor desta informação em um único ponto no tempo?” (DELIARGYRIS, 2010).

### **1.1.5 Marcadores biológicos**

Em 2001, o Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos definiu marcador biológico como uma característica que é objetivamente medida e avaliada como um indicador de processos biológicos normais (fisiológicos), processos patológicos ou resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica (BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING, 2001).

No estudo de Coorte de Framingham, foi definido o colesterol como o primeiro marcador biológico relacionado à patogênese da aterosclerose (FERRI; PAOLETTI; CORSINI, 2006). No entanto, em 1847, o primeiro marcador biológico, na medicina, foi a identificação na urina da proteína de Bence Jones (MORROW, 2006).

O marcador biológico ideal deverá ter a facilidade, para ser dosado com método seguro e barato, para que tenha ampla disponibilidade. Ele deve revelar uma boa habilidade, para diferenciar entre pessoas com e sem risco de eventos ateroscleróticos no futuro e, de preferência, ser hábil para indicar níveis diferentes de risco. Deve ser específico para aterosclerose, consistente em diferentes grupos étnicos, e informativo em ambos os sexos, portanto não será fácil identificar um marcador ideal (VASAN, 2006). Do ponto de vista prático, o marcador biológico ideal é aquele que identifica um estado de uma doença sob o enfoque da sensibilidade e da especificidade e que deve ser usado para o seu diagnóstico, assim como para monitorizar durante o seu tratamento e evolução (MORROW, 2006).

O escore de Framingham define bem os fatores de risco para doença cardiovascular (hipertensão, tabagismo, dislipidemia, diabetes, idade e sexo), no entanto o seu escore de risco apresenta baixa especificidade para população de adultos jovens e mulheres (KHOT *et al.*, 2003). O acréscimo de marcadores biológicos, especificamente o PCRus, na população feminina, trouxe melhor predição de eventos cardiovasculares (RIDKER *et al.*, 2007). Inflamação não é exclusividade da aterosclerose. Isto é uma das razões da dificuldade da pesquisa de um marcador ideal. Inflamação é a resposta normal à injúria tecidual de todas as espécies. No nosso cotidiano, as respostas inflamatórias são, portanto, frequentemente ativadas. As respostas inflamatórias, muitas vezes, são localizadas e, com isso, ocasionam pequenas alterações nos marcadores biológicos circulantes. Por outro lado, a aterosclerose é um processo muito mais generalizado, por isso os marcadores podem ser úteis para a predição de risco. Estes marcadores também aumentam, quando o processo inflamatório generalizado é originado de outros fatores, portanto não esperamos encontrar especificidade destes marcadores na aterosclerose.

Ainda neste contexto da predição de risco e da inespecificidade, sabe-se que o risco cardiovascular é mais alto em pacientes com doenças inflamatórias sistêmicas, como a artrite reumatoide e o lúpus eritematoso sistêmico (SATTAR *et al.*, 2003). Há, também, uma associação entre infecções como periodontite e aterosclerose (MEURMAN *et al.*, 2004).

A resposta inflamatória é um processo muito complexo, que envolve uma rede de reações de inibição e estímulo entre várias células e sistemas humorais. Muitos mediadores inflamatórios são, portanto, mais ou menos correlacionados. Isto provavelmente explica por que muitos destes mediadores estão relacionados à aterosclerose. Estes marcadores biológicos se complementam na avaliação do processo inflamatório, e isto faz com que a dosagem de múltiplos marcadores se torne uma conduta atraente (RIDKER *et al.*, 2004). Provavelmente aumentará a especificidade para a aterosclerose, embora, como desvantagem, o custo aumente.

As pesquisas, combinando múltiplos marcadores, tornam-se necessárias, para avaliar as relações entre eles. Como exemplo, o ICAM-1 e o V-CAM-1 como indicadores de ativação endotelial e a mieloperoxidase e a lactoferrina como indicadores de ativação neutrofílica.

No desenvolvimento de um marcador biológico, da sua descoberta até a liberação para uso clínico, acontece todo um processo que consta de cinco fases. A primeira fase é a pré-clínica e exploratória e testa a sensibilidade e a precisão do ensaio. A segunda fase é a caracterização clínica e a validação do ensaio e define os limites de referência e variação individual. A terceira fase define os casos de falsos e verdadeiros, positivos ou negativos. é a fase de associação clínica, que usa os estudos caso-controle. A quarta fase, também de associação clínica, mas com estudos de coorte, avalia a curva ROC (*receiver operating characteristic*), para definir os valores na população. A quinta e última fase é de controle da doença e define a função do marcador biológico. Realiza estudos clínicos randomizados, para efetivar o uso clínico e caracterizar a função do marcador biológico (VASAN, 2006).

#### 1.1.5.1 Proteína C reativa ultrassensível

É um membro da família pentraxina de proteínas plasmáticas. O seu nome deve-se à sua habilidade, observada no início, para precipitar o C-polissacarídeo do *Streptococcus pneumoniae*. É uma proteína reagente de fase aguda, envolvida com a imunidade inata. Ativa o complemento pela via clássica, estimula fagócitos e liga-se aos receptores de imunoglobulina (BLACK *et al.*, 2004).

É o marcador inflamatório para aterosclerose mais investigado e utilizado nos estudos clínicos.

A PCR produzida, predominantemente, pelo fígado e há relatos de produção pelo tecido adiposo, células endoteliais e células musculares lisas vasculares (MORROW, 2006). Recebe o estímulo para liberação da interleucina-6, TNF-alfa e Interleucina-1 $\beta$ . Classicamente, o seu nível sérico se altera com processos inflamatórios, como infecção, doenças autoimunes, trauma, câncer e naturalmente a aterosclerose.

A grande controvérsia, na literatura, relaciona-se ao papel desempenhado pela PCR: é um fator de risco ou somente um marcador de risco da aterosclerose? (SCHUNKERT; SAMANI, 2008). Alguns efeitos pró-aterosclerótico são atribuídos ao PCR: diminuição na expressão da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), aumento da liberação de endotelina-1 e inibição do ativador do plasminogênio (PAI-1), aumento do número de receptores de angiotensina sobre as células musculares lisas vasculares e alteração da função do macrófago, por induzir a secreção do fator tecidual e aumentar a ligação com o LDL oxidado (WILSON; RYAN; BOYLE, 2006).

Em 2003, a associação americana de cardiologia recomendou a dosagem do nível de PCR como um marcador de risco para doenças cardiovasculares em indivíduos com risco cardiovascular intermediário (escore de risco de Framingham entre 10 e 20%) (PEARSON *et al.*, 2003).

Em 2008, foi publicado, no New England Journal of Medicine (NEJM), o estudo JUPITER (Justification for the use of Statins in prevention: an intervention Trial evaluating rosuvastatin), que teve como investigador principal o Dr. Paul Ridker, da Harvard Medical School. Nesse estudo, comparou-se a Rosuvastatina com placebo em pacientes com LDL-colesterol normal e níveis de PCR elevados (acima de 2mg/dL). Desfechos clínicos foram infarto do miocárdio, revascularização arterial, hospitalização por angina instável ou morte de origem cardiovascular. No final de 1,9 ano, mostrou importante benefício do uso da Rosuvastatina, com 37% de redução dos níveis séricos de PCR e 50% dos níveis de LDL-colesterol (RIDKER *et al.*, 2008). Foi um trabalho controverso, terminado precocemente por recomendações

éticas, pois não mais se justificava a comparação com placebo. A dúvida está se os pacientes, com PCR normais, teriam os mesmos benefícios, o que não foi contemplado no estudo. Infelizmente, não dispomos de drogas que baixem seletivamente o PCR. As estatinas baixam o PCR e têm efeitos benéficos sobre a doença cardiovascular, mas os benefícios podem ser perfeitamente explicados, por ter baixado o colesterol (HINGORANI; HUMPHRIES, 2005).

Estudos genéticos, realizados em humanos e animais (camundongos ApoE<sup>-/-</sup>), contestam a vinculação do PCR com a gênese da aterosclerose (TIMPSON *et al.*, 2005; HIRSCHFIELD *et al.*, 2005).

#### 1.1.5.2 Mieloperoxidase

Um membro da superfamília hemoperoxidase, a mieloperoxidase, gera inúmeras espécies de radicais e oxidantes reativos. Ambos são capazes de iniciar a peroxidação lipídica. É o componente mais abundante dos grânulos azurofílicos dos leucócitos sendo secretada na ativação dos leucócitos e contribuindo para a defesa na imunidade inata. É encontrada predominantemente em neutrófilos, monócitos e em alguns subtipos de macrófagos tecidual (NICHOLLS; HAZEN, 2005). A síntese da mieloperoxidase (MPO) se dá durante a diferenciação mielóide na medula óssea e é completada dentro dos granulócitos, logo antes da sua entrada na circulação (ZHANG *et al.*, 2001).

Relacionada às doenças cardiovasculares, a mieloperoxidase possui apresentações diferentes entre seres humanos e camundongos. A MPO aumentada em humanos relaciona-se a lesões coronarianas mais obstrutivas e com previsão de risco maior de eventos cardiovasculares, enquanto, em camundongos, não é um fator de risco para a aterosclerose e até se acredita que oferece proteção (BRENNAN *et al.*, 2001).

A dosagem de MPO necessita de uma padronização. Não há um consenso relacionado à unidade a ser utilizada para expressar os resultados, nem aos valores de referência na população e a prováveis fatores pré-analíticos que possam interferir na dosagem, como o tipo de amostra utilizada (soro ou plasma), o

tipo de anticoagulante e a estabilidade do material a ser analisado. A permanência prolongada do material em temperatura ambiente, antes da centrifugação, gera uma maior liberação da mieloperoxidase dos leucócitos (ROMAN; WENDLAND; POLANCZYK, 2008).

#### 1.1.5.3 Citocinas

Citocinas são uma família de proteínas e polipeptídeos glicosilados ou não, secretados por células em resposta a estímulos que modulam o comportamento de células alvo (ARMSTRONG *et al.*, 2006). São responsáveis por numerosas respostas biológicas no corpo humano, caracterizando um sistema dinâmico e complexo (TEDGUI; MALLAT, 2006).

As citocinas podem agir sobre as células que a produzem (função autócrina), sobre as células vizinhas (função parácrina) e podem agir à distância (função endócrina) (TEDGUI; MALLAT, 2006). Algumas características são inerentes às citocinas, como as funções pleiotrópicas, as ações sinérgicas entre elas, e a redundância, isto é, compartilham das mesmas subunidades de receptores (AIT-OUFELLA *et al.*, 2011).

Baseada na visão clássica da inflamação, as citocinas são produzidas por células do sistema imune inato (monócitos, neutrófilos, células *natural killer*) em resposta à infecções microbianas, reagentes tóxicos, trauma, anticorpos, ou complexos imunes (NATHAN, 2002).

Na aterosclerose, as citocinas têm uma participação importante, que vai desde o início do processo, no recrutamento de monócitos, até a fase final, da ruptura da placa ateromatosa, através das alterações na síntese e degradação do colágeno (AIT-OUFELLA *et al.*, 2011). Algumas linhas de evidências suportam a hipótese que, na aterosclerose, os lipídeos oxidados, incluindo LDL-oxidado, são os prováveis fatores que estimulam a produção de citocinas (TEDGUI; MALLAT, 2006).

Na aterosclerose, as citocinas podem contribuir tanto com a piora do processo inflamatório (pró-aterogênicas) quanto com a melhora (antiaterogênicas).

Entre as citocinas antiaterogênicas podemos citar a IL-1ra, IL-18bp, IL-9, IL-10, IL-33 e a TGF- $\beta$  (AIT-OUFELLA *et al.*, 2011). A IL-6 tem uma função ambivalente na aterosclerose, uma vez que está envolvida no estímulo da produção hepática da PCR, e na indução da síntese de IL-1ra (XING *et al.*, 1998), reduzindo a atividade inflamatória. A IL-6 também inibe os “*scavenger receptors A*” dos macrófagos (LIAO, *et al.*, 1999).

A IL-18 promove expressão de interferon- $\gamma$ , um mediador de progressão da placa ateromatosa (LIBBY, 2002). Em um estudo com administração exógena de IL-18 em modelos de camundongos, houve aumento importante da aterosclerose (De NOOIJER *et al.*, 2004). A expressão da IL-18 em placas de carótidas instáveis é bem superior comparando com placas estáveis (MALLAT *et al.*, 2001).

A IL-33, a mais recente citocina descoberta da família IL-1, é considerada cardioprotetora. A administração de IL-33 em camundongos deficientes em apolipoproteína E reduziu o desenvolvimento de placas ateroscleróticas (MILLER *et al.*, 2008). Foi demonstrado que a IL-33 aumenta a sobrevivência no pós infarto do miocárdio experimental em ratos (SEKI *et al.*, 2009).

#### 1.1.5.4 Outros marcadores biológicos

Apesar de a quantidade de marcadores biológicos na aterosclerose estar em ascensão, o processo de transformação destes marcadores, em direção a uma medicina cardiovascular personalizada, encontra-se lento (De LEMOS; ROHATGI, 2010). Um estudo recente, publicado no *Circulation*, em 2010, traz os resultados de dois grandes estudos de coorte europeu relacionados a fatores de risco, que utilizaram 30 (trinta) marcadores biológicos na sua avaliação (BLANKENBERG *et al.*, 2010). Fizeram parte deste trabalho o estudo FINRISKY da Finlândia, detentora, na época, de um dos maiores índices de mortalidade cardiovascular (VARTIAINEN *et al.*, 2010) e o estudo PRIME, que analisou as diferenças de mortalidade entre a França e o norte da Irlanda (VARTIAINEN *et al.*, 2010). Estes estudos fizeram parte do projeto MONICA da organização mundial de saúde (The World Health Organization MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. WHO MONICA Project Principal

Investigators, 1988). Pouco foi acrescentado em termos de marcadores biológicos, principalmente no rastreamento populacional. Somente três marcadores foram estatisticamente significativos: NT-proBNP, Troponina I e o PCR.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a correlação dos níveis séricos de citocinas (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18BP, IL-33 e TNF- $\alpha$ ) e da mieloperoxidase com o grau de obstrução coronariano em pacientes com hipótese diagnóstica de cardiopatia isquêmica

### **2.2 Objetivos específicos**

- Analisar a carga aterosclerótica, quadro clínico de avaliação em dois anos, eventos cardiovasculares, apresentação clínica e tipo de tratamento em pacientes com hipótese diagnóstica de doença isquêmica do miocárdio.

- Determinar os níveis séricos de citocinas IL-1, IL-6, IL-18bp, IL-33, TNF- $\alpha$  e de Mieloperoxidase em pacientes com hipótese diagnóstica de doença isquêmica do miocárdio.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Metodologia e descrição dos pacientes**

Foi conduzido um estudo observacional, transversal, de 153 pacientes provenientes da enfermaria do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), que foram submetidos a cateterismo cardíaco no período de 01 de agosto de 2007 a 31 de março de 2008. Os pacientes apresentavam-se com o diagnóstico clínico de angina estável ou síndrome coronariana aguda (angina instável ou infarto do miocárdio). Antes do procedimento hemodinâmico, foram realizadas coletas de sangue para exames laboratoriais (RIBEIRO, 2009). As coronariografias foram submetidas à análise pelo escore de Gensini.

Da amostra, foram realizadas, em 81 pacientes, dosagens séricas da interleucina-1Beta (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6(IL-6), interleucina-18BP(IL-18BP), interleucina-33(IL-33) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) e, em 99 pacientes, foram realizadas atividade sérica da mieloperoxidase (MPO).

Com o objetivo de avaliar prospectivamente, no final de dois anos, fizemos revisão de prontuários e entrevistas por telefone em 93 pacientes dessa amostra.

Como critérios de inclusão foram pacientes que procuraram o serviço de hemodinâmica do hospital universitário Walter Cantídio (HUWC) com suspeita diagnóstica de doença coronariana obstrutiva.

Como critérios de exclusão, tivemos cirurgia de revascularização do miocárdio prévia, presença de infecção, neoplasia maligna, doença inflamatória aguda ou crônica, angioplastia coronariana prévia, insuficiência renal dialítica aguda ou crônica, doença pulmonar, hepática ou hematológica, cardiopatia valvar, cardiopatia congênita ou cardiomiopatia associada.

O protocolo do presente estudo foi aprovado em 13/09/2006, sob o número 030.06.01, pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUWC-UFC, conforme as

diretrizes éticas da Declaração de Helsinki, de 1975, e todos os pacientes foram incluídos somente após a assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido.

## **3.2 Parâmetros avaliados**

### **3.2.1 Apresentação clínica**

Os pacientes apresentavam-se com quadro clínico de angina estável, angina instável ou infarto do miocárdio. Foram considerados, os dois últimos diagnósticos, como síndrome coronariana aguda.

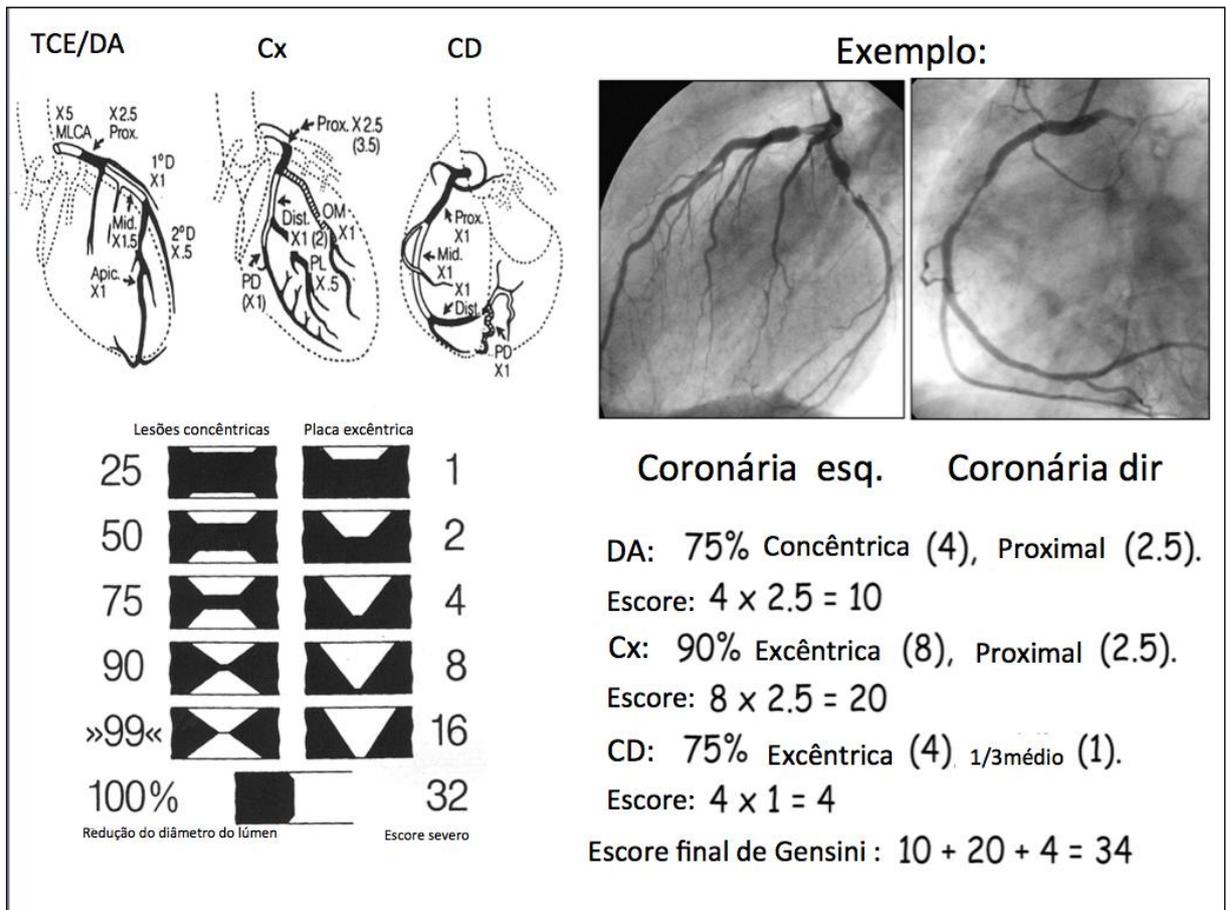
### **3.2.2 Carga aterosclerótica**

A carga aterosclerótica foi definida como os achados no exame clínico das carótidas e membros inferiores e no escore de Gensini das coronárias.

### **3.2.3 Escore de Gensini**

O escore de Gensini é a quantificação das obstruções coronarianas, dependente do grau de estenose e da sua localização (Montorsi, Ravagnani *et al.*, 2006). Ele avalia o grau de severidade da doença arterial coronariana. Baseado no grau de redução da luz coronariana, define-se um escore um para estenose de um a 25%, dois para 26 a 50%, quatro para 51 a 75%, oito para 76 a 90%, 16 para 91 a 99% e 32 para oclusão total da artéria. Este escore é multiplicado por um fator, de acordo com a importância da artéria coronária e da localização. O fator de multiplicação, para o tronco da coronária esquerda, é 5; para lesões proximais da artéria descendente anterior e da artéria circunflexa, utiliza-se o fator 2,5; para o 1/3 médio da artéria descendente anterior, o fator é 1,5; e, para lesões da coronária direita e no 1/3 médio para distal da artéria circunflexa ou descendente anterior, o fator 1. O fator de multiplicação para qualquer outro ramo é 0,5.

**Figura 8**– Cálculo do escore de Gensini



Fonte: Adaptado de Montorsi *et al.* (2006).

### 3.2.4 Tipos de tratamento

Após a realização do cateterismo cardíaco e com os dados clínicos do paciente, outros colegas cardiologistas, não relacionados com o estudo, decidiram submeter o paciente a tratamento clínico, à angioplastia coronariana com implante de stent ou à cirurgia de revascularização miocárdica.

### 3.2.5 Seguimento clínico tardio

Após dois anos do cateterismo cardíaco, 93 pacientes foram avaliados através de questionário, para definir o quadro clínico naquele momento. Esta avaliação se fez através da revisão da última visita ambulatorial e, quando não foi

possível, realizou-se o contato por telefone. Foram escolhidas três apresentações clínicas: ou o paciente encontrava-se assintomático, ou apresentava dor torácica ou teve óbito cardiovascular. Com o intuito de melhorar o número dos desfechos, foi analisada uma outra variável, denominada eventos cardiovasculares, onde acrescentamos além do quadro clínico em 2 anos, a cirurgia de revascularização do miocárdio ou o implante de stent coronariano.

### **3.3 Exames laboratoriais**

No momento do cateterismo cardíaco foi coletada amostra de sangue para avaliação bioquímica, previamente relatados (Ribeiro, 2009). Parte da amostra foi centrifugada e o plasma, armazenado a temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, foram realizadas dosagens da mieloperoxidase e da interleucina- $1\beta$ , da interleucina-6, da interleucina-18BP, da interleucina-33 e do fator de necrose tumoral (TNF-alfa).

#### **3.3.1 Interleucinas**

Níveis séricos das IL-1, IL-6, IL-18BP, IL-33 e TNF- $\alpha$  foram determinados usando-se a técnica de ELISA com o kit comercial da R&D Systems (Minneapolis, MN, USA), de acordo com as instruções do fabricante. As placas para ELISA de 96 poços foram incubadas por 12h a  $4^{\circ}\text{C}$ , com anticorpos humanos anti-IL-1, anti-IL-6, anti-IL-18BP, anti-IL-33 e anti-TNF- $\alpha$ . Após bloqueio das placas, as amostras e a curva padrão foram adicionadas em duplicata em várias diluições e incubadas por 24h a  $4^{\circ}\text{C}$ . As placas foram, então, lavadas três vezes com solução tampão e incubadas com anticorpos monoclonais biotinizados anti-IL-1, anti-IL-6, anti-IL-18BP, anti-IL-33 e anti-TNF- $\alpha$  diluídos (1:1000 com o tampão de ensaio com BSA 1%). Após o período de incubação à temperatura ambiente por 1h, as placas foram lavadas e 50 $\mu\text{L}$  do complexo HRP-avidina diluído 1:5000 foram adicionados. O reagente de cor 0-fenilenodiamina (OPD, 50 $\mu\text{L}$ ) foi adicionado 15min depois e as placas foram incubadas no escuro, a  $37^{\circ}\text{C}$ , por 15 a 20min. A reação enzimática foi parada com  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , e a absorbância, medida a 450nm no leitor de ELISA (BIOTEK ELx800 – Bio Tek instruments USA).

### **3.3.2 Mieloperoxidase**

Níveis séricos da mieloperoxidase foram determinados em 99 pacientes com base na seguinte técnica: o plasma foi transferido para um tubo de polipropileno de 2 mL. Após plaqueamento de 7 $\mu$ L do plasma (placas de 96 wells), 200  $\mu$ L da solução de leitura (5 mg O-dianisidine; 15  $\mu$ L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1%; 3 mL tampão fosfato; 27 mL H<sub>2</sub>O) foram adicionados e lidos a 450 nm ( $t_0=0$  min e  $t_1=1$  min) no leitor de ELISA (BIOTEK ELx800 – Bio Tek instruments USA). A mudança na absorbância foi obtida, plotada em curva padrão de mieloperoxidase e expressa como atividade de MPO.

### **3.3.3 Outros exames**

Foram determinados os níveis séricos do NT-ProBNP, PCR ultrasensível, Fibrinogênio, Leucócitos, Monócitos, colesterol e frações e creatinina, já relatados previamente na tese de doutorado do Professor Demóstenes Gonçalves Lima Ribeiro (RIBEIRO, 2009).

## **3.4 Análise estatística**

Para responder aos objetivos do estudo, primeiramente, foram descritas as características quantitativas basais com uso de medidas resumo (média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo); as características basais qualitativas foram descritas com uso de frequências absolutas e relativas. As interleucinas e outros marcadores biológicos foram descritos com uso de medidas resumo, e os desfechos clínicos foram descritos com uso de frequências absolutas e relativas.

As características pessoais e clínicas qualitativas foram descritas segundo carga aterosclerótica, eventos cardiovasculares após coronariografia, apresentação clínica e quadro clínico em dois anos, e foi verificada a associação entre as medidas com uso de testes qui-quadrado ou testes exatos de Fisher (Kirkwood e Sterne, 2006), quando a amostra foi insuficiente para a aplicação do teste qui-quadrado. As medidas laboratoriais, interleucinas e outros marcadores biológicos foram descritos

segundo cada desfecho de interesse com uso de medidas resumo e comparados entre as categorias com uso de testes t-Student ou testes Mann-Whitney (KIRKWOOD; STERNE, 2006).

Foram calculadas as correlações de Spearman (Kirkwood e Sterne, 2006) entre as medidas laboratoriais, interleucinas e outros marcadores biológicos com o valor de Gensini, para verificar a existência de correlação dessas medidas com o escore de Gensini. O escore de Gensini foi descrito segundo cada uma das características qualitativas pessoais e clínicas e comparado entre as categorias com uso de testes Mann-Whitney (para duas categorias) ou teste Kruskal-Wallis (para 3 ou mais categorias) (KIRKWOOD; STERNE, 2006).

As medidas que apresentaram significância estatística, nos testes univariados para cada desfecho avaliado (carga aterosclerótica, eventos cardiovasculares após coronariografia, quadro clínico em dois anos e apresentação clínica), foram testadas conjuntamente em modelos de regressões logísticas múltiplas (HOSMER; LEMESHOW, 2000), para verificar quais características dos pacientes podem influenciar nos desfechos analisados. Permaneceram, nos modelos finais, apenas as variáveis estatisticamente significativas.

Para explicar o escore de Gensini, foi ajustado um modelo linear generalizado com distribuição de Poisson e função de ligação logarítmica (MCCULLAGH; NELDER, 1989) com todas as características que apresentaram significância estatística nos testes univariados.

Os resultados foram ilustrados com gráficos de barras com os valores medianos dos marcadores e interleucinas e diagramas de dispersão entre alguns marcadores e interleucinas com o escore de Gensini, e os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

Foram utilizados os programas do EXCEL 2003 (Microsoft) e do SPSS 15.0 (Chicago).

## 4 RESULTADOS

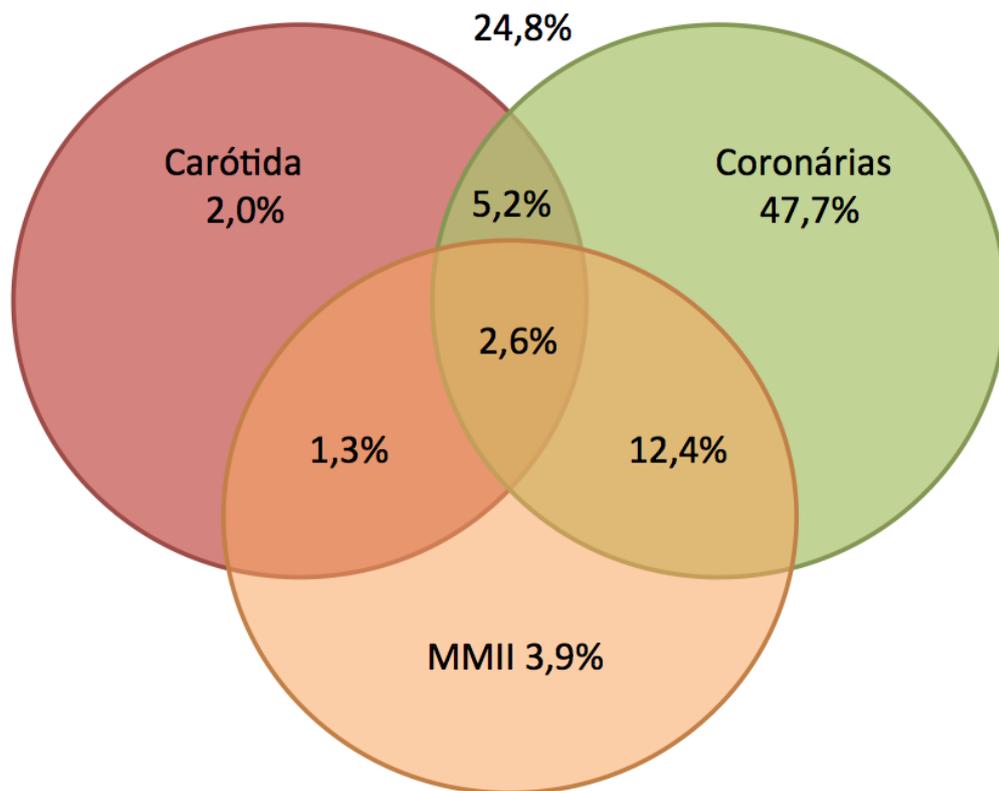
No período de 01.08.2007 a 31.03.2008, 153 pacientes, com a hipótese diagnóstica de AE ou SCA, satisfazendo os critérios de inclusão e de exclusão para esta análise, estiveram internados na enfermaria de cardiologia do HUWC-UFC. A tabela 1 resume as características basais dos pacientes.

**Tabela 1**– Descrição das características basais dos pacientes.

Variável	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N
Idade(anos)	62,52	11,12	62	32	86	153
CT(mg/dl)	183,52	44,88	179	79	295	153
HDLC(mg/dl)	35,5	12	34	16	129	153
LDLC(mg/dl)	113,82	38,2	111,5	35	218	153
TG(mg/dl)	177,12	103,59	156	42	802	153
Creatinina(mg/dl)	0,89	0,37	0,8	0,4	3,53	153
Peso (Kg)	69,72	11,76	68	44,5	104,5	153
Altura (m)	1,57	0,09	1,56	1,1	1,77	153
Uso de estatinas n (%)	80	52,3				
Aterosclerose em carótida n (%)	17	11,1				
Aterosclerose em MMII n (%)	31	20,3				
Aterosclerose em coronárias n (%)	104	71,7				
<b>Aterosclerose n (%)</b>						
Sem	38	24,8				
Carótida	3	2				
MMII	6	3,9				
Coronárias	73	47,7				
Carótida e MMII	2	1,3				
Carótida e Coronárias	8	5,2				
MMII e Coronárias	19	12,4				
Carótida, MMII e Coronárias	4	2,6				
HAS n (%)	126	82,4				
DM n (%)	55	35,9				
<b>Tratamento n (%)</b>						
Clínico	64	47,8				
Stent	17	12,7				
Cirurgia	53	39,6				

Vemos que a maioria dos pacientes com carga aterosclerótica encontra-se no grupo das coronárias, com 104 pacientes (71,7%). Somente 2,6% dos pacientes da amostra apresentaram aterosclerose concomitante em todos os locais analisados, isto é, nas carótidas, coronárias e membros inferiores. A maioria dos pacientes foram submetidos a tratamento clínico (47,8%). 12,4% dos pacientes tiveram níveis séricos elevados de troponina.

**Figura 9**– Descrição dos locais acometidos.



A Figura 9 demonstra que o local mais frequentemente acometido foi a árvore arterial coronariana. 5,2% dos pacientes apresentam lesões ateroscleróticas concomitante em carótidas e coronárias, 12,4% dos pacientes apresentam concomitante em membros inferiores e coronárias e somente 1,3% apresentam concomitante em membros inferiores e carótidas.

**Tabela 2**– Descrição dos desfechos clínicos, interleucinas e marcadores.

Variável	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N
IL1(pg/ml)	17,73	1,92	17,55	13,99	27,83	81
IL6(pg/ml)	12,4	3,77	11,41	9,13	37,19	81
IL18BP(pg/ml)	10,1	1,69	9,99	6,42	14,44	81
IL33(pg/ml)	147,04	221,86	96,33	70,83	1660,19	81
TNF(pg/ml)	78,33	31,73	71,61	54,4	294,22	81
MPO(U/L)	4,87	5,01	4,3	0	28,67	99
FE(%)	58,17	10,8	59,5	25	88	126
Gensini	34,4	39,83	26	0	169	145
<b>Carga aterosclerótica(n)</b>						
Sem	38	24,8				
Pelo menos um dos locais	115	75,2				
<b>Quadro clínico(n)</b>						
Assintomático	82	85,4				
Dor torácica	8	8,3				
Óbito	6	6,3				
<b>Apresentação clínica(n)</b>						
Angina estável	96	62,7				
Síndrome coronariana aguda	57	37,3				
<b>Eventos cardiovasculares(n)</b>						
Não	62	46,3				
Sim	72	53,7				

A Tabela 2 mostra que entre as interleucinas, comparando as médias com as medianas, a interleucina-33 apresentou uma diferença mais pronunciada em relação às outras. A mieloperoxidase apresentou como valor mínimo de zero. O escore de Gensini apresentou uma variação do máximo de 169 e o mínimo de zero. Foi demonstrado que em dois anos, seis pacientes (6,3%) apresentaram óbito e oito pacientes (8,3%) apresentaram dor torácica. Tivemos 37,3% dos pacientes com síndrome coronariana aguda na apresentação clínica. A maioria dos pacientes (53,7%) ou foram submetidos à cirurgia, ou submeteram a implante de stent ou tiveram dor torácica ou óbito. e mais de 2/3 dos pacientes possuem carga aterosclerótica. Portanto, menos de 15% dos pacientes possuem quadro clínico sintomático em dois anos e mais de 35% dos pacientes possuem síndrome coronariana aguda.

**Tabela 3**– Descrição da carga aterosclerótica segundo cada característica qualitativa e resultado dos testes de associação.

Variável	Sem		Pelo menos um local		Total	p
	n	%	n	%		
<b>Sexo</b>						0,607
Feminino	20	26,7	55	73,3	75	
Masculino	18	23,1	60	76,9	78	
<b>Uso de estatinas</b>						<0,001
Não	30	41,1	43	58,9	73	
Sim	8	10	72	90	80	
<b>HAS</b>						0,402
Não	5	18,5	22	81,5	27	
Sim	33	26,2	93	73,8	126	
<b>DM</b>						0,003
Não	32	32,7	66	67,3	98	
Sim	6	10,9	49	89,1	55	
<b>HFDAP</b>						0,321
Não	26	22,8	88	77,2	114	
Sim	12	30,8	27	69,2	39	
<b>Síndrome metabólica</b>						0,364
Não	11	30,6	25	69,4	36	
Sim	27	23,1	90	76,9	117	
<b>ICC</b>						0,598*
Não	36	24,3	112	75,7	148	
Sim	2	40	3	60	5	
<b>HDL(mg/dl)</b>						0,214
Normal	15	31,3	33	68,8	48	
Alterado	23	21,9	82	78,1	105	
<b>Troponina</b>						0,044*
Sem aumento	37	27,6	97	72,4	134	
Com aumento	1	5,3	18	94,7	19	
<b>Total</b>	<b>38</b>	<b>24,8</b>	<b>115</b>	<b>75,2</b>	<b>153</b>	

Resultado do teste qui-quadrado

\* Resultado do teste exato de Fisher

Pela tabela 3, pacientes com lesão aterosclerótica em algum dos locais, verificou-se que o uso das estatinas, o *Diabetes Mellitus* e o aumento na troponina, foram mais frequentes e apresentam-se estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ). Não houve diferença entre homens e mulheres na incidência de carga aterosclerótica e na HAS, apesar de ser mais frequente em pacientes com lesão aterosclerótica em pelo menos um dos locais, não foi estatisticamente significativo. Pacientes com ICC não mostraram associação com obstrução aterosclerótica, muito embora, na nossa amostra, tivemos somente cinco casos.

**Tabela 4**– Descrição das interleucinas e MPO segundo carga aterosclerótica e resultado dos testes comparativos.

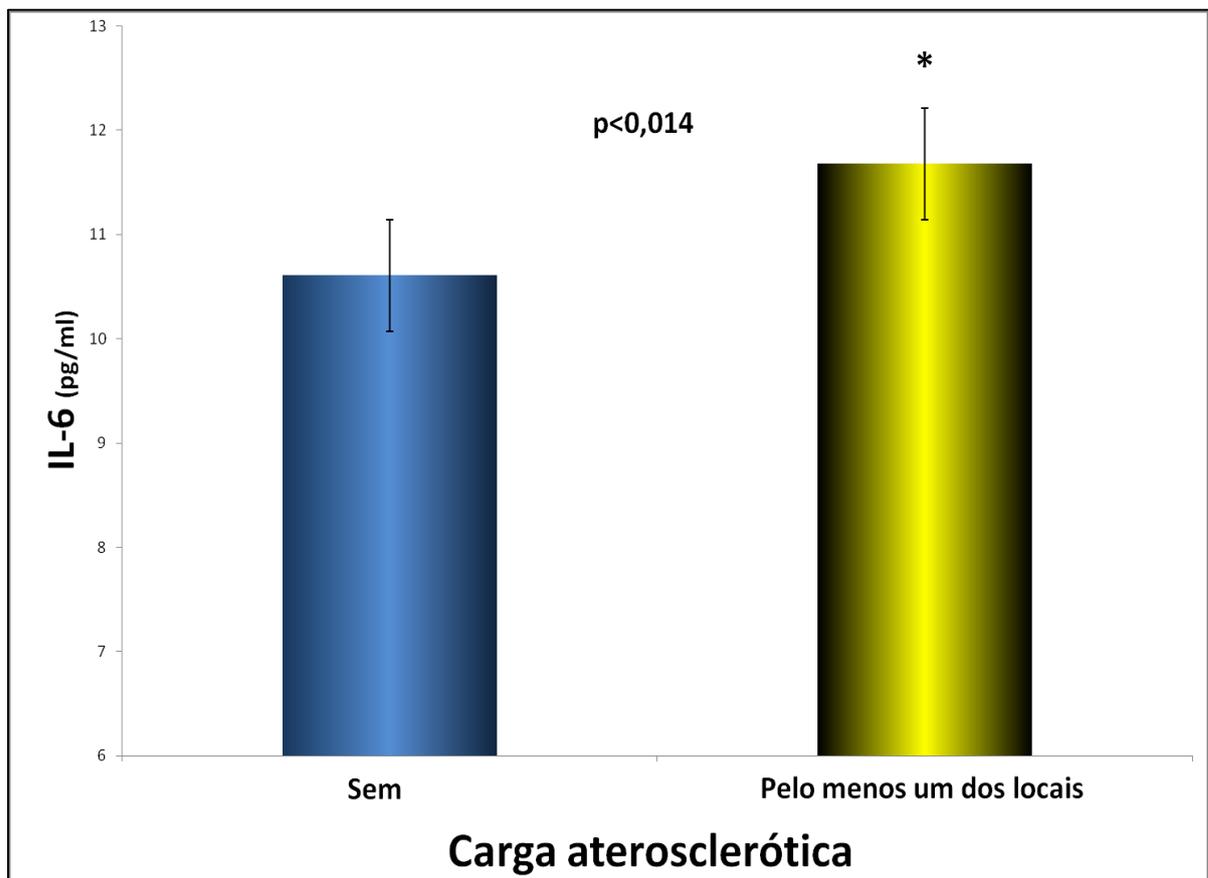
Variável	Carga aterosclerótica	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N	p
IL1(pg/ml)	Sem	17,49	0,77	17,82	16,04	18,51	21	0,678*
	Pelo menos um dos locais	17,81	2,18	17,55	13,99	27,83	60	
IL6(pg/ml)	Sem	11,10	1,55	10,61	9,13	15,04	21	0,014
	Pelo menos um dos locais	12,85	4,20	11,68	9,26	37,19	60	
IL18BP(pg/ml)	Sem	9,70	1,98	9,16	6,44	14,44	21	0,127
	Pelo menos um dos locais	10,24	1,58	10,13	6,42	13,54	60	
IL33(pg/ml)	Sem	176,96	267,38	102,94	79,33	1332,50	21	0,096
	Pelo menos um dos locais	136,57	205,14	92,08	70,83	1660,19	60	
TNF(pg/ml)	Sem	72,72	8,98	72,17	59,40	98,26	21	0,906
	Pelo menos um dos locais	80,29	36,36	71,61	54,40	294,22	60	
MPO(U/L)	Sem	3,96	2,92	4,02	0,00	10,37	26	0,631
	Pelo menos um dos locais	5,19	5,55	4,30	0,00	28,67	73	

Resultado do teste Mann-Whitney

\* Resultado do teste t-Student

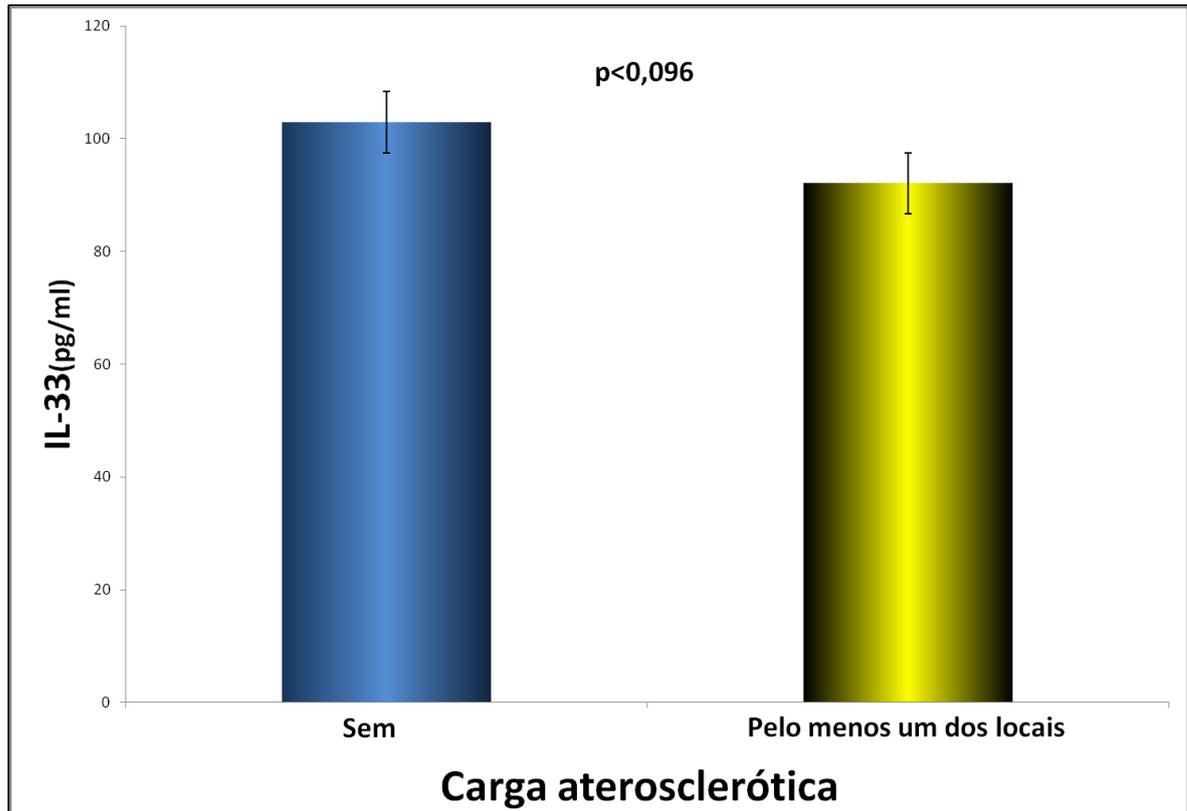
A tabela 4 mostra que o valor de IL6 é estatisticamente maior nos pacientes com carga aterosclerótica ( $p = 0,014$ ) e que a IL-33 apresentou uma tendência em pacientes com carga aterosclerótica ( $p=0,096$ ). Foi demonstrada que a atividade sérica da MPO não foi mais frequente em pacientes com lesão aterosclerótica em pelo menos um dos locais.

**Figura 10**– Associação da IL-6 com um dos locais de aterosclerose.



A figura 10 ilustra o achado da tabela 4, demonstrando que a IL-6 encontra-se com níveis séricos elevados, em pacientes com pelo menos um local de aterosclerose acometido, comparando com pacientes sem aterosclerose em nenhum dos locais.

**Figura 11**– Associação da IL-33 com um dos locais de aterosclerose



A figura 11 ilustra o resultado apresentado na tabela 4, onde a IL-33 apresentou uma tendência estar mais elevada em pacientes com nenhum local de aterosclerose acometido, comparando com pacientes com pelo menos um dos locais acometidos.

**Tabela 5–** Descrição dos eventos cardiovasculares segundo cada característica qualitativa e resultado dos testes de associação.

Variável	Não		Sim		Total	P
	n	%	n	%		
<b>Sexo</b>						0,334
Feminino	31	50,8	30	49,2	61	
Masculino	31	42,5	42	57,5	73	
<b>Uso de estatinas</b>						<0,001
Não	43	68,3	20	31,7	63	
Sim	19	26,8	52	73,2	71	
<b>HAS</b>						0,254
Não	9	36	16	64	25	
Sim	53	48,6	56	51,4	109	
<b>DM</b>						0,048
Não	47	52,2	43	47,8	90	
Sim	15	34,1	29	65,9	44	
<b>HFDAP</b>						0,771
Não	47	47	53	53	100	
Sim	15	44,1	19	55,9	34	
<b>Tabagismo</b>						0,287
Não	28	51,9	26	48,1	54	
Ex-tabagista ou Tabagista	34	42,5	46	57,5	80	
<b>Síndrome metabólica</b>						0,086
Não	11	33,3	22	66,7	33	
Sim	51	50,5	50	49,5	101	
<b>ICC</b>						>0,999*
Não	60	46,2	70	53,8	130	
Sim	2	50	2	50	4	
<b>HDL</b>						0,057
Normal	26	57,8	19	42,2	45	
Alterado	36	40,4	53	59,6	89	
<b>Troponina</b>						0,06
Sem aumento	57	49,6	58	50,4	115	
Com aumento	5	26,3	14	73,7	19	
<b>Total</b>	<b>62</b>	<b>46,3</b>	<b>72</b>	<b>53,7</b>	<b>134</b>	

Resultado do teste qui-quadrado

A tabela 5 mostra que pacientes com uso de estatinas e com DM apresentam estatisticamente maior frequência de eventos cardiovasculares ( $p < 0,001$  e  $p = 0,048$  respectivamente). Homens apresentaram mais eventos cardiovasculares do que as mulheres, no entanto, não foi estatisticamente significativo. Níveis séricos baixos de HDL e níveis séricos aumentados de troponina tiveram mais frequentemente eventos cardiovasculares, apresentando uma tendência estatística ( $p=0,057$  e  $p=0,060$ , respectivamente).

**Tabela 6**– Descrição das interleucinas e MPO segundo eventos cardiovasculares e resultado dos testes comparativos.

Variável	Eventos cardiovasculares	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N	p
IL1(pg/ml)	Não	17,70	1,34	17,76	15,08	21,66	32	0,462
	Sim	17,70	1,99	17,41	15,63	27,83	41	
IL6(pg/ml)	Não	11,49	1,62	11,14	9,13	15,30	32	0,252
	Sim	13,06	4,95	11,41	9,26	37,19	41	
IL18BP(pg/ml)	Não	10,11	1,88	9,76	7,40	14,44	32	0,850
	Sim	10,04	1,64	10,02	6,42	13,54	41	
IL33(pg/ml)	Não	147,67	220,35	93,49	77,44	1332,50	32	0,764
	Sim	147,02	244,88	94,44	70,83	1660,19	41	
TNF(pg/ml)	Não	74,22	13,96	69,39	59,40	123,80	32	0,245
	Sim	79,38	35,88	72,17	54,40	294,22	41	
OMPO(U/L)	Não	4,72	3,93	4,49	0,00	18,67	42	0,438
	Sim	5,15	6,53	3,92	0,00	28,67	43	

Pela tabela 6, verifica-se que pacientes com eventos cardiovasculares não apresentam associação com a atividade da MPO. Os níveis séricos das citocinas não foram preditoras de eventos cardiovasculares (pacientes que submeteram à cirurgia de revascularização do miocárdio, ou ao implante de *stent* ou apresentaram dor torácica ou óbito). Não houve diferenças de idade entre os dois grupos.

**Tabela 7** – Descrição da apresentação clínica segundo cada característica qualitativa e resultado dos testes de associação.

Variável	Apresentação clínica				Total	p
	Angina estável		Síndrome coronariana aguda			
	n	%	N	%		
<b>Sexo</b>						0,753
Feminino	48	64	27	36	75	
Masculino	48	61,5	30	38,5	78	
<b>Uso de estatinas</b>						<0,001
Não	57	78,1	16	21,9	73	
Sim	39	48,8	41	51,3	80	
<b>HAS</b>						0,084
Não	13	48,1	14	51,9	27	
Sim	83	65,9	43	34,1	126	
<b>DM</b>						0,382
Não	64	65,3	34	34,7	98	
Sim	32	58,2	23	41,8	55	
<b>HFDAP</b>						0,332
Não	69	60,5	45	39,5	114	
Sim	27	69,2	12	30,8	39	
<b>Síndrome metabólica</b>						0,157
Não	19	52,8	17	47,2	36	
Sim	77	65,8	40	34,2	117	
<b>ICC</b>						0,362*
Não	94	63,5	54	36,5	148	
Sim	2	40	3	60	5	
<b>HDL(mg/dl)</b>						0,966
Normal	30	62,5	18	37,5	48	
Alterado	66	62,9	39	37,1	105	
<b>Troponina</b>						<0,001
Sem aumento	92	68,7	42	31,3	134	
Com aumento	4	21,1	15	78,9	19	
<b>Total</b>	<b>96</b>	<b>62,7</b>	<b>57</b>	<b>37,3</b>	<b>153</b>	

Resultado do teste qui-quadrado

\* Resultado do teste exato de Fisher

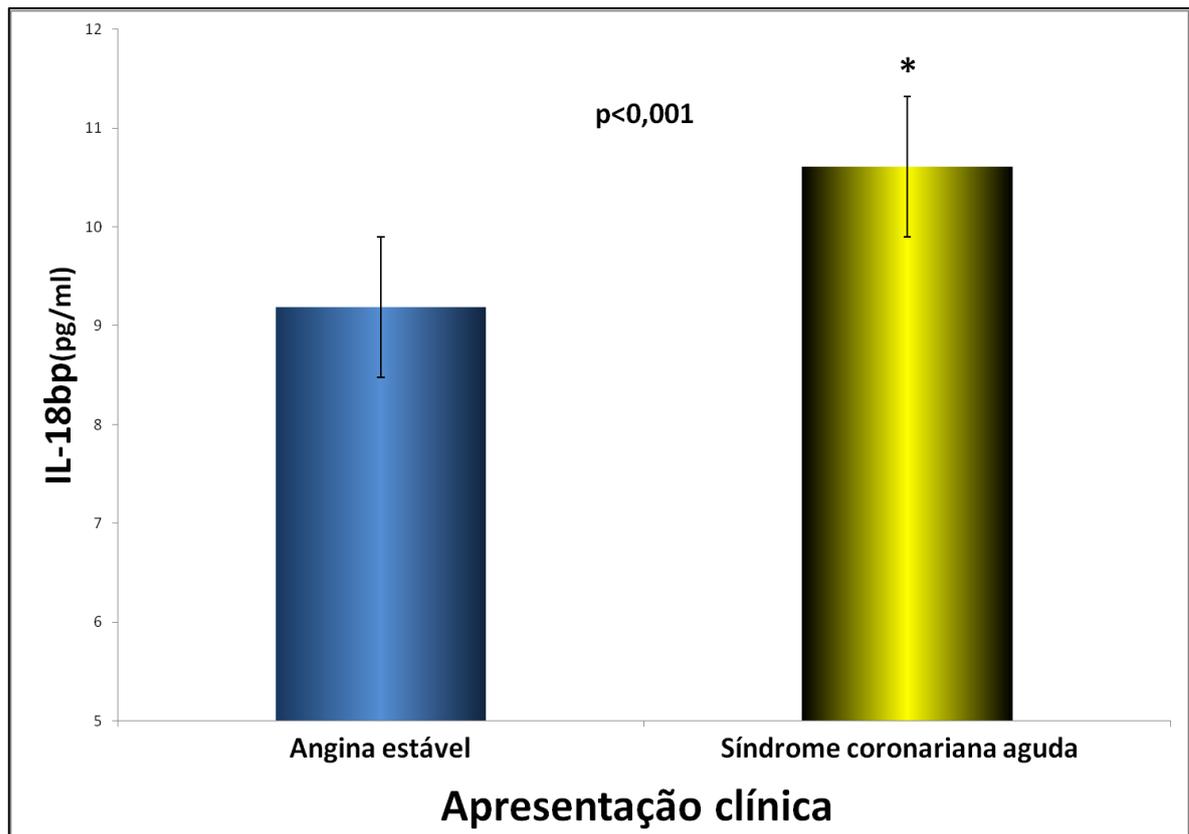
A tabela 7 mostra que pacientes com uso de estatinas e com aumento de troponina apresentam estatisticamente maior frequência de síndrome coronariana aguda ( $p < 0,001$  e  $p < 0,001$ , respectivamente). Pacientes com síndrome coronariana aguda apresentaram uma frequência maior de HAS, no entanto, não foi estatisticamente significativo ( $p=0,084$ ). Manteve-se a proporcionalidade entre pacientes do sexo feminino e masculino com angina estável e síndrome coronariana aguda.

**Tabela 8**– Descrição das interleucinas e MPO segundo apresentação clínica e resultado dos testes comparativos.

Variável	Apresentação clínica	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N	p
IL1(pg/ml)	Angina estável	17,86	1,65	17,69	15,77	25,50	47	0,127
	Síndrome coronariana aguda	17,55	2,24	17,21	13,99	27,83	34	
IL6(pg/ml)	Angina estável	11,61	1,70	11,14	9,13	15,84	47	0,136
	Síndrome coronariana aguda	13,49	5,31	11,88	9,53	37,19	34	
IL18BP(pg/ml)	Angina estável	9,58	1,68	9,19	6,42	12,86	47	0,001
	Síndrome coronariana aguda	10,82	1,45	10,61	7,70	14,44	34	
IL33(pg/ml)	Angina estável	139,65	184,34	94,44	70,83	1332,50	47	0,402
	Síndrome coronariana aguda	157,26	267,91	99,16	77,44	1660,19	34	
TNF(pg/ml)	Angina estável	77,29	25,46	70,50	59,40	223,72	47	0,458
	Síndrome coronariana aguda	79,76	39,15	72,17	54,40	294,22	34	
MPO(U/L)	Angina estável	4,37	3,68	4,14	0,00	18,67	58	0,697
	Síndrome coronariana aguda	5,58	6,43	4,42	0,00	28,67	41	

Pela tabela 8, verifica-se que pacientes com síndrome coronariana aguda apresentam estatisticamente maiores valores de IL18BP. Não houve associação dos níveis séricos das outras citocinas com a síndrome coronária aguda e, tampouco a atividade sérica da MPO.

**Figura 12**– Associação da IL-18bp com a apresentação clínica.



A figura 12 ilustra os achados da tabela 8 relacionando a associação da IL-18BP segundo a apresentação clínica, demonstrando níveis séricos elevados em pacientes com síndrome coronariana aguda em comparação com angina estável.

**Tabela 9**– Descrição do quadro clínico segundo cada característica qualitativa e resultado dos testes de associação.

Variável	Quadro clinic				Total	P
	Assintomático		Dor torácica ou óbito			
	N	%	N	%		
<b>Sexo</b>						0,99
Feminino	35	85,4	6	14,6	41	
Masculino	47	85,5	8	14,5	55	
<b>Uso de estatinas</b>						0,411
Não	35	88,6	6	11,4	41	
Sim	47	82,7	8	17,3	55	
<b>HAS</b>						0,722*
Não	15	83,3	3	16,7	18	
Sim	67	85,9	11	14,1	78	
<b>DM</b>						0,370*
Não	57	87,7	8	12,3	65	
Sim	25	80,6	6	19,4	31	
<b>HFDAP</b>						0,754*
Não	58	86,6	9	13,4	67	
Sim	24	82,8	5	17,2	29	
<b>ICC</b>						>0,999*
Não	78	84,8	14	15,2	92	
Sim	4	100	0		4	
<b>HDL(mg/dl)</b>						0,768*
Normal	28	87,5	4	12,5	32	
Alterado	54	84,4	10	15,6	64	
<b>Troponina</b>						0,224*
Sem aumento	71	87,7	10	12,3	81	
Com aumento	11	73,3	4	26,7	15	
<b>Total</b>	<b>82</b>	<b>85,4</b>	<b>14</b>	<b>14,6</b>	<b>96</b>	

Resultado do teste qui-quadrado

\* Resultado do teste exato de Fisher

A tabela 9 mostra que nenhuma das características qualitativas avaliadas apresenta associação estatisticamente significativa com o quadro clínico em dois anos ( $p > 0,05$ ). A incidência de dor torácica e óbito na avaliação através do prontuário ou de entrevista por telefone, na nossa amostra, foi baixa (14). Homens e mulheres apresentaram a mesma proporcionalidade na amostra avaliada.

**Tabela 10**– Descrição das interleucinas e MPO segundo quadro clínico e resultado dos testes comparativos.

Variável	Quadro clínico	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N	P
IL1 (pg/ml)	Assintomático	17,78	2,08	17,28	15,08	27,83	41	0,685
	Dor torácica ou óbito	17,26	0,48	17,14	16,45	18,10	9	
IL6 (pg/ml)	Assintomático	12,70	4,79	11,41	9,13	37,19	41	0,093
	Dor torácica ou óbito	10,84	1,22	10,74	9,80	13,96	9	
IL18BP (pg/ml)	Assintomático	9,97	1,70	10,02	6,44	14,44	41	0,677
	Dor torácica ou óbito	10,19	1,80	10,67	7,70	12,53	9	
IL33 (pg/ml)	Assintomático	181,00	306,91	97,27	70,83	1660,19	41	0,495
	Dor torácica ou óbito	112,38	46,82	90,66	80,27	203,04	9	
TNF (pg/ml)	Assintomático	79,47	36,88	71,61	54,40	294,22	41	0,561
	Dor torácica ou óbito	74,02	7,93	71,61	63,29	91,60	9	
MPO (U/L)	Assintomático	3,90	5,37	0,95	0,00	18,67	42	0,360
	Dor torácica ou óbito	7,90	10,71	1,99	0,00	28,67	9	

Resultado do teste Mann-Whitney

\* Resultado do teste t-Student

Pela tabela 10, verifica-se que as características pessoais, exames laboratoriais, interleucinas e marcadores não apresentam diferenças estatisticamente significativas segundo quadro clínico em 02 anos ( $p > 0,05$ ).

**Tabela 11**– Resultado das regressões logísticas múltiplas, para explicar os desfechos de interesse, exames laboratoriais, interleucinas e marcadores.

Variável	Fator	OR	IC (95%)		P
			Inferior	Superior	
<b>Carga aterosclerótica</b>	Uso de estatinas	9,11	2,28	36,40	0,002
	IL6(pg/ml)	1,48	1,00	2,19	0,053
<b>Eventos cardiovasculares</b>	Uso de estatinas	6,24	2,72	14,30	0,000
<b>Apresentação clínica</b>	Uso de estatinas	8,68	2,21	34,06	0,002
	IL18BP <sub>(pg/ml)</sub>	1,57	1,01	2,42	0,045

Pela tabela 11, verifica-se que, para cada um dos desfechos, em que foi possível estabelecer uma relação conjunta das características, pelo menos um marcador ou interleucina influencia no desfecho de interesse. A chance de carga aterosclerótica aumenta 48% a cada aumento de uma unidade de IL-6 além, mesmo controlado o uso de estatinas e VLDLC. Para apresentação clínica, o uso de estatinas, a troponina aumentada, e a IL18BP influenciam no desfecho, sendo que o aumento de uma unidade de IL18BP acarreta aumento de 57% na chance de síndrome coronariana aguda.

**Tabela 12**– Valores das correlações de Spearman entre o escore de Gensini e as medidas laboratoriais, interleucinas e marcadores.

Variável	Correlação	N	P
Idade(anos)	0,148	145	0,076
CT(mg/dl)	-0,102	145	0,224
HDLC(mg/dl)	-0,036	145	0,669
LDLC(mg/dl)	-0,103	140	0,224
TG(mg/dl)	-0,047	145	0,574
IL1 (pg/ml)	-0,23	79	<b>0,042</b>
IL6(pg/ml)	0,12	79	0,29
IL18BP(pg/ml)	0,053	79	0,644
IL33(pg/ml)	-0,141	79	0,216
TNF (pg/ml)	-0,149	79	0,189
MPO(u/l)	0,027	96	0,797

A tabela 12 mostra que o escore de Gensini apresenta correlação inversa estatisticamente significativa com IL1 $\beta$  ( $r = -0,230$ ). As outras citocinas e a MPO não apresentaram correlação com o escore de Gensini. Pacientes de mais idade apresentaram maiores valores no escore de Gensini, no entanto, não foi estatisticamente significativo.

**Tabela 13**– Descrição do escore de Gensini segundo características qualitativas e resultado dos testes comparativos.

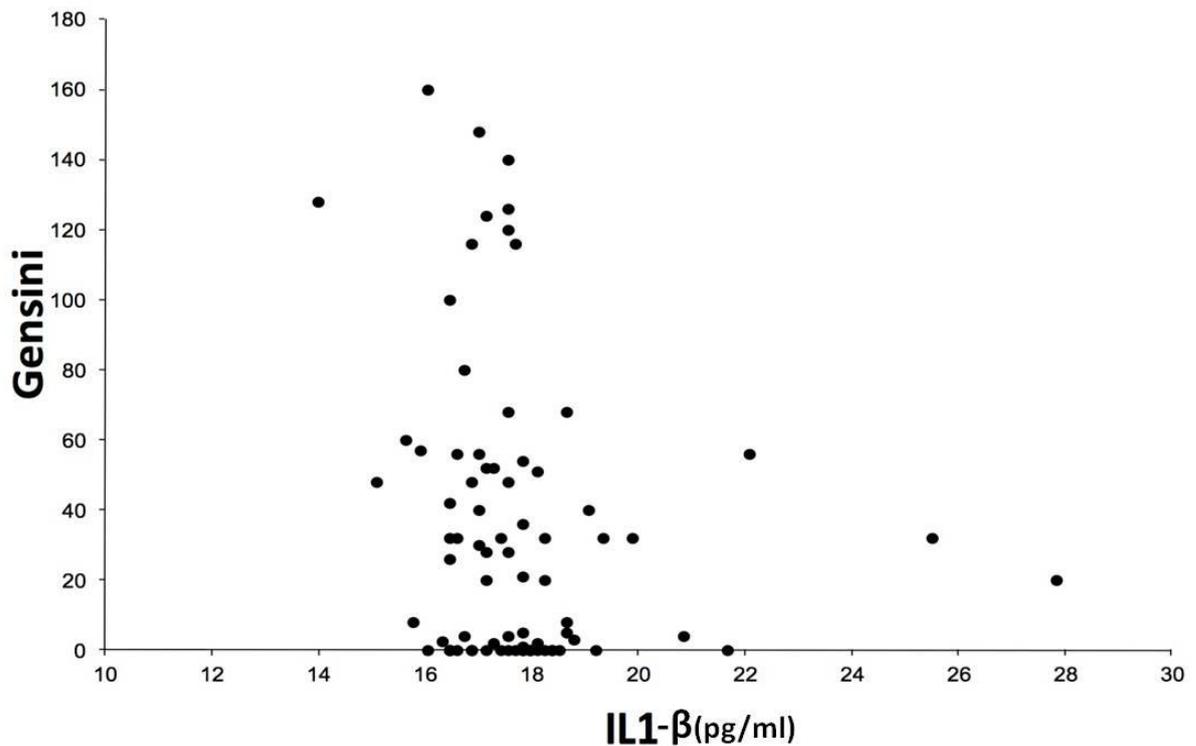
Variável	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N	P
<b>Sexo</b>							0,18
Feminino	31,32	40,17	20	0	160	69	
Masculino	37,19	39,58	31	0	169	76	
<b>Uso de estatinas</b>							<0,001
Não	23,61	40,46	1,5	0	169	70	
Sim	44,47	36,71	36	0	148	75	
<b>HAS</b>							0,107
Não	42,82	42,09	40	0	169	25	
Sim	32,64	39,3	21	0	160	12 0	
<b>DM</b>							0,001
Não	26,75	35,31	16	0	169	93	
Sim	48,08	43,96	34	0	160	52	
<b>HFDAP</b>							0,998
Não	32,79	36,8	22,5	0	160	10 6	
Sim	38,77	47,36	28	0	169	39	
<b>Quadro clínico</b>							<0,001
Assintomático	33,79	37,19	26	0	169	82	
Dor torácica ou óbito	48,14	47,45	35	0	140	14	
<b>Tratamento</b>							<0,001*
Clínico	12,66	25,14	0	0	100	64	
Stent	19,94	15,6	18	0	60	17	
Cirurgia	60,44	38,03	52	8	169	52	
<b>Eventos cardiovasculares</b>							<0,001
Não	13,01	25,47	0	0	100	62	
Sim	49,1	38,4	40	0	169	71	
<b>Apresentação clínica</b>							<0,001
Angina estável	19,98	29,68	4	0	160	92	
Síndrome coronariana aguda	59,42	42,97	51	0	169	53	

Resultado do teste Mann-Whitney

\* Resultado do teste Kruskal-Wallis

A tabela 13 mostra que o escore de Gensini apresenta estatisticamente maiores valores em pacientes que usam estatinas ( $p < 0,001$ ) e em pacientes com DM ( $p < 0,001$ ). O quadro clínico sintomático, tratamento mais agressivo, presença de eventos cardiovasculares e apresentação clínica mais grave apresentam estatisticamente maiores valores de escore de Gensini ( $p < 0,05$ ).

**Figura 13**– Diagrama de dispersão do escore de Gensini segundo IL-1 $\beta$ .



A figura 13 ilustra a correlação apresentada na Tabela 12, onde se podem notar redução do escore de Gensini com o aumento do IL-1

**Tabela 14**– Resultado do modelo de Poisson, para explicar o escore de Gensini segundo interleucinas e marcadores.

Fator	RR	IC (95%)		P
		Inferior	Superior	
Uso de estatinas	1,55	1,37	1,75	<0,001
DM	1,23	1,12	1,36	<0,001
<b>Tratamento</b>				
Clínico (ref.)	1,00			
Stent	1,16	0,86	1,56	0,325
Cirurgia	5,27	4,44	6,26	<0,001
<b>Quadro Clínico</b>				
Assintomático				
Dor torácica ou óbito	1,51	1,35	1,68	<0,001
IL1(pg/ml)	0,94	0,91	0,98	0,002

A tabela 14 mostra que o escore de Gensini apresenta aumento de 55% em pacientes com uso de estatinas, aumenta 23% em pacientes com DM, pacientes que fazem cirurgia apresentam risco de aumento no escore de Gensini 5,27 vezes o escore de pacientes tratados clinicamente, paciente com dor torácica ou óbito apresenta escore de Gensini 51% maior, e apenas aumento no IL-1 acarreta redução nos escores de Gensini de 6% a cada aumento de uma unidade de IL-1.

## 5 DISCUSSÃO

Nesse estudo, foram dosados algumas citocinas (IL-1, IL-6, IL-18BP, IL-33 e TNF- $\alpha$ ), a atividade da mieloperoxidase e a dosagem de outros marcadores biológicos, já previamente relatados (RIBEIRO, 2009) em pacientes com diagnóstico de doença isquêmica do miocárdio, submetidos à cineangiocoronariografia. O grau de obstrução coronariana foi definido pelo escore de Gensini. Em alguns pacientes desta amostra, foram avaliados as evoluções clínicas em dois anos. Correlacionaram-se os níveis séricos destes marcadores biológicos com os seguintes parâmetros: a apresentação clínica (angina estável ou síndrome coronariana aguda), a carga aterosclerótica (coronárias, carótidas e membros inferiores), o quadro clínico em dois anos (assintomático, dor torácica ou óbito); os eventos cardiovasculares (cirurgia de revascularização miocárdica, dor torácica ou óbito) e também foi correlacionado com o grau de obstrução coronariana estimado pelo escore de Gensini.

O interessante e surpreendente foi uma correlação negativa dos níveis de interleucina-1 $\beta$  com o valor do escore de Gensini. No quadro clínico em dois anos, nenhum marcador biológico foi preditor de óbito ou dor torácica, com exceção do escore de Gensini. Pacientes com síndrome coronariana aguda, obtiveram um maior nível sérico da IL-18BP, considerada uma citocina antiinflamatória. Nenhum dos parâmetros avaliados correlacionou-se com a MPO.

As medidas do NT-proBNP e o fibrinogênio (vide Anexos) além de estarem associadas ao grau de estenose das coronárias, foram preditoras de eventos cardiovasculares, com o risco maior de síndrome coronariana aguda. Os pacientes com maior carga aterosclerótica tiveram níveis de IL-6, e troponina elevados. Pacientes com síndrome coronariana aguda, tiveram níveis elevados de IL-18BP e Troponina.

Nenhum marcador biológico foi preditor de morte e de dor torácica no seguimento em 2 anos. Provavelmente, isto se deve à baixa mortalidade na nossa amostra (6). Para isso, os eventos cardiovasculares, acrescidos de tratamento invasivo (*stent* ou cirurgia de revascularização do miocárdio), trouxeram maior força

estatística e, conseqüentemente, tiveram, como preditores, o NT-proBNP, o fibrinogênio e uma tendência relacionada à troponina ( $p < 0,06$ ).

Há, como mostrado, uma correlação negativa da interleucina-1 $\beta$  com o escore de Gensini, isto é, quanto maior os valores da IL-1 $\beta$ , menores os valores do Gensini. Isto parece contrário à ação da IL-1 $\beta$ , como aumentar a adesividade dos leucócitos por indução das moléculas de adesão (VCAM-1 e ICAM-1), a aterogênese, por promover a proliferação da musculatura lisa vascular, a atividade procoagulante das células endoteliais e a infiltração de células inflamatórias na parede vascular (HASDAI *et al.*, 1996). Tudo isto caracteriza a ação proinflamatória ou proaterogênica da IL-1 $\beta$  na aterosclerose, confirmando-se os achados de vários estudos em camundongos (CHAMBERLAIN *et al.*, 2009; BHASKAR *et al.*, 2011). No entanto Hasdai *et al.* (1996) dosaram IL-1 $\beta$  em pacientes com as apresentações clínicas de angina estável com estenose coronariana  $< 50\%$  e angina estável com estenose  $> 50\%$  e em pacientes no pós-IAM. Eles mostraram um nível sérico maior de IL-1 $\beta$  nos pacientes com angina estável e com estenose  $< 50\%$ , comparados aos demais (19,9 pg/ml, 11,4pg/ml e 5,8 pg/ml, respectivamente). Nesta avaliação, não foi usado o escore de Gensini. Alexander *et al.* (2012a), trabalhando com camundongos com perda genética da ativação dos sinais de IL-1 $\beta$ , também mostraram, para surpresa do grupo, maior instabilidade e um aumento da remodelação positiva da placa ateromatosa

Diferente do estudo de Hasdai e o nosso, todos os outros citados acima foram realizados em camundongos. Aqui cabem algumas considerações sobre as dificuldades, na pesquisa da aterosclerose, em fazer uma translação dos dados obtidos em camundongos para os humanos. As pesquisas em camundongos promovem uma aterosclerose acelerada, não natural, através de níveis de colesterol que excedem aqueles encontrados na clínica e, conseqüentemente, não refletem a natureza crônica do processo aterosclerótico (LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2011). O sistema imunológico difere em alguns aspectos, por exemplo, nos humanos, a polarização entre T-helper1 (Th1) e T-helper2 (Th2) não é tão evidente quanto nos camundongos. Há diferenças na porcentagem dos neutrófilos (mais baixo em camundongos do que em humanos) e de linfócitos (mais alto em camundongos do que em humanos) (NUSSENBLATT *et al.*, 2010). Os marcadores da polarização

entre os macrófagos M1 e M2 (arginase-1 e a indução da óxido nítrico sintase) diferem entre camundongos e humanos (LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2011). A ruptura da placa ateromatosa e, conseqüentemente, a trombose, são os eventos finais da aterosclerose e, nos camundongos, não se encontra um modelo ideal, geneticamente modificado. A maioria das pesquisas em camundongos utiliza a aorta como marcador do processo aterosclerótico, enquanto se sabe que, nos humanos, as manifestações clínicas mais importantes devem-se às alterações nas artérias cerebrais, nas carótidas e nas coronárias. Além do mais, na aorta, o fluxo predominante é sistólico e, nas coronárias, é diastólico. As coronárias, além de serem submetidas à compressão pela contração cardíaca, encontra-se, ao seu redor, uma gordura que poderá sinalizar com algum processo na gênese da aterosclerose (LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2011).

O estudo CANTOS (*Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study*) (RIDKER *et al.*, 2011) encontra-se em fase de recrutamento dos pacientes. Consiste da utilização da substância Canakinumab (inibidor da IL-1 $\beta$ ) em pacientes estáveis no pós infarto do miocárdio. O objetivo é diminuir o processo inflamatório e conseqüentemente, apresentar uma proporção menor dos desfechos cardiovasculares. O estudo de Alexander *et al.* (2012b), chamam a atenção para um possível resultado inesperado do estudo CANTOS, haja visto, os resultados por eles apresentados.

Outro estudo que teve início em 2008 (CROSSMAN *et al.*, 2008) e que foi recentemente apresentado no “*British Cardiovascular Society Annual Conference 13–15 June 2011 Manchester Central*”, comparou um inibidor natural da IL-1, o Anakinra (antagonista do receptor da interleucina-1 (IL-1ra)), com placebo em pacientes com infarto do miocárdio sem supra de ST (MORTON *et al.*, 2011). Demonstrou que não houve diferenças, em relação a placebo, para eventos cardiovasculares maiores em 30 dias, três meses e em um ano ( $p=0,35$ ,  $p=0,54$  e  $p=0,69$ , respectivamente). Os autores concluíram que, apesar da forte evidência pré-clínica, a inflamação no IAM sem supra de ST não é mediada por IL-1.

O aumento da IL-18BP, um antagonista potente e específico da interleucina-18 (IL-18), em pacientes com síndrome coronariana aguda, poderá

traduzir uma sinalização de um aumento prévio da IL-18. Nos processos inflamatórios agudos e graves, como a septicemia e o infarto agudo do miocárdio, a IL-18BP aumenta em paralelo com a IL-18 (SHIMIZU *et al.*, 2012). Shimizu *et al.* (2012) estudando pacientes com nefrite lúpica, mostraram que a IL-18BP é mais útil que a IL-18, para predizer o envolvimento glomerular, e mostraram que a superprodução de IL-18BP segue logo após a parada da injúria renal em decorrência da liberação da IL-18.

Apesar de Mallat *et al.* (2001), relacionarem a IL-18 com a instabilidade da placa ateromatosa e, portanto, com a síndrome coronariana aguda Rosso *et al.* (2004) mostraram não haver diferença nos níveis de IL-18 entre pacientes com angina estável e angina instável.

Em nosso estudo, as dosagens séricas foram realizadas imediatamente antes do cateterismo cardíaco, e os pacientes, como se encontravam internados na enfermaria de cardiologia, já eram decorridos dias do evento agudo. Provavelmente, o pico sérico da IL-18 já deveria ter acontecido e, o que presenciamos, seria uma superprodução “rebote” da IL-18BP. Foi demonstrado que os níveis séricos da IL-18BP, no mesmo soro, em pacientes com septicemia, são 10 a 30 vezes maiores que os níveis de IL-18 (NOVICK *et al.*, 2001). Também neste mesmo raciocínio da coleta tardia, pode-se explicar a ausência da relação estatística das outras citocinas com as variáveis apresentadas. A exceção foi o achado de IL-6 estar associada à variável carga aterosclerótica ( $p < 0,014$ ).

Verificou-se que a IL-6 não apresentou correlação com o escore de Gensini, um melhor marcador, para quantificar o grau de aterosclerose coronariana, o que podemos acreditar ser este achado, simplesmente, ao acaso. Então, outra pergunta a ser feita é: por que a IL-1 não apresentou uma relação negativa com a carga aterosclerótica? Isto é explicado através de como foi planejada esta variável, que consiste de todos os pacientes que tiveram escore de Gensini acima de zero, acrescido de aterosclerose em carótidas ou em membros inferiores. Formulou-se uma variável binária. Portanto, quando se realizou a análise estatística, não se levou em conta os diversos graus de estenose coronariana contemplados no escore de Gensini.

Nesse estudo não teve o controle do uso de ácido acetilsalicílico (AAS) pelos pacientes. Ikonomodis *et al.* (1999), compararam a utilização do AAS, na dosagem de 300 mg por dia, com placebo, em pacientes com síndrome coronariana aguda. No período de seis semanas observaram que os níveis séricos da IL-6, do PCR e do MCSF (macrophage colony stimulated factor) foram significativamente reduzidos em pacientes utilizando o AAS ( $p < 0,005$  nas três associações) (IKONOMIDIS *et al.*, 1999). As razões possíveis, para esse fato, decorrem do efeito do AAS na acetilação da ciclooxigenase (De GAETANO *et al.*, 1985) e, alternativamente, de mecanismos relacionados à inibição plaquetária (IKONOMIDIS *et al.*, 1999). Como, a amostra do nosso estudo é composta de pacientes com hipótese diagnóstica de cardiopatia isquêmica, há possibilidade dos pacientes estarem utilizando o AAS.

A dúvida persiste, principalmente porque não se sabe se as interleucinas escolhem um local de predileção para sua produção. Sabe-se que isto, não raro, ocorre com a aterosclerose, em que, em um mesmo paciente, acometimento importante de um determinado território vascular, enquanto outros territórios são poupados. Como, na variável carga aterosclerótica, acrescentaram-se dois outros territórios vasculares, além do coronariano (carótidas e membros inferiores), poder-se-ia lançar a hipótese de que a IL-6 estaria elevada, tanto na análise univariada, quanto na multivariada, em decorrência de sua liberação ser de origem das carótidas ou dos membros inferiores. Infelizmente, na nossa amostra, o número destes outros territórios vasculares foi pequeno e, também, se precisaria de uma metodologia mais precisa, para quantificar o grau de aterosclerose nestes territórios. Seria muito atraente realizar um estudo, em que se poderiam selecionar pacientes com predileção da aterosclerose para diferentes territórios vasculares e dosar múltiplos marcadores biológicos.

Maier *et al.* (2005) estudaram pacientes na fase aguda do infarto do miocárdio e demonstraram que os níveis de IL-6 foram marcadamente mais elevados no local da ruptura da placa coronariana em relação aos níveis sistêmicos.

As pesquisas com as citocinas são constantes, e, muitas vezes, ocorrem mudanças de paradigma. Pode-se citar o exemplo do TNF- $\alpha$ , cuja ação em destruir

tumores, a princípio, foi longamente estudada, tanto *in vivo* quanto *in vitro* e, nos dias atuais, esta citocina divide suas ações pró-inflamatórias com a IL-1, como febre e indução de prostaglandina E2 (PGE2) e de moléculas de adesão. Portanto o TNF- $\alpha$ , na terapia do câncer, é praticado somente no âmbito da pesquisa em laboratório, no entanto o bloqueio desta citocina tornou-se um sucesso terapêutico (DINARELLO, 2007).

Para finalizar o raciocínio, verifica-se, que ainda são muitas as dúvidas relacionando as citocinas à aterosclerose. É importante saber se há uma citocina mais específica na aterosclerose e se, dependendo da citocina, ocorre uma predileção maior para um ponto específico da aterosclerose, seja nas coronárias, carótidas ou nas artérias dos membros inferiores. Além do mais, precisa-se saber se as citocinas têm a mesma função, tanto na fase precoce, quanto na fase tardia da aterosclerose (TEDGUI; MALLAT, 2006).

No nosso estudo, a mieloperoxidase (MPO) não foi preditora de quaisquer eventos cardiovasculares e tampouco foi marcador de apresentação clínica. Esperávamos que em pacientes com placa ateromatosa instável (IAM e angina instável) fossemos encontrar níveis séricos elevados da MPO (NARUKO *et al.*, 2002; BUFFON *et al.*, 2002). A MPO é predominantemente encontrada em neutrófilos, monócitos e macrófagos teciduais e é liberada como resposta a vários estímulos (NICHOLLS; HAZEN, 2005), entre os quais, processo inflamatório, infeccioso e infiltrativo.

Desde que os estudos iniciais (DAUGHERTY *et al.*, 1994; HAZEN; HEINECKE, 1997; PODREZ *et al.*, 1999) demonstraram que a MPO e seus produtos de oxidação foram encontrados na placa ateromatosa humana, surgiu um interesse na pesquisa da participação desta enzima (MPO) na gênese da aterosclerose. A partir de então, vários estudos correlacionaram a MPO com a desestabilização da placa ateromatosa (SUGIYAMA *et al.*, 2001; NARUKO *et al.*, 2002) e como provável marcador biológico para prever eventos adversos em pacientes com doença coronariana (BALDUS *et al.*, 2003; BRENNAN *et al.*, 2003).

Grandes estudos, em seus diferentes aspectos, mostraram que a MPO encontra-se relacionada com a aterosclerose, inclusive, no estudo populacional europeu (MEUWESE *et al.*, 2007) com 3000 pacientes, que demonstrou o envolvimento da MPO no processo inflamatório, precedendo o início de uma doença arterial coronariana (DAC) sintomática por muitos anos. Outro estudo, o *Capture Trial*, (BALDUS *et al.*, 2003) em pacientes com SCA, demonstrou que a MPO poderá ser utilizada na estratificação de risco destes pacientes. A habilidade preditiva da MPO foi independente dos níveis de troponina, PCRus, CD40L e até do NT-proBNP (MOCATTA *et al.*, 2007; MORROW *et al.*, 2008).

No entanto, recentemente foi demonstrado (SHIH *et al.*, 2008) que heparina fracionada em uso pelos pacientes ou tubos de coleta com heparina causam uma liberação da MPO, chegando, às vezes, dobrar os níveis da MPO. Portanto, há uma limitação, em potencial, da MPO, na estratificação de risco precoce, em pacientes com SCA, uma vez que, estes pacientes geralmente encontram-se em uso de heparina. Isto, provavelmente, repercutiu nos resultados dos estudos supracitados. Na nossa amostra não houve este controle. Como os pacientes encontravam-se na enfermaria de cardiologia, acredita-se na chance de estarem utilizando heparina, principalmente, os pacientes com SCA. Contudo, como nosso resultado não apresentou correlação com as variáveis apresentadas, o uso ou não da heparina, não trouxe um prejuízo maior no resultado final da amostra.

Ndrepepa *et al.* (2008) realizou um estudo caso-controle com 874 pacientes. Utilizou pacientes com DAC estável e instável (com e sem supradisnivelamento do segmento ST) e 194 pacientes controles com coronariografia normal. Fez o controle para heparina e mostrou que os níveis séricos de MPO dos casos, foram significativamente mais altos que os controles ( $p < 0,001$ ).

Por outro lado, confirmando os nossos achados, Azevedo *et al.* (2011) recentemente testou a hipótese de que a MPO estaria elevado em pacientes com SCA submetidos à cineangiocoronariografia e avaliados pelo escore de Gensini. Como resultado, em uma análise multivariada, não encontrou associação dos níveis de MPO com o escore de Gensini, com a idade, diabetes mellitus, hipertensão, contagem de leucócitos, troponina ou com a CK-Mb.

Ainda relacionado à MPO, Ferrante *et al.* (2010), recentemente, estudou pacientes com síndrome coronariana aguda submetidos à angioplastia coronariana e fez avaliação da placa ateromatosa através da tomografia de coerência óptica (OCT). Ele encontrou em 78% dos pacientes a presença de ruptura e em 28% dessa mesma amostra encontrou erosão da placa. Demonstrou que os níveis de MPO foram bem mais elevados nos pacientes com erosão da placa comparado com a ruptura da placa. Isto contraria as funções da MPO como um marcador de placa inflamatória, corroborando com os resultados da nossa amostra, uma vez que, as placas rotas têm um componente inflamatório importante comparado com as placas com erosão.

Finalizando os comentários sobre a MPO, podemos afirmar, pelos dados apresentados, que a função da MPO em pacientes com DAC é controversa. Talvez, no futuro, a realização de grandes estudos, com o controle rigoroso da heparina e, quem sabe, analisando a placa ateromatosa através da histologia virtual ou através da OCT, trará subsídios maiores para respaldar a MPO como um marcador biológico seguro e confiável.

Como foi visto nesse estudo, o grau de escore de Gensini além de apresentar uma correlação negativa com os níveis de IL-1 $\beta$ , apresentou associação com os diversos parâmetros preditivos avaliados. Pacientes que apresentaram óbito, que submeteram a cirurgia cardíaca e que apresentaram síndrome coronariana aguda, tinham mais frequentemente graus elevados no escore de Gensini. Definir a história natural da doença aterosclerótica humana na atualidade, não é uma tarefa fácil. Os avanços na indústria farmacêutica e os recursos da tecnologia conseguiram mudar o curso natural do processo aterosclerótico (A Natural-History Study of Coronary Disease, 2011).

Estudos clássicos de prognóstico da doença coronariana, (BURGGRAF; PARKER, 1975; HARRIS *et al.*, 1980), mostraram, perfeitamente, que pacientes com graus maiores de estenose coronariana apresentavam índices de mortalidade elevados. Recentemente o estudo ACUITY (LANSKY *et al.*, 2010), analisando preditores angiográficos e clínicos, em pacientes com síndrome coronariana aguda, demonstrou que o grau de severidade da obstrução coronariana é, entre outros, um

preditor de eventos isquêmicos em 30 dias e em um ano. Inclusive, enfatiza, a importância da cineangiocoronariografia na estratificação de risco em pacientes com síndrome coronariana aguda.

Estudando pacientes com diabetes *mellitus* e isquemia silenciosa, Cosson *et al.* (2003) mostraram que pacientes com estenose coronariana apresentavam mais frequentemente eventos cardiovasculares tardios. Portanto, esses estudos confirmam que o grau de estenose coronariana ainda é um forte preditor para eventos cardiovasculares, inclusive para eventos de morte.

As dosagens séricas do NT-proBNP, fibrinogênio, PCRus, leucócitos, creatinina e o perfil lipídico foram realizadas na tese de doutoramento do professor Demóstenes Gonçalves Lima Ribeiro (Anexos) e foram utilizadas nesse estudo, com o objetivo de associar e correlacionar com as novas variáveis analisadas.

Pacientes com níveis séricos elevados de creatinina estiveram relacionados à carga aterosclerótica e ao escore de Gensini. Não foi preditivo de eventos cardiovasculares ou tipo de apresentação clínica. Embora a associação entre doença cardiovascular e inflamação esteja bem documentada em pacientes no estágio final da doença renal, não se sabe se os reagentes da fase aguda são decorrentes do processo aterosclerótico estabelecido ou se estão envolvidos na iniciação e na progressão da aterosclerose (STENVINKEL *et al.*, 2003).

Apesar da forte associação, na literatura, de estágio final da doença renal, isto é, pacientes já em diálise, com o risco de eventos cardiovasculares (GO *et al.*, 2004; WEINER *et al.*, 2006), na nossa amostra, não se teve paciente nesta fase, embora Anavekar *et al.* (2004), avaliando os pacientes do estudo VALIANT (Valsartan in Acute Myocardial Infarction Trial), mostrassem que até pacientes com níveis discretamente elevados dos escores nitrogenados apresentavam fatores de risco para a complicação cardiovascular após um infarto agudo do miocárdio. Infelizmente, na nossa amostra, havia somente 16 casos de infarto do miocárdio.

Então surge a dúvida: por que pacientes com função renal deteriorada são detentores de maior incidência de aterosclerose? Mais frequentemente, os

fatores causais relacionados à insuficiência renal também o são para a gênese da aterosclerose, entre os quais, podemos citar, o diabetes mellitus e a hipertensão arterial sistêmica. Além do mais, foi demonstrado, em estudo realizado com camundongos geneticamente modificados (ZUO *et al.*, 2009), que a disfunção renal potencializa a formação de células espumosas (Foam cells) por diminuir o efluxo de colesterol da placa ateromatosa, através da repressão do ABCA1 (ATP-Binding cassette transporter A1).

Na amostra vimos que o número de leucócitos não obteve associação com quaisquer das variáveis qualitativas avaliadas e, também, não obteve correlação com o escore de Gensini (variável quantitativa). Tivemos um achado, relacionado aos monócitos, que acreditamos tenha sido fortuito. Os monócitos, quando comparados com o escore de Gensini apresentou uma correlação positiva, porém baixa ( $r=0,259s$ ), mas quando analisado em conjunto com as outras variáveis e, utilizando a variável de quadro clínico em dois anos, mostrou que a cada aumento de 100 unidades de monócitos houve uma redução de 5% no escore de Gensini. Convém lembrar que não houve associação dos monócitos, em uma análise univariada, com o quadro clínico em dois anos. Então, ao que se pressupõe, tenha sido somente um achado fortuito. Acredito que, o número reduzido da amostra e o baixo número de pacientes que apresentaram dor torácica e óbito em dois anos, ajudaram na obtenção destes resultados. Além do mais, estudo realizado com esta mesma amostra (RIBEIRO, 2009), demonstrou associação dos monócitos com obstrução coronariana ( $p<0,002$ ). Encontramos esta mesma correlação com o escore de Gensini (Tabela 12). No entanto, Afiune *et al.*, demonstrou que o número de Monócitos foi um marcador de risco para doença coronariana e IAM (AFIUNE NETO *et al.*, 2006).

O coeficiente de correlação, como parâmetro estatístico, não define se as relações entre as variáveis são de causa e efeito. Ele somente demonstra que existe ou não uma relação linear entre as duas variáveis analisadas (PAGANO; GAUVREAU, 2000).

Por outro lado, a literatura mostra haver uma associação entre o número de leucócitos e DAC desde 1920 (KEEFER; RESNIK, 1928), mas, foi somente em

1974 (FRIEDMAN; KLATSKY; SIEGELAUB, 1974) que foi mostrado uma relação clara entre a contagem de leucócitos e a morbidade cardiovascular. Este estudo mostrou que a contagem de leucócitos foi um forte preditor de infarto do miocárdio, com comparação similar ao nível de colesterol e à pressão arterial.

Vários estudos confirmam esta associação e, fazem menção, também, aos subtipos de leucócitos. Em 1993, o estudo prospectivo PARIS II (OLIVARES; DUCIMETIÈRE; CLAUDE, 1993), mostrou que o risco de doença cardiovascular aumentava 1,15 vezes para cada 100 células/mm<sup>3</sup> na contagem dos monócitos. Por outro lado, em 2005, o grupo de estudo do Intermountain Heart Collaborative (IHC), estudando 3227 pacientes submetidos à coronariografia (HORNE *et al.*, 2005) demonstrou ser os níveis elevados de neutrófilos ( $p < 0,001$ ) e os níveis baixos de linfócitos ( $p < 0,001$ ) preditores de morte ou infarto do miocárdio em pacientes com DAC ou com alto risco para DAC. Neste estudo, os níveis de monócitos foram fraco preditores. Recentemente, Tani *et al.* (2009), pesquisando regressão da placa aterosclerótica em pacientes sob uso de pravastatina, demonstraram que a diminuição no número de monócitos foi um forte preditor da regressão da placa coronariana ( $p < 0,0014$ ). Portanto, na nossa amostra, tanto neste estudo, quanto no estudo de Ribeiro (RIBEIRO, 2009), mostraram uma correlação positiva da DAC com os níveis de monócitos.

Os níveis séricos de fibrinogênio mostraram-se mais elevados em pacientes com SCA, e em pacientes que tiveram mais eventos cardiovasculares e, apresentaram uma correlação positiva com o escore de Gensini. Na análise multivariada, os pacientes com SCA tiveram níveis séricos mais elevados do fibrinogênio. Estes achados estão de acordo com a literatura, onde o fibrinogênio é considerado não somente um fator de coagulação e sim, um reagente de fase aguda, associado com o processo aterosclerótico (KANDEL; D'AGOSTINO; BELANGER, 1987).

O fibrinogênio é produzido principalmente no fígado e, a sua principal função, é participar na coagulação, transformando a trombina em fibrina insolúvel. Como a sua vida média é de 100 horas (3 a 6 dias) (KAMATH; LIP, 2003), não trouxe problemas na nossa análise, pois, como já dissemos, os pacientes realizaram

o procedimento hemodinâmico dias após o evento agudo. Isto, provavelmente, explica, em nossa amostra, o fibrinogênio como um dos marcadores biológicos sorológicos que mais se relacionou com as variáveis analisadas. Não obstante, encontrou-se em pacientes com carga aterosclerótica, uma tendência no aumento dos níveis de fibrinogênio ( $p < 0,07$ ), apesar da correlação positiva com o escore de Gensini.

O fibrinogênio participa do processo inflamatório, no entanto, o mecanismo pelo qual ele promove a aterosclerose não é totalmente compreendido. Estudos demonstram que ele promove injúria endotelial, proliferação e migração de células musculares lisas, ocasionando um aumento da permeabilidade vascular e uma maior produção de colágeno (VELICAN; VELICAN, 1979; SMITH, 1986).

Estes dados acima, sobre o fibrinogênio, abrem uma discussão interessante na literatura, relacionando inflamação com coagulação no processo aterosclerótico, caracterizando um fluxo bidirecional (LEVI; VAN DER POLL; BÜLLER, 2004). Recentemente, o estudo Prospect (STONE *et al.*, 2011) demonstrou que mais de 50% das placas vulneráveis (placas inflamatórias ou fibroateroma de capa fina) encontradas no estudo, “cicatrizaram” no período de 3,4 anos. Portanto, a maioria das roturas e erosões das placas ateromatosas são assintomáticas, e na sua “cicatrização”, promovem uma carga de placa maior, resultando no aumento do grau de estenose coronariana. Então, uma carga de placa aterosclerótica coronariana e a sua atividade metabólica, acrescidos de condições que promovam uma trombose vascular, conseguem explicar um evento coronariano agudo (ARBAB-ZADEH *et al.*, 2012).

Talvez, com estes dados, o fibrinogênio, considerado um marcador biológico da coagulação, participando também na agregação plaquetária, seja, tanto um marcador de risco de eventos coronarianos agudos quanto um fator de risco. Isto foi observado no nosso estudo, com o fibrinogênio relacionando com o escore de Gensini (fator de risco) e com eventos cardiovasculares (marcador de risco).

Os níveis séricos do fibrinogênio diminuem com o uso de fibratos e niacina. Alguns estudos, utilizando estes medicamentos, não mostraram benefício,

apesar da redução dos níveis de fibrinogênio (TANNE *et al.*, 2001; MEADE *et al.*, 2002; GRADY *et al.*, 2002). Na nossa amostra não fizemos o controle para estas drogas.

A PCRus, na análise univariada, somente foi um marcador para pacientes com síndrome coronariana aguda (Tabela 8). Nesta mesma amostra, (RIBEIRO, 2009), não mostrou associação em pacientes com obstrução coronariana. Isto foi confirmado, quando mostramos não haver associação da PCRus com o escore de Gensini. Ribeiro, chama a atenção, que o uso de estatina na nossa amostra (53,2%), tenha contribuído com a redução dos níveis séricos da PCRus.

Há mais de uma década a PCRus é o marcador inflamatório, relacionado com a aterosclerose, mais estudado. Inclusive, a sociedade americana e canadense de cardiologia, fizeram recomendações na utilização deste marcador (PEARSON *et al.*, 2003; GENEST *et al.*, 2009). Tudo isto, capitaneado em 1999, pelo célebre estudo de Ross (1999), consolidando a aterosclerose como uma doença inflamatória. Os estudos “CARE”, “AFCAPS/TexCAPS”, “PROVE IT”, “REVERSAL”, “A to Z”, “HEART PROTECTION”, “ASCOT” e por último, o estudo “JUPITER”, mostraram que a PCRus tem uma função importante na aterosclerose coronariana (BRAUNWALD, 2012). No entanto, as críticas a estes estudos foram surgindo.

No estudo “Jupiter”, pacientes com níveis séricos de LDL-colesterol normal, demonstrou que pacientes com PCRus elevados, beneficiam-se do tratamento com rosuvastatina. A crítica a este estudo foi a falta, na randomização, de pacientes com PCRus normal (ROBINSON, 2008). No estudo ASCOT, publicado inicialmente em 2003 (SEVER *et al.*, 2003), veio, em uma nova análise, demonstrar que a PCRus não foi um bom preditor de eventos cardiovasculares e que, a redução da PCRus associada com o uso da estatina, não foi um preditor de desfecho cardiovascular, isoladamente ou associada ao LDL-colesterol (SEVER *et al.*, 2012), corroborando os nossos achados.

Portanto, na nossa amostra, a PCRus não foi preditora de eventos cardiovasculares, mesmo utilizando como desfecho, os tratamentos com *stent* ou cirurgia de revascularização miocárdica.

O NT-proBNP, na amostra obteve uma correlação positiva com o escore de Gensini e, apresentou níveis séricos elevados em pacientes com presença da carga aterosclerótica, com eventos cardiovasculares e com a presença de síndrome coronariana aguda. Nesta mesma amostra, Ribeiro (2009) mostrou que o NT-proBNP apresentou forte associação em pacientes com obstrução coronariana. Utilizou como valor sérico da NT-proBNP de 250 pg/ml, como nível de corte. Portanto, ele apresenta uma discussão abrangente sobre o assunto.

Os estudos corroboram nossos resultados, inclusive, como o NT-proBNP é um excelente marcador de estresse miocárdico, ele torna-se um marcador de risco para eventos cardíacos adversos no futuro. O estudo FRISC II, (JERNBERG *et al.*, 2003), mostrou redução de mortalidade naqueles pacientes com NT-proBNP elevados e que foram escolhidos para um tratamento invasivo ao invés do tratamento conservador.

No estudo GUSTO-IV, (JAMES *et al.*, 2006) pacientes com níveis séricos elevados do NT-proBNP, beneficiaram-se da revascularização miocárdica. Interessante neste estudo, em pacientes que tinham níveis séricos normais e combinados, de troponina e NT-proBNP, apresentaram um aumento na mortalidade em 01 ano após a revascularização miocárdica.

Cada vez mais, a abordagem do paciente com doença aterosclerótica coronariana, está se tornando individualizada. É o que chamamos de medicina personalizada. Para isso, a estratégia de utilizar vários marcadores biológicos torna-se necessária. Na SCA, a utilização de múltiplos marcadores já se tornou uma prática, sejam marcadores da inflamação, da ativação das plaquetas, da vulnerabilidade da placa ateromatosa, do estresse hemodinâmico e marcadores biológicos de necrose.

Entre a investigação de um novo marcador e a pretensão da sua utilização na prática clínica, acontece um longo percurso. E, muitas vezes, sem o sucesso esperado. Como relatado acima, após um longo percurso de investigação, estamos presenciando uma diminuição dos estudos relacionados ao uso da PCRus. Isto denota, o rigor científico com que se depara as avaliações destes marcadores.

Exemplo disto é a mudança, atualmente, na metodologia estatística empregada para melhor caracterizar a utilidade de um marcador. O método empregado anteriormente era a “área abaixo da curva” (AUC) (HOSMER; LEMESHOW, 2000). Um novo método idealizado por pesquisadores da “Harvard Medical School” (PENCINA *et al.*, 2008), a “net reclassification improvement” (NRI), trouxe mais transparência e robustez na comparação de um novo marcador com os fatores de riscos tradicionais. Infelizmente, na nossa amostra, em decorrência da necessidade de classificar a amostra em escores de risco, não foi possível realizar esta metodologia. Além do mais, os nossos resultados das citocinas e da MPO não permitem esta avaliação.

## 5.1 Limitações do estudo

Além dos já citados previamente (RIBEIRO, 2009), podemos acrescentar o momento da dosagem destes marcadores, talvez um pouco tardio em relação ao evento cardíaco e, também, a dosagem isolada, não nos permitiu saber se ocorreu uma variação circadiana destes marcadores.

Utilizamos a cineangiocoronariografia para definir o grau de obstrução coronariana e, provavelmente, deixamos de observar a carga ateromatosa que porventura tenha antes que ocorra a estenose das coronárias (GLAGOV *et al.*, 1987). No entanto, quando a análise foi feita pelo escore de Gensini, foi possível fazer uma gradação da obstrução coronariana.

A IL-18 não foi dosada na nossa amostra e poderia trazer mais subsídios para nossa análise, uma vez que tivemos elevação da IL-18BP.

## 6 CONCLUSÕES

Na amostra de pacientes submetidos à coronariografia e avaliados com o escore de Gensini, apresentação clínica (AE ou SCA), eventos cardiovasculares (cirurgia de RM, *stent*, dor torácica ou óbito), quadro clínico em dois anos (dor torácica ou óbito) e carga aterosclerótica (obstrução em carótidas, membros inferiores ou em coronárias):

1 Em 99 pacientes, a dosagem sérica da mieloperoxidase não apresentou correlação com o escore de Gensini e não apresentou associação com os parâmetros acima citados;

2 A interleucina-1 $\beta$  apresentou uma correlação negativa com o escore de Gensini;

3 A Interleucina-6 associou-se com a carga aterosclerótica em avaliação univariada;

4 A interleucina-18bp associou-se com pacientes portadores de síndrome coronariana aguda, tanto na análise univariada quanto na análise multivariada;

5 O escore de Gensini associou-se com todas as variáveis avaliadas, inclusive com o risco de dor torácica ou óbito em dois anos.

## REFERÊNCIAS

ABBOTT, A. Biologists claim Nobel prize with a knock-out. **Nature**, v. 449, n. 7163, p. 642, Oct. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17968382> >. Acesso em: 2 Jan. 2012.

AFIUNE NETO, A. et al. Monocitose é um marcador de risco independente para a doença arterial coronariana. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 86, p. 240-244, 2006. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2006000300013&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2006000300013&nrm=iso) >. Acesso em: 10 July 2012.

AIT-OUFELLA, H. et al. Recent advances on the role of cytokines in atherosclerosis. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 31, n. 5, p. 969-979, May 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21508343> >. Acesso em: 10 July 2012.

ALEXANDER, M. R. et al. Genetic inactivation of IL-1 signaling enhances atherosclerotic plaque instability and reduces outward vessel remodeling in advanced atherosclerosis in mice. **J. Clin. Invest.**, v. 122, n. 1, p. 70-79, Jan. 2012a.

\_\_\_\_\_. Genetic inactivation of IL-1 signaling enhances atherosclerotic plaque instability and reduces outward vessel remodeling in advanced atherosclerosis in mice. **J. Clin. Invest.**, v. 122, n. 1, p. 70-9, Jan. 2012b. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22201681> >. Acesso em: 10 July 2011.

AMBROSE, J. A. et al. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 12, n. 1, p. 56-62, July 1988.

ANAVEKAR, N.S. McMURRAY, J. J et al. Relation between renal dysfunction and cardiovascular outcomes after myocardial infarction. **N. Engl. J. Med.**, Vol 351, n 13, p. 1285-95, Sep 2004

ARBAB-ZADEH, A. et al. Acute Coronary Events. **Circulation**, v. 125, n. 9, p. 1147-1156, Mar. 2012. Disponível em: < <http://circ.ahajournals.org/content/125/9/1147.short> >. Acesso em: 10 July 2012.

ARMSTRONG, E. J.; MORROW, D. A.; SABATINE, M. S. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: part I: introduction and cytokines. **Circulation**, v. 113, n. 6, p. e72-75, Feb. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16476853> >. Acesso em: 10 July 2012.

BACK, M.; KETELHUTH, D. F.; AGEWALL, S. Matrix metalloproteinases in atherothrombosis. **Prog. Cardiovasc. Dis.**, v. 52, n. 5, p. 410-428, Mar./Apr. 2010.

BALDUS, S. et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. **Circulation**, v. 108, n. 12, p. 1440-1445, Sept. 2003. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12952835> >. Acesso em: 10 July 2012.

BHASKAR, V. et al. Monoclonal antibodies targeting IL-1 beta reduce biomarkers of atherosclerosis in vitro and inhibit atherosclerotic plaque formation in Apolipoprotein E-deficient mice. **Atherosclerosis**, v. 216, n. 2, p. 313-320, June 2011.

BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. **Clin. Pharmacol. Ther.**, v. 69, n. 3, p. 89-95, Mar. 2001.

BLACK, S.; KUSHNER, I.; SAMOLS, D. C-reactive Protein. **J. Biol. Chem.**, v. 279, n. 47, p. 48487-48490, Nov. 2004.

BLANKENBERG, S. et al. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. **Circulation**, v. 107, n. 12, p. 1579-1585, Apr. 2003.

\_\_\_\_\_. Contribution of 30 biomarkers to 10-year cardiovascular risk estimation in 2 population cohorts: the MONICA, risk, genetics, archiving, and monograph (MORGAM) biomarker project. **Circulation**, v. 121, n. 22, p. 2388-2397, June 2010.

BOOTCOV, M. R. et al. MIC-1, a novel macrophage inhibitory cytokine, is a divergent member of the TGF-beta superfamily. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 94, n. 21, p. 11514-11519, Oct. 1997. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9326641> >. Acesso em: 10 June 2012.

BOT, I. et al. Perivascular mast cells promote atherogenesis and induce plaque destabilization in apolipoprotein E-deficient mice. **Circulation**, v. 115, n. 19, p. 2516-2525, May 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Mortes por doenças cardiovasculares caem 20,5% no Brasil. **Boletim Eletrônico da Secretaria de Vigilância em Saúde**, nov. 2009.

BRAUN-DULLAEUS, R. C. A Natural-History Study of Coronary Disease. [Correspondence]. **N. Engl. J. Med.**, v. 364, n. 15, p. 1469-1472, 2011. Disponível em: < <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc1101916> >. Acesso em: 2 Mar. 2012.

BRAUNWALD, E. Creating controversy where none exists: the important role of C-reactive protein in the CARE, AFCAPS/TexCAPS, PROVE IT, REVERSAL, A to Z, JUPITER, HEART PROTECTION, and ASCOT trials. **Eur. Heart J.**, v. 33, n. 4, p. 430-432, Feb. 2012 2012. Disponível em: < <http://eurheartj.oxfordjournals.org/content/33/4/430.short> >. Acesso em: 2 Mar. 2012.

BRENNAN, M. L. et al. Increased atherosclerosis in myeloperoxidase-deficient mice. **J. Clin. Invest.**, v. 107, n. 4, p. 419-430, Feb. 2001.

\_\_\_\_\_. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. **N. Engl. J. Med.**, v. 349, n. 17, p. 1595-1604, Oct. 2003.

BROWN, D. A. et al. Concentration in plasma of macrophage inhibitory cytokine-1 and risk of cardiovascular events in women: a nested case-control study. **Lancet**, v. 359, n. 9324, p. 2159-2163, June 2002.

BUFFON, A. et al. Widespread coronary inflammation in unstable angina. **N. Engl. J. Med.**, v. 347, n. 1, p. 5-12, July 2002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12097534> >. Acesso em: 10 July 2012.

BURGGRAF, G. W.; PARKER, J. O. Prognosis in coronary artery disease. Angiographic, hemodynamic, and clinical factors. **Circulation**, v. 51, n. 1, p. 146-156,

Jan. 1975. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1109313> >. Acesso em: 2 July 2012.

CHAMBERLAIN, J. et al. Interleukin-1 regulates multiple atherogenic mechanisms in response to fat feeding. **PLoS One**, v. 4, n. 4, p. e5073, 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19347044> >. Acesso em: 2 July 2012.

CORDEIRO, M. A.; LIMA, J. A. Atherosclerotic plaque characterization by multidetector row computed tomography angiography. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 47, n. 8, Suppl., p. C40-47, Apr. 2006.

COSSON, E. et al. Prognosis for coronary stenoses in patients with diabetes and silent myocardial ischemia. **Diabetes Care**, v. 26, n. 4, p. 1313-1314, Apr. 2003. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12663617> >. Acesso em: 12 July 2012.

CROSSMAN, D. C. et al. Investigation of the effect of Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) on markers of inflammation in non-ST elevation acute coronary syndromes (The MRC-ILA-HEART Study). **Trials**, v. 9, p. 8, 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18298837> >. Acesso em: 12 July 2012.

DAUGHERTY, A. et al. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. **J. Clin. Invest.**, v. 94, n. 1, p. 437-444, July 1994. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8040285> >. Acesso em: 10 June 2012.

DAVIES, J. R. et al. Radionuclide imaging for the detection of inflammation in vulnerable plaques. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 47, n. 8, Suppl., p. C57-68, Apr. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16631511> >. Acesso em: 10 June 2012.

DE AZEVEDO LUCIO, E. et al. Lack of association between plasma myeloperoxidase levels and angiographic severity of coronary artery disease in patients with acute coronary syndrome. **Inflamm. Res.**, v. 60, n. 2, p. 137-142, Feb. 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20848159> >. Acesso em: 10 June 2012.

DE GAETANO, G. et al. Pharmacology of platelet inhibition in humans: implications of the salicylate-aspirin interaction. **Circulation**, v. 72, n. 6, p. 1185-1193, Dec. 1985. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2998640> >. Acesso em: 10 July 2012.

DE LEMOS, J. A.; ROHATGI, A. Separating the contenders from the pretenders: competitive high-throughput biomarker screening in large population-based studies. **Circulation**, v. 121, n. 22, p. 2381-2383, June 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20497975> >. Acesso em: 10 July 2012.

DE NOOIJER, R. et al. Overexpression of IL-18 decreases intimal collagen content and promotes a vulnerable plaque phenotype in apolipoprotein-E-deficient mice. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 24, n. 12, p. 2313-2319, Dec. 2004. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15472128> >. Acesso em: 12 July 2012.

DELIARGYRIS, E. N. Intravascular ultrasound virtual histology derived thin cap fibroatheroma now you see it, now you don't. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 55, n. 15, p. 1598-1599, Apr. 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20378077> >. Acesso em: 10 July 2012.

DEWOOD, M. A. et al. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. **N. Engl. J. Med.**, v. 303, n. 16, p. 897-902, Oct. 1980. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7412821> >. Acesso em: 12 July 2012.

DINARELLO, C. A. Historical insights into cytokines. **Eur. J. Immunol.**, v. 37, Suppl. 1, p. S34-45, Nov. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17972343> >. Acesso em: 12 June 2012.

FÉLÉTOU, M.; VANHOUTTE, P. M. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder (The Wiggers Award Lecture). **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 291, n. 3, p. H985-1002, Sept. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16632549> >. Acesso em: 10 June 2012.

FERRANTE, G. et al. High levels of systemic myeloperoxidase are associated with coronary plaque erosion in patients with acute coronary syndromes: a clinicopathological study. **Circulation**, v. 122, n. 24, p. 2505-2513, Dec. 2010.

Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21126969> >. Acesso em: 10 June 2012.

FERRI, N.; PAOLETTI, R.; CORSINI, A. Biomarkers for atherosclerosis: pathophysiological role and pharmacological modulation. **Curr. Opin. Lipidol.**, v. 17, n. 5, p. 495-501, Oct. 2006.

FINN, A. V. et al. Concept of vulnerable/unstable plaque. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 30, n. 7, p. 1282-1292, July 2010.

FRIEDMAN, G. D.; KLATSKY, A. L.; SIEGELAUB, A. B. The leukocyte count as a predictor of myocardial infarction. **N. Engl. J. Med.**, v. 290, n. 23, p. 1275-11278, June 1974. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4827627> >. Acesso em: 10 June 2012.

GALKINA, E.; LEY, K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis (\*). **Annu. Rev. Immunol.**, v. 27, p. 165-197, 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19302038> >. Acesso em: 10 July 2012.

GENEST, J. et al. 2009 Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease in the adult - 2009 recommendations. **Can. J. Cardiol.**, v. 25, n. 10, p. 567-579, Oct. 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19812802> >. Acesso em: 10 July 2012.

GEORGE, S. J.; LYON, C. Pathogenesis of atherosclerosis. In: GEORGE, S. J.; JOHNSON, J. **Atherosclerosis: Molecular and Cellular Mechanisms**. [S.l.]: Wiley-Blackwell, 2010. p. 3-20. Disponível em: <<http://xa.yimg.com/kq/groups/22882378/1161134736/name/ateroesclerosis+libro+2010%5B1%5D.pdf>>. Acesso em: 10 July 2012.

GLAGOV, S. et al. Compensatory Enlargement of Human Atherosclerotic Coronary Arteries. **N. Engl. J. Med.**, v. 316, n. 22, p. 1371-1375, 1987. Disponível em: < <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM198705283162204> >. Acesso em: 10 July 2012.

GLASS, C. K.; WITZTUM, J. L. Atherosclerosis. the road ahead. **Cell**, v. 104, n. 4, p. 503-516, Feb. 2001. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11239408> >. Acesso em: 10 July 2012.

GO, A. S. et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. **N. Engl. J. Med.**, v. 351, n. 13, p. 1296-1305, Sept, 2004. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15385656> >. Acesso em: 10 July 2012.

GRADY, D. et al. Cardiovascular Disease Outcomes During 6.8 Years of Hormone TherapyHeart and Estrogen/Progestin Replacement Study Follow-up (HERS II). **JAMA**, v. 288, n. 1, p. 49-57, 2002. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1001/jama.288.1.49> >. Acesso em: 10 July 2012.

GRAYSTON, J. T. Antibiotic treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. **Circulation**, v. 107, n. 9, p. 1228-1230, Mar. 2003.

HALVORSEN, B. et al. Atherosclerotic plaque stability--what determines the fate of a plaque? **Prog. Cardiovasc. Dis.**, v. 51, n. 3, p. 183-194, Nov./Dec. 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19026853> >. Acesso em: 10 July 2012.

HANSSON, G. K.; HERMANSSON, A. The immune system in atherosclerosis. **Nat. Immunol.**, v. 12, n. 3, p. 204-212, Mar. 2011. Disponível em: <Go to ISI>://WOS:000287354400007 >. Acesso em: 10 July 2012.

HANSSON, G. K. et al. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. **Circ. Res.**, v. 91, n. 4, p. 281-291, Aug. 2002.

HARRIS, P. J. et al. The prognostic significance of 50% coronary stenosis in medically treated patients with coronary artery disease. **Circulation**, v. 62, n. 2, p. 240-248, Aug. 1980. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7397965> >. Acesso em: 10 July 2012.

HARTZLER, G. O. et al. Coronary blood-flow responses during successful percutaneous transluminal coronary angioplasty. **Mayo Clin. Proc.**, v. 55, n. 1, p. 45-49, Jan. 1980. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7351863> >. Acesso em: 10 July 2012.

HARVEY, E. J.; RAMJI, D. P. Interferon-gamma and atherosclerosis: pro- or anti-atherogenic? **Cardiovasc. Res.**, v. 67, n. 1, p. 11-20, July 2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15907820> >. Acesso em: 10 July 2012.

HASDAI, D. et al. Increased serum concentrations of interleukin-1 beta in patients with coronary artery disease. **Heart**, v. 76, n. 1, p. 24-28, July 1996.

HAZEN, S. L.; HEINECKE, J. W. 3-Chlorotyrosine, a specific marker of myeloperoxidase-catalyzed oxidation, is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima. **J. Clin. Invest.**, v. 99, n. 9, p. 2075-2081, May 1997. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9151778> >. Acesso em: 10 July 2012.

HINGORANI, A.; HUMPHRIES, S. Nature's randomised trials. **Lancet**, v. 366, n. 9501, p. 1906-1908, Dec. 2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16325682> >. Acesso em: 10 July 2012.

HIRSCHFIELD, G. M. et al. Transgenic human C-reactive protein is not proatherogenic in apolipoprotein E-deficient mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 102, n. 23, p. 8309-8314, June 2005.

HORNE, B. D. et al. Which white blood cell subtypes predict increased cardiovascular risk? **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 45, n. 10, p. 1638-1643, May 2005.

\_\_\_\_\_. Which White Blood Cell Subtypes Predict Increased Cardiovascular Risk? **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 45, n. 10, p. 1638-1643, May 2005. Disponível em: < <http://content.onlinejacc.org/cgi/content/abstract/45/10/1638> >. Acesso em: 10 July 2012.

HOSMER, D.; LEMESHOW, S. **Applied Logistic Regression**. 2nd. ed. [S.l.]: Wiley-Interscience Publication, 2000.

IKONOMIDIS, I. et al. Increased proinflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin. **Circulation**, v. 100, n. 8, p. 793-798, Aug. 1999. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10458713> >. Acesso em: 10 July 2012.

JAMES, S. K. et al. Troponin-T and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predict mortality benefit from coronary revascularization in acute coronary syndromes: a GUSTO-IV substudy. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 48, n. 6, p. 1146-1154, Sept. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16978997> >. Acesso em: 10 July 2012.

JAVIER NETO, F. **Inflammation and Atherosclerosis**. New York: Springer, 2012.

JERNBERG, T. et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide in relation to inflammation, myocardial necrosis, and the effect of an invasive strategy in unstable coronary artery disease. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 42, n. 11, p. 1909-1916, Dec. 2003. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14662251> >. Acesso em: 10 July 2012.

JONGSTRA-BILEN, J. et al. Low-grade chronic inflammation in regions of the normal mouse arterial intima predisposed to atherosclerosis. **J. Exp. Med.**, v. 203, n. 9, p. 2073-2083, Sept. 2006.

KAMATH, S.; LIP, G. Y. Fibrinogen: biochemistry, epidemiology and determinants. **QJM**, v. 96, n. 10, p. 711-729, Oct. 2003. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14500858> >. Acesso em: 10 July 2012.

KANNEL, W. B.; D'AGOSTINO, R. B.; BELANGER, A. J. Fibrinogen, cigarette smoking, and risk of cardiovascular disease: insights from the Framingham Study. **Am. Heart J.**, v. 113, n. 4, p. 1006-1010, Apr. 1987. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3565227> >. Acesso em: 10 July 2012.

KEEFER, C. S.; RESNIK, W. H. Angina pectoris syndrome caused by anoxemia of the myocardium. **Arch. Int. Med.**, v. 41, n. 6, p. 769-807, 1928. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1001/archinte.1928.00130180002001> >. Acesso em: 10 July 2012.

KHOT, U. N. et al. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. **JAMA**, v. 290, n. 7, p. 898-904, Aug. 2003.

KINLAY, S.; LIBBY, P.; GANZ, P. Endothelial function and coronary artery disease. **Curr. Opin. Lipidol.**, v. 12, n. 4, p. 383-389, Aug. 2001. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11507322> >. Acesso em: 10 July 2012.

KIRKWOOD, B.; STERNE, J. **Essential Medical Statistics**. 2nd. ed. [S.l.]: Blackwell Scientific, 2006.

KÖNIG, A.; KLAUSS, V. Virtual histology. **Heart**, v. 93, n. 8, p. 977-982, Aug. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17502324> >. Acesso em: 10 July 2012.

KUBO, T. et al. The dynamic nature of coronary artery lesion morphology assessed by serial virtual histology intravascular ultrasound tissue characterization. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 55, n. 15, p. 1590-1597, Apr. 2010.

LANGHEINRICH, A. C.; BOHLE, R. M. Atherosclerosis: humoral and cellular factors of inflammation. **Virchows Arch.**, v. 446, n. 2, p. 101-111, Feb. 2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15688168> >. Acesso em: 10 July 2012.

LANSKY, A. J. et al. Clinical and angiographic predictors of short- and long-term ischemic events in acute coronary syndromes: results from the Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage strategY (ACUITY) trial. **Circ. Cardiovasc. Interv.**, v. 3, n. 4, p. 308-316, Aug. 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20647564> >. Acesso em: 10 July 2012.

LEVI, M.; VAN DER POLL, T.; BÜLLER, H. R. Bidirectional Relation Between Inflammation and Coagulation. **Circulation**, v. 109, n. 22, p. 2698-2704, June 2004. Disponível em: < <http://circ.ahajournals.org/content/109/22/2698.short> >. Acesso em: 10 July 2012.

LI, J. J. **Triumph of the Heart: The Story of Statins**. Oxford: Oxford University Press, 2009.

LIAO, H. S. et al. Transcriptional inhibition by interleukin-6 of the class A macrophage scavenger receptor in macrophages derived from human peripheral

monocytes and the THP-1 monocytic cell line. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 19, n. 8, p. 1872-1880, Aug. 1999. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10446065> >. Acesso em: 10 July 2012.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 868-874, Dec. 2002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12490960> >. Acesso em: 10 July 2012.

\_\_\_\_\_. **Braunwald's Heart Disease**. [S. l]: Elsevier Saunders, 2012.

LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; HANSSON, G. K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. **Nature**, v. 473, n. 7347, p. 317-325, May 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21593864> >. Acesso em: 10 July 2012.

MAIER, W. et al. Inflammatory Markers at the Site of Ruptured Plaque in Acute Myocardial Infarction. **Circulation**, v. 111, n. 11, p. 1355-1361, Mar. 2005. Disponível em: < <http://circ.ahajournals.org/content/111/11/1355.abstract> >. Acesso em: 10 July 2012.

MALLAT, Z. et al. Expression of interleukin-18 in human atherosclerotic plaques and relation to plaque instability. **Circulation**, v. 104, n. 14, p. 1598-1603, Oct. 2001. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11581135> >. Acesso em: 10 July 2012.

MEADE, T. et al. Bezafibrate in men with lower extremity arterial disease: randomised controlled trial. **BMJ**, v. 325, n. 7373, p. 1139, Nov. 2002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12433762> >. Acesso em: 10 July 2012.

MEURMAN, J. H.; SANZ, M.; JANKET, S. J. Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v. 15, n. 6, p. 403-413, 2004.

MEUWESE, M. C. et al. Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPIC-Norfolk Prospective Population Study. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 50, n. 2, p. 159-165, July 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17616301> >. Acesso em: 10 July 2012.

MILLER, A. M. et al. IL-33 reduces the development of atherosclerosis. **J. Exp. Med.**, v. 205, n. 2, p. 339-346, Feb. 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18268038> >. Acesso em: 10 July 2012.

MILLONIG, G. et al. The vascular-associated lymphoid tissue: a new site of local immunity. **Curr. Opin. Lipidol.**, v. 12, n. 5, p. 547-553, Oct. 2001.

MOCATTA, T. J. et al. Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 49, n. 20, p. 1993-2000, May 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17512353> >. Acesso em: 10 July 2012.

MONTORSI, P. et al. Association between erectile dysfunction and coronary artery disease. Role of coronary clinical presentation and extent of coronary vessels involvement: the COBRA trial. **Eur. Heart J.**, v. 27, n. 22, p. 2632-2639, Nov. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16854949> >. Acesso em: 2 July 2012.

MORENO, P. R. Vulnerable plaque: definition, diagnosis, and treatment. **Cardiol. Clin.**, v. 28, n. 1, p. 1-30, Feb. 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19962047> >. Acesso em: 2 July 2012.

MORROW, D. **Biomarkers: pathophysiology and disease management**. [S.l.]: Humana Press, 2006.

MORROW, D. A. et al. Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18. **Eur. Heart J.**, v. 29, n. 9, p. 1096-1102, May 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18339606> >. Acesso em: 10 July 2012.

MORTON, A. C. et al. Investigation of IL-1 inhibition in patients presenting with non-ST elevation myocardial infarction acute coronary syndromes (The MRC ILA HEART study). In: BRITISH CARDIOVASCULAR SOCIETY ANNUAL CONFERENCE, 2011. Manchester Central. **Heart**, v. 97, Suppl. 1, p. A13, June 2011.

MOTOYAMA, S. et al. Multislice Computed Tomographic Characteristics of Coronary Lesions in Acute Coronary Syndromes. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 50, n. 4, p. 319-326, July 2007. Disponível em: < <http://content.onlinejacc.org/cgi/content/abstract/50/4/319> >. Acesso em: 10 July 2012.

NAPOLI, C. et al. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. **J. Clin. Invest.**, v. 100, n. 11, p. 2680-2690, Dec. 1997.

NARUKO, T. et al. Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. **Circulation**, v. 106, n. 23, p. 2894-2900, Dec. 2002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12460868> >. Acesso em: 10 July 2012.

NATHAN, C. Points of control in inflammation. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 846-852, Dec. 2002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12490957> >. Acesso em: 10 July 2012.

NDREPEPA, G. et al. Myeloperoxidase level in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes. **Eur. J. Clin. Invest.**, v. 38, n. 2, p. 90-96, Feb. 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18226042> >. Acesso em: 10 July 2012.

NICHOLLS, S. J.; HAZEN, S. L. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 25, n. 6, p. 1102-1111, June 2005.

NOVICK, D. et al. A novel IL-18BP ELISA shows elevated serum IL-18BP in sepsis and extensive decrease of free IL-18. **Cytokine**, v. 14, n. 6, p. 334-342, June 2001. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11497494> >. Acesso em: 10 July 2012.

NUSSENBLATT, R. B. et al. National Institutes of Health Center for Human Immunology Conference, September 2009. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 1200, Suppl. 1, p. E1-23, July 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20633145> >. Acesso em: 10 July 2012.

OLIVARES, R.; DUCIMETIÈRE, P.; CLAUDE, J. R. Monocyte Count: A Risk Factor for Coronary Heart Disease? **Am. J. Epidemiol.**, v. 137, n. 1, p. 49-53, Jan. 1993. Disponível em: < <http://aje.oxfordjournals.org/content/137/1/49.abstract> >. Acesso em: 10 July 2012.

PAGANO, M.; GAUVREAU, K. **Princípios de bioestatística**. 2. ed. [S.l.]: Thomson, 2000.

PEARSON, T. A. et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. **Circulation**, v. 107, n. 3, p. 499-511, Jan. 2003.

PENCINA, M. J. et al. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond. **Stat. Med.**, v. 27, n. 2, p. 157-212, Jan. 2008.

PLUTZKY, J.; LIBBY, P. Pathophysiology of atherosclerotic heart disease. In: TONKIN, A. M. (Ed.). **Atherosclerosis and heart disease**. London: Martin-Dunitz, 2003. p. 1-12.

PODREZ, E. A. et al. Myeloperoxidase-generated reactive nitrogen species convert LDL into an atherogenic form in vitro. **J. Clin. Invest.**, v. 103, n. 11, p. 1547-1560, June 1999. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10359564> >. Acesso em: 10 July 2012.

RIBEIRO, D. **Análise do fragmento amino-terminal do pro-peptídeo natriurético tipo b e de fatores de risco para oclusão coronariana aterosclerótica angiográfica em pacientes com a hipótese diagnóstica de cardiopatia isquêmica**. 2009. 129 f. (Doutorado) - Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, 2009.

RIDKER, P. M. et al. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. **Circulation**, v. 109, n. 25, Suppl. 1, p. IV6-19, June 2004.

\_\_\_\_\_. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. **JAMA**, v. 297, n. 6, p. 611-619, Feb. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17299196> >. Acesso em: 10 July 2012.

\_\_\_\_\_. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. **N. Engl. J. Med.**, v. 359, n. 21, p. 2195-2207, Nov. 2008.

\_\_\_\_\_. Interleukin-1 $\beta$  inhibition and the prevention of recurrent cardiovascular events: rationale and design of the Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study (CANTOS). **Am. Heart J.**, v. 162, n. 4, p. 597-605, Oct. 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21982649> >. Acesso em: 10 July 2012.

ROBINSON, J. G. Models for Describing Relations Among the Various Statin Drugs, Low-Density Lipoprotein Cholesterol Lowering, Pleiotropic Effects, and Cardiovascular Risk. **Am. J. Cardiol.**, v. 101, n. 7, p. 1009-1015, 2008. Disponível em: < <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002914907023624?showall=true> >. Acesso em: 10 July 2012.

ROGER, V. L. et al. Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 125, n. 1, p. e2-e220, Jan. 2012.

ROMAN, R. M.; WENDLAND, A. E.; POLANCZYK, C. A. Myeloperoxidase and coronary arterial disease: from research to clinical practice. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 91, n. 1, p. e11-19, July 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18660935> >. Acesso em: 10 July 2012.

ROSS, R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. **Nature**, v. 362, n. 6423, p. 801-809, Apr. 1993. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8479518> >. Acesso em: 10 July 2012.

ROSS, R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 340, n. 2, p. 115-126, Jan. 1999.

SAKAGUCHI, S. et al. Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. **Immunol. Rev.**, v. 212, p. 8-27, Aug. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16903903> >. Acesso em: 10 July 2012.

SANZ, J.; FAYAD, Z. A. Imaging of atherosclerotic cardiovascular disease. **Nature**, v. 451, n. 7181, p. 953-957, 2008. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nature06803> >. Acesso em: 10 July 2012.

SATTAR, N. et al. Explaining how "high-grade" systemic inflammation accelerates vascular risk in rheumatoid arthritis. **Circulation**, v. 108, n. 24, p. 2957-2963, Dec. 2003.

SCHUNKERT, H.; SAMANI, N. J. Elevated C-Reactive Protein in Atherosclerosis — Chicken or Egg? **N. Engl. J. Med.**, v. 359, n. 18, p. 1953-1955, 2008. Disponível em: < <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMe0807235> >. Acesso em: 10 July 2012.

SEKI, K. et al. Interleukin-33 prevents apoptosis and improves survival after experimental myocardial infarction through ST2 signaling. **Circ. Heart Fail.**, v. 2, n. 6, p. 684-691, Nov. 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19919994> >. Acesso em: 10 July 2012.

SEVER, P. S. et al. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial?Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. **Lancet**, v. 361, n. 9364, p. 1149-1158, 2003. Disponível em: < <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673603129480> >. Acesso em: 10 July 2012.

\_\_\_\_\_. Evaluation of C-reactive protein prior to and on-treatment as a predictor of benefit from atorvastatin: observations from the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial. **Eur. Heart J.**, v. 33, n. 4, p. 486-494, Feb. 2012. Disponível em: < <http://eurheartj.oxfordjournals.org/content/33/4/486.abstract> >. Acesso em: 12 July 2012.

SHIH, J. et al. Effect of collection tube type and preanalytical handling on myeloperoxidase concentrations. **Clin. Chem.**, v. 54, n. 6, p. 1076-1079, June 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18509013> >. Acesso em: 10 July 2012.

SHIMIZU, C. et al. High circulating levels of interleukin-18 binding protein indicate the severity of glomerular involvement in systemic lupus erythematosus. **Mod. Rheumatol.**, v. 22, n. 1, p. 73-79, Feb. 2012.

SMITH, E. B. Fibrinogen, fibrin and fibrin degradation products in relation to atherosclerosis. **Clin. Haematol.**, v. 15, n. 2, p. 355-370, May 1986. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3524931> >. Acesso em: 10 July 2012.

SPAGNOLI, L. G. et al. Role of inflammation in atherosclerosis. **J. Nucl. Med.**, v. 48, n. 11, p. 1800-1815, Nov. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17942804> >. Acesso em: 10 June 2011.

STENVINKEL, P.; PECOITS-FILHO, R.; LINDHOLM, B. Coronary artery disease in end-stage renal disease: no longer a simple plumbing problem. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 14, n. 7, p. 1927-1939, July 2003. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12819254> >. Acesso em: 10 July 2012.

STONE, G. W. et al. A prospective natural-history study of coronary atherosclerosis. **N. Engl. J. Med.**, v. 364, n. 3, p. 226-235, Jan. 2011.

SUGIYAMA, S. et al. Hypochlorous acid, a macrophage product, induces endothelial apoptosis and tissue factor expression: involvement of myeloperoxidase-mediated oxidant in plaque erosion and thrombogenesis. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 24, n. 7, p. 1309-1314, July 2004. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15142860> >. Acesso em: 10 July 2012.

\_\_\_\_\_. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. **Am. J. Pathol.**, v. 158, n. 3, p. 879-891, Mar. 2001. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11238037> >. Acesso em: 10 July 2012.

SUN, J. et al. Mast cells promote atherosclerosis by releasing proinflammatory cytokines. **Nat. Med.**, v. 13, n. 6, p. 719-724, June 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17546038> >. Acesso em: 12 June 2012.

SWIRSKI, F. K. et al. Ly-6Chi monocytes dominate hypercholesterolemia-associated monocytosis and give rise to macrophages in atheromata. **J. Clin. Invest.**, v. 117, n. 1, p. 195-205, Jan. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17200719> >. Acesso em: 10 June 2012.

\_\_\_\_\_. Monocyte accumulation in mouse atherogenesis is progressive and proportional to extent of disease. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 103, n. 27, p. 10340-10345, July 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16801531> >. Acesso em: 10 July 2012.

TACKE, F. et al. Monocyte subsets differentially employ CCR2, CCR5, and CX3CR1 to accumulate within atherosclerotic plaques. **J. Clin. Invest.**, v. 117, n. 1, p. 185-194, Jan. 2007.

TANI, S. et al. Association of Leukocyte Subtype Counts With Coronary Atherosclerotic Regression Following Pravastatin Treatment. **Am. J. Cardiol.**, v. 104, n. 4, p. 464-469, 2009. Disponível em: < <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002914909009114?showall=true> >. Acesso em: 10 June 2012.

TANNE, D. et al. A prospective study of plasma fibrinogen levels and the risk of stroke among participants in the bezafibrate infarction prevention study. **Am. J. Med.**, v. 111, n. 6, p. 457-463, Oct. 2001. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11690571> >. Acesso em: 10 July 2012.

TEDGUI, A.; MALLAT, Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. **Physiol. Rev.**, v. 86, n. 2, p. 515-581, Apr. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16601268> >. Acesso em: 10 June 2012.

TIMPSON, N. J. et al. C-reactive protein and its role in metabolic syndrome: mendelian randomisation study. **Lancet**, v. 366, n. 9501, p. 1954-1959, Dec. 2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16325697> >. Acesso em: 10 June 2012.

TOPOL, E. J. et al. (Ed.). **Textbook of cardiovascular medicine**. Philadelphia: Lippincott & Wilkins, 2007.

TRAUB, O.; BERK, B. C. Laminar shear stress: mechanisms by which endothelial cells transduce an atheroprotective force. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 18, n. 5, p. 677-685, May 1998. Disponível em:  
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9598824> >. Acesso em: 10 June 2011.

VANCRAEYNEST, D. et al. Imaging the vulnerable plaque. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 57, n. 20, p. 1961-1979, May 2011. Disponível em:  
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21565634> >. Acesso em: 10 June 2012.

VARTIAINEN, E. et al. Thirty-five-year trends in cardiovascular risk factors in Finland. **Int. J. Epidemiol.**, v. 39, n. 2, p. 504-518, Apr 2010.

VASAN, R. S. Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations. **Circulation**, v. 113, n. 19, p. 2335-2362, May 2006.

VELICAN, D.; VELICAN, C. Study of fibrous plaques occurring in the coronary arteries of children. **Atherosclerosis**, v. 33, n. 2, p. 201-215, 1979. Disponível em:  
< <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0021915079901175> >. Acesso em: 10 June 2012.

VIRMANI, R. et al. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 20, n. 5, p. 1262-1275, May 2000.

WEINER, D. E. et al. Cardiovascular outcomes and all-cause mortality: exploring the interaction between CKD and cardiovascular disease. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 48, n. 3, p. 392-401, Sept. 2006. Disponível em:  
< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16931212> >. Acesso em: 10 July 2012.

WHO. MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. WHO MONICA Project Principal Investigators. **J. Clin. Epidemiol.**, v. 41, n. 2, p. 105-114, 1988.

WILSON, A. M.; RYAN, M. C.; BOYLE, A. J. The novel role of C-reactive protein in cardiovascular disease: risk marker or pathogen. **Int. J. Cardiol.**, v. 106, n. 3, p. 291-297, Jan. 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16337036> >. Acesso em: 10 July 2012.

WOLLERT, K. C. et al. Prognostic value of growth-differentiation factor-15 in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome. **Circulation**, v. 115, n. 8, p. 962-971, Feb. 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17283261> >. Acesso em: 10 June 2011.

XING, Z. et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. **J. Clin. Invest.**, v. 101, n. 2, p. 311-320, Jan. 1998. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9435302> >. Acesso em: 10 June 2011.

YUAN, C. et al. Identification of fibrous cap rupture with magnetic resonance imaging is highly associated with recent transient ischemic attack or stroke. **Circulation**, v. 105, n. 2, p. 181-185, Jan. 2002.

YUSUF, S. et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. **Lancet**, v. 364, n. 9438, p. 937-952, Sept. 2004. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15364185> >. Acesso em: 10 July 2012.

ZHANG, R. et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. **JAMA**, v. 286, n. 17, p. 2136-2142, Nov. 2001.

ZUO, Y. et al. Renal dysfunction potentiates foam cell formation by repressing ABCA1. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 29, n. 9, p. 1277-1282, Sept. 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19667109> >. Acesso em: 10 July 2012.

# **ANEXOS**

**Anexos A**  
Atividade sérica da Mieloperoxidase (MPO)

<b>Prontuário</b>	<b>MPO<sub>(U/L)</sub></b>	<b>Prontuário</b>	<b>MPO<sub>(U/L)</sub></b>	<b>Prontuário</b>	<b>MPO<sub>(U/L)</sub></b>
744546	0,00	744728	3,54	757280	7,39
745543	3,92	134800	3,29	756975	8,45
745257	6,32	751137	5,44	757671	4,80
745723	6,19	751908	6,32	758241	6,95
746127	10,37	751917	4,42	340590	0,00
746124	8,85	677407	18,67	360241	3,50
746119	4,30	483915	12,03	758721	8,36
746342	4,68	613833	5,06	757614	18,23
745998	4,17	723539	0,00	758846	2,28
591826	6,57	367349	3,54	759007	0,00
745439	4,78	596472	2,43	757356	8,22
749330	0,00	753699	6,95	759306	7,61
746463	0,00	750867	5,27	757674	3,92
749730	4,55	754139	4,05	759638	0,00
344870	8,10	754638	0,00	471945	5,44
749944	0,00	755058	0,00	757892	4,30
481343	4,30	755314	7,96	761141	7,17
750087	0,00	754427	0,00	761265	0,00
750261	2,79	755810	17,57	761260	3,41
750258	0,00	756083	5,82	761466	14,96
751604	0,00	756184	3,92	761761	10,35
750562	0,00	756293	22,17	761753	4,05
750678	2,15	143556	4,05	762000	0,00

Prontuário	MPO <sub>(U/L)</sub>
77867	4,42
762632	4,65
341059	0,53
762847	1,15
763097	5,69
763253	3,54
763512	4,80
397538	0,00
761888	1,99
279178	0,75

Prontuário	MPO <sub>(U/L)</sub>
764187	4,55
764151	0,00
483776	0,00
763849	0,00
763706	28,67
759494	0,00
764849	11,90
764795	4,12
764956	1,86
212798	0,04

Prontuário	MPO <sub>(U/L)</sub>
468806	0,00
765359	4,42
765582	5,94
765235	3,79
765882	5,31
766269	6,83
766249	5,69
78010	6,07
176779	5,31
767132	5,94

## Anexo B

### Medidas dos escores de Gensini

Prontuário	Gensini	Prontuário	Gensini	Prontuário	Gensini
744546	32,00	746463	4,00	753284	5,00
289528	0,00	749730	48,00	445065	20,00
745638	169,00	344870	100,00	596472	32,00
745257	4,00	749944	0,00	753699	126,00
745723	14,00	481343	8,00	750867	0,00
745918	0,00	750087	124,00	754638	116,00
746127	0,00	750261	0,00	755058	60,00
746124	80,00	750258	0,00	755063	52,00
746119	32,00	750347	16,00	755276	24,00
745938	75,00	751604	160,00	755314	32,00
746352	0,00	750562	20,00	754427	40,00
746342	0,00	750678	21,00	755794	118,00
746395	38,00	423968	0,00	755810	56,00
745998	141,00	751422	64,00	756083	28,00
746637	21,00	744728	3,00	756184	57,00
591826	0,00	134800	0,00	756293	40,00
140240	90,00	751137	0,00	757153	0,00
745187	60,00	751908	128,00	143556	37,00
745439	32,00	751917	46,00	757280	30,00
505338	60,00	677407	4,00	756975	20,00
748815	50,00	483915	56,00	757671	28,00
748818	36,00	613833	0,00	757887	41,00
749330	48,00	723539	120,00	757900	14,00

Prontuário	Gensini
751889	80,00
758241	42,00
677662	28,00
745124	4,00
340590	0,00
360241	68,00
758721	5,00
757614	32,00
757841	2,00
758846	0,00
759007	148,00
757356	32,00
759306	68,00
757674	0,00
759477	0,00
759476	40,00
759638	0,00
471945	0,00
758165	0,00
720664	56,00
760533	3,00
760617	28,00
757892	30,00
761141	0,00
761265	20,00
761260	0,00

Prontuário	Gensini
761466	0,00
760519	88,00
761761	2,00
761753	5,00
762000	51,00
745695	18,00
77867	36,00
762632	2,00
385963	12,00
341059	4,00
762847	0,00
681759	0,00
763051	0,00
763097	1,00
763253	0,00
763255	88,00
763512	48,00
763270	22,00
397538	0,00
761888	56,00
279178	0,00
764187	2,50
764151	8,00
764073	0,00
483776	0,00
370441	54,00

Prontuário	Gensini
763950	8,00
763849	26,00
764572	112,00
763706	140,00
759494	54,00
764849	52,00
764795	0,00
764956	116,00
212798	0,00
468806	52,00
765388	36,00
765359	0,00
764621	32,00
765582	16,00
765235	32,00
765882	80,00
281066	52,00
692336	0,00
766269	0,00
766249	0,00
78010	32,00
176779	54,00
766931	30,00
767132	0,00

### Anexo C

#### Dosagens séricas das Citocinas

<b>Prontuário</b>	<b>IL1-<math>\beta</math>(pg/ml)</b>	<b>IL6(pg/ml)</b>	<b>IL18BP(pg/ml)</b>	<b>IL33(pg/ml)</b>	<b>TNF-<math>\alpha</math>(pg/ml)</b>
744546	19,88	15,84	8,78	97,27	98,26
746124	16,73	12,22	12,15	77,44	72,17
746119	25,50	13,56	12,35	299,36	223,72
745439	18,24	13,83	11,88	112,38	72,72
749330	15,08	9,80	13,01	97,27	67,73
746463	16,73	11,54	9,44	219,09	68,28
749730	17,55	10,74	9,54	87,83	73,83
344870	16,45	11,41	8,21	82,16	66,06
749944	18,37	11,41	6,44	122,77	68,84
481343	15,77	11,41	9,04	89,71	72,17
750087	17,14	10,87	9,19	91,60	69,39
750261	18,51	9,53	8,83	87,83	73,28
750258	16,45	10,47	8,71	81,22	59,40
751604	16,04	10,87	9,69	75,55	63,84
750562	18,24	16,78	10,95	85,94	72,72
750678	17,82	10,34	9,06	101,05	74,94
744728	18,78	14,23	11,58	82,16	69,39
134800	17,96	15,04	9,54	131,27	73,83
751137	18,24	11,41	8,36	160,54	68,84
751908	13,99	13,02	10,34	146,38	56,62
677407	20,84	11,28	7,53	255,92	123,80
483915	22,08	13,02	9,69	216,26	107,14
613833	17,96	11,95	12,13	100,10	74,39

<b>Prontuário</b>	<b>IL1-<math>\beta</math>(pg/ml)</b>	<b>IL6(pg/ml)</b>	<b>IL18BP(pg/ml)</b>	<b>IL33(pg/ml)</b>	<b>TNF-<math>\alpha</math>(pg/ml)</b>
723539	17,55	10,74	7,70	85,94	73,83
367349	17,82	10,74	8,43	90,66	67,17
596472	17,41	12,08	8,81	70,83	72,72
753699	17,55	20,27	13,54	105,77	82,72
750867	16,45	11,41	14,44	97,27	64,40
754139	15,63	10,87	11,45	92,55	66,06
754638	17,69	12,22	9,56	87,83	72,17
755058	15,63	11,95	10,32	110,49	66,62
755314	16,59	24,30	11,10	94,44	81,05
754427	19,06	13,16	10,14	189,82	96,04
755810	16,59	37,19	12,91	83,10	79,38
756083	17,14	17,18	9,66	148,27	74,94
756184	15,91	10,74	9,66	80,27	68,84
756293	17,00	10,74	10,67	84,05	70,50
757280	17,00	13,96	12,53	83,10	71,61
756975	17,14	16,24	10,02	123,71	81,61
757671	17,55	12,22	10,82	101,99	61,07
758241	16,45	9,53	11,15	82,16	65,51
340590	17,69	11,14	9,99	84,99	68,28
360241	17,55	11,81	9,79	85,94	71,61
758721	17,82	11,01	10,27	89,71	66,62
757614	16,45	15,17	9,06	162,43	71,61
758846	19,20	15,30	12,85	102,94	98,81
759007	17,00	10,47	11,55	133,16	54,40
757356	19,33	14,63	9,14	91,60	68,28
759306	18,65	11,81	10,12	139,77	59,96

<b>Prontuário</b>	<b>IL1-β(pg/ml)</b>	<b>IL6(pg/ml)</b>	<b>IL18BP(pg/ml)</b>	<b>IL33(pg/ml)</b>	<b>TNF-α(pg/ml)</b>
757674	16,59	9,93	9,99	167,15	72,17
759638	17,14	9,93	7,40	1332,50	68,28
471945	17,41	10,87	9,16	95,38	78,27
761141	16,87	9,93	8,33	79,33	63,84
761265	27,83	15,98	11,65	1660,19	294,22
761260	17,82	10,47	7,55	120,88	68,28
761466	21,66	12,62	9,19	130,32	110,47
761761	18,10	9,80	12,10	203,04	77,72
761753	18,65	10,47	10,87	85,94	74,39
762000	18,10	9,53	10,22	117,10	76,61
77867	17,82	15,84	9,64	114,27	65,51
762632	17,28	11,95	11,30	77,44	64,95
341059	17,55	10,06	8,86	80,27	70,50
762847	16,87	9,13	10,77	102,94	69,39
763097	17,82	11,14	12,08	87,83	67,73
763253	18,10	10,61	12,53	87,83	72,72
763512	16,87	9,93	6,42	71,77	63,84
397538	17,55	11,14	12,03	91,60	70,50
761888	17,00	10,74	8,08	183,21	91,60
279178	18,37	10,20	10,95	199,26	98,26
764187	16,32	9,93	8,08	87,83	69,39
764151	18,65	11,14	12,23	104,82	81,61
483776	17,82	10,34	8,53	96,33	73,83
763849	16,45	10,47	11,90	90,66	77,72
763706	17,55	10,20	10,67	109,55	63,29
759494	17,82	10,61	8,96	85,94	71,61

<b>Prontuário</b>	<b>IL1-<math>\beta</math>(pg/ml)</b>	<b>IL6(pg/ml)</b>	<b>IL18BP(pg/ml)</b>	<b>IL33(pg/ml)</b>	<b>TNF-<math>\alpha</math>(pg/ml)</b>
764849	17,14	9,26	6,67	94,44	66,06
764795	16,04	14,10	10,37	85,94	74,39
764956	16,87	12,22	10,54	105,77	72,17
212798	16,45	12,35	8,18	122,77	66,62
468806	17,28	12,35	9,99	83,10	68,28
765359	17,96	13,56	10,85	151,10	93,26

## Anexo D

Descrição das características pessoais quantitativas e marcadores segundo carga aterosclerótica e resultado dos testes comparativos.

Variável	Carga aterosclerótica	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	n	p
Idade(anos)	Sem	61,71	11,39	60,50	38,00	83,00	38	0,605*
	Pelo menos um dos locais	62,79	11,07	63,00	32,00	86,00	115	
IMC	Sem	29,68	4,56	28,85	20,80	41,20	38	<b>0,017*</b>
	Pelo menos um dos locais	27,69	3,58	26,80	21,10	39,10	115	
CT(mg/dl)	Sem	183,16	46,42	178,50	100,00	289,00	38	0,954*
	Pelo menos um dos locais	183,64	44,57	179,00	79,00	295,00	115	
HDLc(mg/dl)	Sem	37,21	9,82	36,00	23,00	67,00	38	0,311*
	Pelo menos um dos locais	34,93	12,62	34,00	16,00	129,00	115	
LDLC(mg/dl)	Sem	117,54	40,50	120,00	53,00	218,00	37	0,496*
	Pelo menos um dos locais	112,58	37,51	111,00	35,00	218,00	111	
CnHDL(mg/dl)	Sem	145,95	42,72	146,50	71,00	255,00	38	0,716*
	Pelo menos um dos locais	148,83	42,27	148,00	43,00	267,00	115	
TG(mg/dl)	Sem	154,53	97,73	129,50	56,00	622,00	38	0,121*
	Pelo menos um dos locais	184,58	104,79	162,00	42,00	802,00	115	
Creatinina(mg/dl)	Sem	0,78	0,20	0,80	0,40	1,30	38	<b>0,030*</b>
	Pelo menos um dos locais	0,93	0,41	0,80	0,50	3,53	115	
FE	Sem	59,45	11,65	60,00	25,00	88,00	29	0,492
	Pelo menos um dos locais	57,79	10,57	59,00	31,00	79,00	97	
Lec,Totais (/mm <sup>3</sup> )	Sem	7416,58	2724,96	6925,00	3860,00	18900,00	38	0,316
	Pelo menos um dos locais	7450,96	1865,43	7430,00	2700,00	12800,00	115	
Fibrinogênio(mg/dl)	Sem	428,68	119,21	417,00	266,00	933,00	37	0,070
	Pelo menos um dos locais	463,40	120,48	450,00	217,00	809,00	113	
NTproBNP(pg/ml)	Sem	636,14	1752,81	116,10	14,01	8470,00	36	<b>0,044</b>
	Pelo menos um dos locais	643,54	1127,78	202,50	11,49	8550,00	110	
PCRus(mg/dl)	Sem	0,64	2,34	0,24	0,02	14,63	38	0,456
	Pelo menos um dos locais	0,74	2,56	0,23	0,01	26,67	114	
Monócitos(/mm <sup>3</sup> )	Sem	474,39	217,56	465,00	47,00	1260,00	38	0,185
	Pelo menos um dos locais	520,70	192,23	490,00	130,00	1340,00	115	

Resultado do teste Mann-Whitney

\* Resultado do teste t-Student

O anexo D mostra que o IMC médio dos pacientes com pelo menos um local com aterosclerose é estatisticamente menor ( $p=0,017$ ) e a creatinina média desses pacientes é em média maior ( $p=0,030$ ). Os valores do NTproBNP são estatisticamente maiores nos pacientes com carga aterosclerótica ( $p=0,044$ ).

## Anexo E

### Descrição das características pessoais quantitativas e marcadores segundo eventos cardiovasculares e resultado dos testes comparativos

Variável	Eventos Cardiovasculares	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N	p
Idade(anos)	Não	61,00	10,73	60,50	32,00	86,00	62	0,365*
	Sim	62,75	11,44	63,00	37,00	84,00	72	
IMC	Não	28,94	3,57	28,90	20,80	36,90	62	<b>0,038*</b>
	Sim	27,57	3,96	26,45	21,10	39,10	72	
CT(mg/dl)	Não	187,35	45,34	181,00	79,00	289,00	62	0,145*
	Sim	175,96	44,55	174,50	89,00	295,00	72	
HDLC(mg/dl)	Não	37,66	15,28	35,00	21,00	129,00	62	0,089*
	Sim	33,96	9,39	34,00	16,00	59,00	72	
LDLC(mg/dl)	Não	118,05	39,81	118,00	35,00	218,00	60	0,107*
	Sim	107,06	37,36	101,00	38,00	218,00	70	
CNHDL(mg/dl)	Não	149,92	41,61	150,00	43,00	255,00	62	0,281*
	Sim	142,00	42,71	139,00	60,00	267,00	72	
TG(mg/dl)	Não	172,40	96,63	161,00	42,00	622,00	62	0,791*
	Sim	177,24	111,76	154,00	59,00	802,00	72	
Creatinina(mg/dl)	Não	0,85	0,28	0,80	0,40	2,20	62	0,206*
	Sim	0,92	0,34	0,80	0,50	2,30	72	
FE(%)	Não	59,47	9,35	59,00	34,00	88,00	49	0,490
	Sim	57,02	10,96	59,00	31,00	77,00	62	
Lec,Totais(mm <sup>3</sup> )	Não	6897,74	1784,35	6805,00	3380,00	13100,00	62	<b>0,009</b>
	Sim	7678,75	1979,92	7895,00	2700,00	12800,00	72	
Fibrinogênio(mg/dl)	Não	420,39	108,34	406,00	255,00	782,00	61	<b>0,002</b>
	Sim	475,20	128,38	461,00	217,00	933,00	71	
NTproBNP(pg/ml)	Não	355,80	531,81	135,40	14,01	2581,00	60	<b>0,048</b>
	Sim	774,30	1357,24	267,50	11,49	8550,00	67	
PCRus(mg/dl)	Não	0,35	0,56	0,21	0,01	3,42	61	0,119
	Sim	1,09	3,56	0,25	0,01	26,67	72	
Monócitos(/mm <sup>3</sup> )	Não	445,65	157,27	420,00	50,00	970,00	62	<b>0,001</b>
	Sim	559,26	208,67	540,00	47,00	1340,00	72	

Resultado do teste Mann-Whitney

\* Resultado do teste t-Student

O anexo E mostra que pacientes com eventos cardiovasculares apresentam em média IMC estatisticamente menor ( $p=0,038$ ) e apresentam estatisticamente maiores valores de leucócitos, fibrinogênio, NTproBNP e monócitos ( $p=0,009$ ,  $p=0,002$ ,  $p=0,048$  e  $p=0,001$ , respectivamente).

## Anexo F

Descrição das características pessoais quantitativas e marcadores segundo apresentação clínica e resultado dos testes comparativos

Variável	Apresentação clínica	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N	p
Idade(anos)	Angina estável	60,30	10,46	60,50	32,00	81,00	96	<b>0,001*</b>
	Síndrome coronariana aguda	66,26	11,29	69,00	45,00	86,00	57	
IMC	Angina estável	28,89	4,08	28,45	20,80	41,20	96	<b>0,003*</b>
	Síndrome coronariana aguda	26,99	3,35	26,30	21,10	35,50	57	
CT(mg/dl)	Angina estável	189,54	42,97	186,00	91,00	295,00	96	<b>0,031*</b>
	Síndrome coronariana aguda	173,39	46,57	170,00	79,00	295,00	57	
HDLC(mg/dl)	Angina estável	35,49	13,51	33,00	16,00	129,00	96	0,992*
	Síndrome coronariana aguda	35,51	9,00	35,00	17,00	59,00	57	
LDLC(mg/dl)	Angina estável	118,67	37,38	120,00	43,00	218,00	93	<b>0,044*</b>
	Síndrome coronariana aguda	105,62	38,51	99,00	35,00	197,00	55	
CNHDL(mg/dl)	Angina estável	154,05	40,12	153,00	69,00	255,00	96	<b>0,024*</b>
	Síndrome coronariana aguda	138,12	44,20	137,00	43,00	267,00	57	
TG(mg/dl)	Angina estável	184,90	93,11	167,50	56,00	622,00	96	0,229*
	Síndrome coronariana aguda	164,02	118,90	129,00	42,00	802,00	57	
Creatinina(mg/dl)	Angina estável	0,85	0,25	0,80	0,40	2,20	96	0,129*
	Síndrome coronariana aguda	0,96	0,51	0,80	0,50	3,53	57	
FE(%)	Angina estável	60,59	10,27	61,00	25,00	88,00	75	<b>0,002</b>
	Síndrome coronariana aguda	54,63	10,69	56,00	31,00	76,00	51	
Lec,Totais(/mm <sup>3</sup> )	Angina estável	7361,77	2196,44	6920,00	3380,00	18900,00	96	0,094
	Síndrome coronariana aguda	7578,25	1943,33	7810,00	2700,00	11500,00	57	
Fibrinogênio(mg/dl)	Angina estável	412,50	89,47	406,50	217,00	740,00	94	<b>&lt;0,001</b>
	Síndrome coronariana aguda	525,89	133,17	515,50	245,00	933,00	56	
NTproBNP(pg/ml)	Angina estável	419,35	1429,81	96,15	11,49	8550,00	91	<b>&lt;0,001</b>
	Síndrome coronariana aguda	1009,63	964,47	627,00	102,60	3894,00	55	
PCRus(mg/dl)	Angina estável	0,33	0,46	0,21	0,01	3,28	96	<b>0,005</b>
	Síndrome coronariana aguda	1,37	4,01	0,33	0,04	26,67	56	
Monócitos(/mm <sup>3</sup> )	Angina estável	491,84	190,97	470,00	47,00	1260,00	96	0,286
	Síndrome coronariana aguda	538,42	210,57	480,00	230,00	1340,00	57	

Resultado do teste Mann-Whitney

\* Resultado do teste t-Student

O anexo F mostra que pacientes com síndrome coronariana aguda apresentam em média estatisticamente maior idade ( $p=0,001$ ), menor IMC ( $p=0,003$ ), menores CT, LDLC, CNHDL ( $p=0,031$ ,  $0,044$ ,  $0,024$ , respectivamente). Apresentam estatisticamente maiores valores de Fibrinogênio, NTproBNP e PCRus ( $p<0,001$ ,  $p<0,001$  e  $p=0,005$ , respectivamente) e maiores valores de FE ( $p=0,002$ ).

## Anexo G

Descrição das características pessoais quantitativas e marcadores segundo quadro clínico e resultado dos testes comparativos.

Variável	Quadro clínico	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo	N	p
Idade(anos)	Assintomático	61,13	11,59	60,50	32,00	86,00	82	0,708*
	Dor torácica ou óbito	62,43	13,70	58,50	43,00	83,00	14	
IMC	Assintomático	28,01	3,89	27,35	20,80	39,10	82	0,807*
	Dor torácica ou óbito	27,73	4,87	26,10	21,10	37,70	14	
CT(mg/dl)	Assintomático	183,50	43,13	178,00	91,00	295,00	82	0,185*
	Dor torácica ou óbito	167,14	37,45	164,00	100,00	256,00	14	
HDL(mg/dl)	Assintomático	36,26	14,42	34,50	17,00	129,00	82	0,254*
	Dor torácica ou óbito	31,64	10,02	33,50	16,00	53,00	14	
LDL(mg/dl)	Assintomático	113,90	36,05	112,50	43,00	197,00	78	0,133*
	Dor torácica ou óbito	98,21	33,30	88,50	53,00	172,00	14	
CNHDL(mg/dl)	Assintomático	147,41	39,70	144,50	69,00	267,00	82	0,295*
	Dor torácica ou óbito	135,50	35,44	128,00	77,00	212,00	14	
TG(mg/dl)	Assintomático	180,41	119,87	154,00	56,00	802,00	82	0,854*
	Dor torácica ou óbito	186,57	82,98	164,00	91,00	397,00	14	
Creatinina(mg/dl)	Assintomático	0,90	0,31	0,80	0,50	2,30	82	0,969*
	Dor torácica ou óbito	0,90	0,40	0,80	0,60	2,10	14	
FE(%)	Assintomático	58,24	11,27	60,00	31,00	88,00	68	0,474
	Dor torácica ou óbito	56,33	9,63	57,50	34,00	68,00	12	
Lec,Totais(/mm <sup>3</sup> )	Assintomático	7272,20	1931,56	7175,00	2700,00	11700,00	82	0,153
	Dor torácica ou óbito	7979,29	1051,90	8005,00	5390,00	9220,00	14	
Fibrinogênio(mg/dl)	Assintomático	444,49	102,24	439,00	217,00	737,00	81	0,648
	Dor torácica ou óbito	486,86	180,41	427,00	240,00	933,00	14	
NTproBNP(pg/ml)	Assintomático	610,65	1275,08	147,60	14,01	8550,00	77	0,826
	Dor torácica ou óbito	458,17	577,83	290,90	11,49	2042,00	14	
PCRus(mg/dl)	Assintomático	0,42	0,56	0,21	0,01	3,03	82	0,448
	Dor torácica ou óbito	3,18	7,77	0,27	0,03	26,67	14	
Monócitos(/mm <sup>3</sup> )	Assintomático	510,24	191,67	470,00	170,00	1340,00	82	0,179
	Dor torácica ou óbito	577,64	261,74	570,00	47,00	1090,00	14	

Resultado do teste Mann-Whitney

\* Resultado do teste t-Student

O anexo G mostra que as características pessoais, exames laboratoriais, e marcadores não apresentam diferenças estatisticamente significativas segundo quadro clínico ( $p > 0,05$ )

## Anexo H

Valores das correlações de Spearman entre o escore de Gensini e as medidas laboratoriais

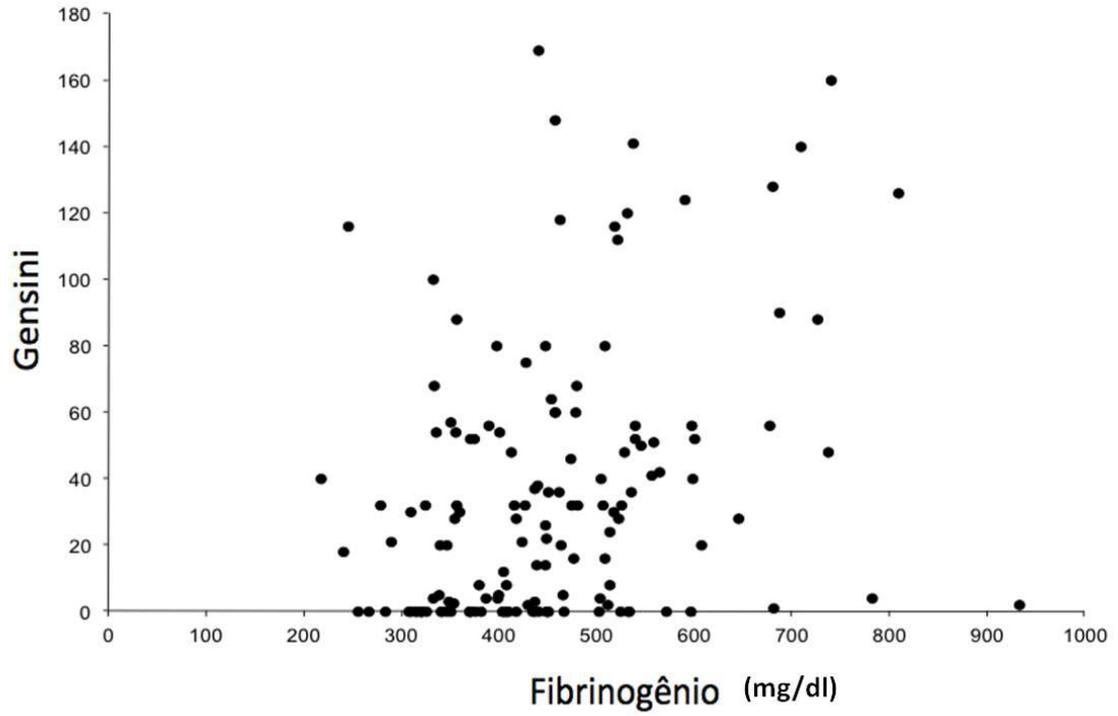
### Gensini

Variável	Correlação	N	p
Idade	0,148	145	0,076
CT	-0,102	145	0,224
HDLC	-0,036	145	0,669
VLDLC	-0,033	140	0,700
LDLC	-0,103	140	0,224
CNHDL	-0,082	145	0,327
TG	-0,047	145	0,574
Creatinina	0,183	145	<b>0,027</b>
FE	-0,120	119	0,192
Lec,Totais	0,125	145	0,133
Fibrinogênio	0,352	143	<b>&lt;0,001</b>
NTproBNP	0,329	138	<b>&lt;0,001</b>
PCRus	0,080	144	0,343

O anexo H mostra que o escore de Gensini apresenta correlações diretas estatisticamente significativas com os valores de creatinina, fibrinogênio e NTproBNP ( $r > 0$  e  $p < 0,05$ ) e correlação inversa estatisticamente significativa com IL1 ( $r = -0,230$  e  $p = 0,042$ )

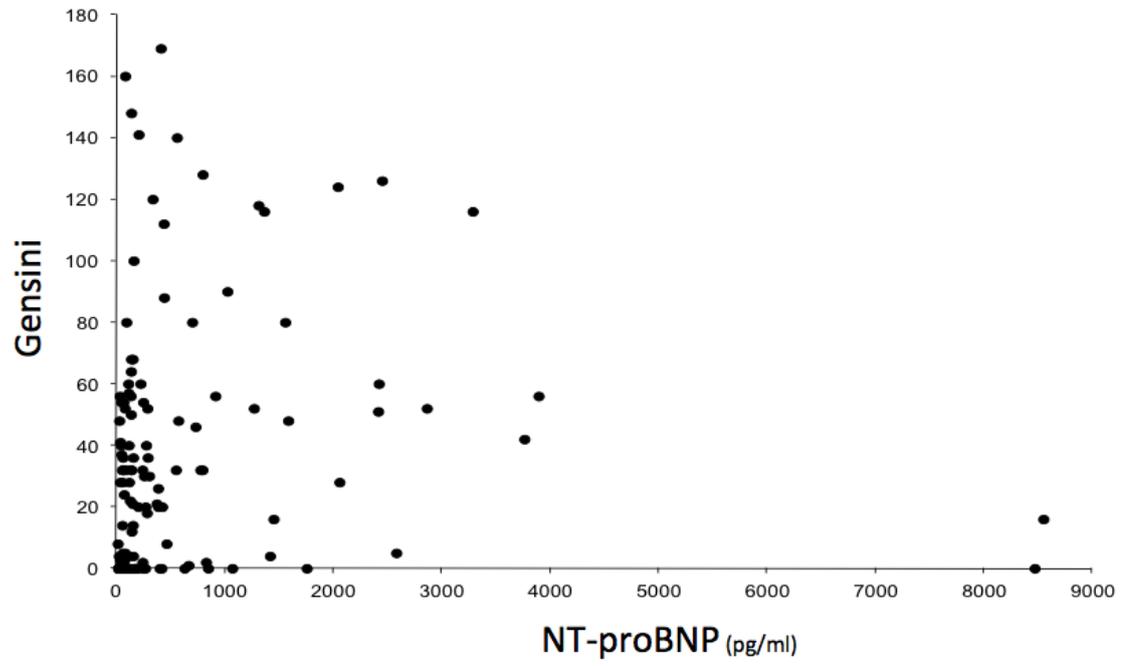
## Anexo I

Diagrama de dispersão do escore de Gensini segundo fibrinogênio



## Anexo J

Diagrama de dispersão do escore de Gensini segundo NT-proBNP



## Anexo K

Resultado do modelo de Poisson, para explicar o escore de Gensini segundo marcadores

Fator	RR	IC (95%)		p
		Inferior	Superior	
Uso de estatinas	1,55	1,37	1,75	<0,001
DM	1,23	1,12	1,36	<0,001
<b>Tratamento</b>				
Clínico (ref.)	1,00			
Stent	1,16	0,86	1,56	0,325
Cirurgia	5,27	4,44	6,26	<0,001
<b>Quadro Clínico</b>				
Assintomático				
Dor torácica ou óbito	1,51	1,35	1,68	<0,001
NT pro BNP (por 100)	1,01	1,00	1,00	<0,001

O anexo K mostra que o escore de Gensini apresenta aumento de 55% em pacientes com uso de estatinas, aumenta 23% em pacientes com DM, pacientes que fazem cirurgia apresentam risco de aumento no escore de Gensini 5,27 vezes o escore de pacientes tratados clinicamente; pacientes com dor torácica ou óbito apresentam escore de Gensini 51% maior; o aumento de 100 unidades de NTproBNP aumenta o escore de Gensini em 1% e apenas aumento no IL-1 acarreta redução no escore de Gensini de 6% a cada aumento de uma unidade de IL-1.

## Anexo L

### Relação dos pacientes

	Paciente	Prontuário	Data
1 -	JRA	744546	06.08.07
2 -	MLL	745543	06.08.07
3 -	ZMM	289528	06.08.07
4 -	ABS	745638	07.08.07
5 -	MASO	745257	13.08.07
6 -	FHA	745753	13.08.07
7 -	JRFS	745918	14.08.07
8 -	TFP	745994	16.08.07
9 -	JS	746127	20.08.07
10 -	AAN	746124	20.08.07
11 -	MHPP	746119	20.08.07
12 -	MDMA	746227	23.08.07
13 -	FCA	745938	22.08.07
14 -	MMB	766274	23.08.07
15 -	CGL	746342	23.08.07
16 -	ADN	746395	24.08.07
17 -	MMSP	745998	27.08.07
18 -	FNN	746637	29.08.07
19 -	TFG	591826	29.08.07
20 -	AN	746634	30.08.07
21 -	MESS	140240	31.08.07
22 -	FRS	745187	03.09.07
23 -	LIM	745439	10.09.07
24 -	PRPS	505338	21.09.07

	Paciente	Prontuário	Data
25 -	MRSS	748815	24.09.07
26 -	OLS	748818	24.09.07
27 -	LLS	749330	28.09.07
28 -	FERC	746463	03.10.07
29 -	MLP	749730	03.10.07
30 -	JAG	344870	05.10.07
31 -	ARC	749944	08.10.07
32 -	FSS	481343	08.10.07
33 -	MHCL	750087	09.10.07
34 -	RRN	557272	10.10.07
35 -	JAAM	748252	10.10.07
36 -	RPD	750347	11.10.07
37 -	TPS	751604	13.10.07
38 -	MZNL	750562	15.10.07
39 -	JMN	750678	16.10.07
40 -	AAS	423968	18.10.07
41 -	RCS	751422	22.10.07
42 -	MAC	744278	23.10.07
43 -	MOBL	134800	23.10.07
44 -	MZOS	751137	24.10.07
45 -	JDE	751908	26.10.07
46 -	FFS	751917	26.10.07
47 -	GLR	677407	28.10.07
48 -	MFPS	483915	29.10.07

	Paciente	Prontuário	Data
49 -	ASO	613833	01.11.07
50 -	MCOS	723539	05.11.07
51 -	JJF	367349	08.11.07
52 -	ACP	753284	09.11.07
53 -	RVFS	750422	12.11.07
54 -	MHL	445065	13.11.07
55 -	MCT	596472	13.11.07
56 -	ALP	753699	14.11.07
57 -	MPM	75087	19.11.07
58 -	FFO	754139	21.11.07
59 -	FCD	754638	23.11.07
60 -	RMO	755058	27.11.07
61 -	JBP	755063	27.11.07
62 -	FLS	755276	28.11.07
63 -	HFS	755314	28.11.07
64 -	FAP	754427	30.11.07
65 -	FCO	755974	03.12.07
66 -	MNR	755810	03.12.07
67 -	JSS	756083	05.12.07
68 -	AVS	756184	06.12.07
69 -	JLN	756293	07.12.07
70 -	JWCG	757153	17.12.07
71 -	FJM	143556	17.12.07
72 -	JAR	757280	18.12.07
73 -	ARL	756975	19.12.07
74 -	BGD	757671	20.12.07
75 -	MFAA	757887	26.12.07

	Paciente	Prontuário	Data
76 -	ELB	757900	27.12.07
77 -	AAP	751889	04.01.08
78 -	FHO	758241	04.01.08
79 -	MTM	677662	04.01.08
80 -	MISM	745124	05.01.08
81 -	JSM	340590	08.01.08
82 -	FRS	360241	08.01.08
83 -	ORC	758721	09.01.08
84 -	JBCS	757614	09.01.08
85 -	MOSS	757841	09.01.08
86 -	RGNF	758846	10.01.08
87 -	JBSJ	759007	11.01.08
88 -	TMJ	757356	15.01.08
89 -	MCCS	759306	15.01.08
90 -	AAC	757674	16.01.08
91 -	MAC	759477	16.01.08
92 -	FWAG	759476	16.01.08
93 -	CCB	759638	18.01.08
94 -	MLSA	757872	21.01.08
95 -	MNNO	471945	21.01.08
96 -	RPS	758165	22.01.08
97 -	VAS	720664	24.01.08
98 -	MLS	760533	25.01.08
99 -	MAIS	760617	25.01.08
100 -	AMS	757892	28.01.08
101 -	RCRF	761141	31.01.08
102 -	JAF	761265	01.02.08

Paciente	Prontuário	Data
103 - MCN	761260	01.02.08
104 - JLS	761466	07.02.08
105 - INL	76019	07.02.08
106 - JMR	761761	11.02.08
107 - MNF	761753	11.02.08
108 - MAB	762000	13.02.08
109 - JCM	745695	27.08.07
110 - MENC	77867	14.02.08
111 - GFP	762632	18.02.08
112 - JABL	385963	18.02.08
113 - LVC	341059	18.02.08
114 - FCCD	762847	19.02.08
115 - ATN	681759	19.02.08
116 - MMF	763051	20.02.08
117 - LRT	763097	21.02.08
118 - ASRF	763253	21.02.08
119 - RLN	763255	21.02.08
120 - JEA	763512	22.02.08
121 - VBG	763270	25.02.08
122 - MSS	397538	25.02.08
123 - AFS	761888	25.02.08
124 - BCS	279178	26.02.08
125 - MBS	764187	27.02.08
126 - FMS	764151	27.02.08
127 - MDPS	764073	28.02.08
128 - IMCL	483776	03.03.08

Paciente	Prontuário	Data
129 - VCA	370441	03.03.08
130 - FLAV	763950	03.03.08
131 - JEM	763849	04.03.08
132 - MOS	764572	04.03.08
133 - MNR	763706	04.03.08
134 - MAN	759494	04.03.08
135 - JAN	764849	04.03.08
136 - JLS	764795	04.03.08
137 - MV	764956	05.03.08
138 - JAQ	212798	05.03.08
139 - FEF	468806	05.03.08
140 - GPS	765388	10.03.08
141 - FMNS	765359	10.03.08
142 - WFBB	764621	11.03.08
143 - FFA	765582	11.03.08
144 - AAC	765235	13.03.08
145 - MDA	765882	13.03.08
146 - FBLS	281066	13.03.08
147 - ARS	692336	14.03.08
148 - FFSL	766269	17.03.08
149 - FLO	766249	17.03.08
150 - FFS	78010	24.03.08
151 - HPM	176779	24.03.08
152 - AAN	766931	25.03.08
153 - MORS	767132	26.03.08