

WEVERTON FERREIRA LEITE

**Análise comparativa entre a proteína C-reativa de alta
sensibilidade em veia periférica e seio coronário na
angina estável e instável**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia
Orientador: Prof. Dr. José Antonio Franchini Ramires

São Paulo
2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Leite, Weverton Ferreira

Análise comparativa entre a proteína C-reativa de alta sensibilidade em veia
periférica e seio coronário na angina estável e instável / Weverton Ferreira Leite. --
São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.

Orientador: José Antonio Franchini Ramires.

Descritores: 1.Proteína C-reativa 2.Seio coronário 3.Angina estável 4.Angina
instável 5.Coronariopatia 6.Inflamação 7.Aterosclerose

USP/FM/DBD-376/14

DEDICATÓRIAS

A DEUS, que sempre esteve à frente de todos os meus sonhos e projetos, guardando-me em todo o meu caminho. A Ele sempre recorro em todos os momentos de minha vida.

Ao meu pai Jayme Ferreira Leite (*in memoriam*), que com seu exemplo me iniciou nos caminhos do bem, ensinando-me os valores morais e de caráter, além de proporcionar-me o privilégio de estudar. Seus valiosos conselhos não serão esquecidos.

À minha amada mãe Amélia Costa Leite (*in memoriam*), por sua presença e dedicação à família, amor, carinho, sempre disposta a me ajudar em qualquer momento. Ensinou-me as virtudes para uma vida digna.

À minha esposa Arilda Regina Sacchi Leite, pelo carinho e compreensão nos momentos de ausência e ansiedade. Nesta fase da minha vida foi companheira e soube estimular-me nos momentos mais difíceis.

Aos meus queridos filhos, Isabelle Sacchi Leite e Weverton Augusto Sacchi Leite, por tanto carinho. Peço desculpas pelo tempo de convívio que lhes tirei para me dedicar aos meus estudos. Vocês contribuíram para conclusão desta tese ao seu modo.

Aos pacientes que gentilmente participaram de forma espontânea e tornaram possível esta tese.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Armando Mangione pelo incentivo e por ter proporcionado o acesso irrestrito aos seus pacientes na fase de seleção do estudo. A contribuição de sua equipe, em especial Dr. Adnan Ali Salman e Dr. Salvador André Bavaresco Cristovão, bem como de suas secretárias, Débora Alessandra dos Santos Lima, Ana Paula Abduch e Bruna Letícia Campos Santos foram essenciais para este estudo. Agradeço, também, a todos os funcionários da hemodinâmica pela atenção.

A Dra. Célia Maria Cassaro Strunz pela revisão da metodologia laboratorial e as funcionárias do laboratório em especial, Adriana de Andrade Ramos Nogueira, Cristina de Lourdes Silva e Cardoso, Marli Rafael da Silva Cruz, Lucila Mitiko Araki e Célia Etsuco Kobayashi Omosako pelas orientações na aquisição de Kits de dosagens, ajuda no processamento, armazenamento e dosagens das amostras, deste estudo. A cada uma meu profundo agradecimento e afeto.

Ao Prof. Dr. Luiz Felipe Pinho Moreira que enalteceu esta tese em suas diversas fases, com críticas e sugestões.

Ao Prof. Dr. José Armando Mangione, Dra. Célia Maria Cassaro Strunz e Dr. Caio de Brito Viana, pelas sugestões dadas na Banca de Qualificação que contribuíram significativamente para esta tese.

Ao Dr. José Pedro da Silva por ter acreditado em mim no início de minha carreira e, sobretudo, pelo incentivo inicial para o Doutorado.

Ao Prof. Dr. Euriclides de Jesus Zerbini (*in memoriam*), pela oportunidade de ser seu estagiário e posteriormente médico residente em sua equipe no Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo.

Ao Dr. Roberto Buessio e funcionários do Serviço de Hematologia e Hemoterapia, pelo apoio logístico no acondicionamento e transporte das amostras coletadas.

Ao Dr. Henry Abensur e seus assistentes, em especial Dr. Marcelo Patrício e Dr. Amilton Silva Junior, pelas realizações dos ecocardiogramas e as funcionárias do serviço, muito obrigado pela paciência e carinho.

Ao Dr. Luiz Eduardo Vitagliano nas liberações dos ecocardiogramas e ao Dr. Salvador Caruso e suas funcionárias, pelas realizações dos eletrocardiogramas.

Ao Dr. João Carlos Belingieri e funcionários do Laboratório de Análises Clínicas, por diversas realizações de exames de triagem do estudo.

À Creusa Maria Roveri Dal Bó pela qualidade do seu trabalho desenvolvido na análise estatística e pela presteza em solucionar as minhas dúvidas com carinho e compreensão nos meus momentos mais ansiosos.

Ao Prof. Dr. Marco Antonio Gutierrez pelas orientações iniciais para a apresentação dos dados.

À Angélica Aparecida Trindade, Gláucia Alves dos Santos Toni e Yoni Crossiatti, secretárias do professor Ramires pela ajuda e paciência nos momentos decisivos e de angústia.

À Neusa Rodrigues Dini e funcionárias da Pós Graduação do InCor, em especial Juliana Lattari Sobrinho Pagni e Tatiane Lago dos Santos pela atenção e por sempre responderem às minhas dúvidas burocráticas.

Às bibliotecárias: Maria do Carmo Cavarette Barreto e Vanda Lenir Pereira Gasparini, por me auxiliarem tão prontamente nas referências bibliográficas e aos senhores Marcos Ferreira e Ricardo Lázaro, do Serviço de Material Didático e Audiovisual.

Aos Comitês Científicos e Comissões de Ética para Análises de Projetos de Pesquisas, em especial Dr. José Tarcísio Medeiros de Vasconcelos e também, ao Sr. Marcio Gomes da Cruz e Sra. Elaine Lagonegro pelo apoio e orientações em relação à CAPPesq e FAPESP.

À diretoria do Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo e do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo pelo apoio logístico e institucional. Que esta parceria seja a primeira de muitas em pesquisa médica. Aproveito esta oportunidade para

homenagear todos os colegas de profissão e funcionários dessas instituições, em especial do Hospital Beneficência Portuguesa que me acolheu desde o meu estágio de 6º ano da Faculdade de Medicina.

A todos os amigos e amigas que, de forma direta ou indireta, colaboraram e deram seu apoio para a realização deste projeto.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. José Antonio Franchini Ramires pelos conhecimentos transmitidos, carinho, oportunidade, por ter acreditado em mim, pela imensa contribuição para a elaboração e conclusão desta tese em todas as suas fases e, por nunca ter me deixado desistir do meu sonho. Jamais o esquecerei, e, confesso, não teria conseguido sem a sua ajuda e orientação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

EPÍGRAFE

“Consagrar a nossa mente ao Paráclito. Decidir não querer usar mais a nossa mente, de ora em diante, a não ser para o conhecimento da verdade e para a glória de Deus”.

Raniero Cantalamessa

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Essa tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação.

Referências: adaptação do International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de Apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: DBD/FMUSP: 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	
Lista de siglas	
Lista de símbolos	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA	1
1.1 Doença arterial coronária	2
1.2 Angina pectoris	2
1.3 Aterosclerose e inflamação	3
1.4 Proteína C-reativa	6
1.5 Proteína C-reativa na doença arterial coronária	16
2 OBJETIVOS	20
2.1 Principal	21
2.2 Secundário	21
3 MÉTODOS.....	22
3.1 Aprovações do protocolo e financiamento da pesquisa	23
3.2 Caracterização do estudo	23
3.3 Seleção dos pacientes	24
3.3.1 Critérios de inclusão	24

3.3.2 Critérios de exclusão	25
3.4 Coleta da amostra de sangue e avaliação laboratorial	26
3.5 Eletrocardiografia	28
3.6 Ecocardiografia	29
3.7 Angiografia coronária quantitativa	29
3.8 Dosagem da proteína C-reativa	31
3.9 Fluxograma do estudo	32
3.10 Análise estatística	33
4 RESULTADOS	35
4.1 Caracterização da amostra	36
4.2 Características basais dos participantes do estudo	37
4.3 Fármacos utilizados no momento da inclusão	38
4.4 Dados laboratoriais	39
4.5 Dados angiográficos	40
4.6 Proteína C-reativa de alta sensibilidade	41
5 DISCUSSÃO	48
6 CONCLUSÕES	57
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	ácido acetilsalicílico
ACQ	angiografia coronária quantitativa
AE	angina estável
AI	angina instável
ALT	alanina aminotransferase
AVC	acidente vascular cerebral
BCC	bloqueador do canal de cálcio
BRA	bloqueador do receptor AT1 da angiotensina II
CA	câncer
DAC	doença arterial coronária
DAOP	doença arterial obstrutiva periférica
DCV	doenças cardiovasculares
DAMPs	padrões moleculares associados ao perigo
DM	diabetes mellitus
DPOC	doença pulmonar obstrutiva crônica
ECG	eletrocardiograma de 12 derivações
ECO	ecocardiograma bidimensional
HAS	hipertensão arterial sistêmica
IAM	infarto agudo do miocárdio
IAMCSST	infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST

IAMSSST	infarto agudo do miocárdio sem supradesnível do segmento ST
ICAM	molécula de adesão intercelular
ICP	intervenção coronária percutânea
IECA	inibidor da enzima conversora da angiotensina
IL-1	interleucina 1
IL-1 β	interleucina 1 β
IL-6	interleucina 6
IMC	índice de massa corporal
IRC	insuficiência renal crônica
LDL	lipoproteína de baixa densidade
LDL-C	colesterol na lipoproteína de baixa densidade
LOX-1	lectin-like oxidized LDL receptor-1
Lp-PLA2	lipoproteína-fosfolipase A2
MCP-1	proteína quimioatrativa de monócito
NLRs	nod-like receptors
PA	pressão arterial
PCR	proteína C-reativa
PCR-as	proteína C-reativa de alta sensibilidade
PCRm	proteína C-reativa monomérica
PCRp	proteína C-reativa pentamérica
PMAPs	padrões moleculares associados a patógenos ou partículas
PRRs	receptores de reconhecimento de padrões

PTX 3	pentraxina 3
rpm	rotação por minuto
ROS	espécies reativas de oxigênio
SC	seio coronário
SCD 40 L	ligante CD 40 solúvel
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
TLRs	toll-like receptors
TNF- α	fator de necrose tumoral alfa
TSH	hormônio tiroestimulante
VCAM	molécula de adesão celular vascular
VPAE	veia periférica do antebraço esquerda
vs.	versus

LISTA DE SIGLAS

CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
InCor-HCFMUSP	Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
OMS	Organização Mundial da Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
<	menor
>	maior
≥	maior ou igual
≤	menor ou igual
±	mais ou menos
kDa	quilodalton
kg/m ²	quilograma por metro quadrado
L	litro
g/dL	grama por decilitro
mg/dL	miligrama por decilitro
mg/L	miligrama por litro
mL	mililitro
MHz	megahertz
mmHg	milímetro de mercúrio
°C	grau Celsius
R ²	coeficiente de determinação
U/L	unidade por litro
µg/L	micrograma por litro
µU/L	microunidade por litro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - William Smith Tillett	6
Figura 2 - Thomas Francis Jr.	6
Figura 3 - Curva de temperatura interna na caixa térmica	28
Figura 4 - Cateter posicionado no seio coronário, sem contraste, em projeção anteroposterior (A) e oblíqua anterior esquerda (C) Angiograma do seio coronário em projeção anteroposterior (B) e oblíqua anterior esquerda (D)	30
Figura 5 - Representação esquemática do fluxograma do estudo	32
Figura 6 - Distribuição das causas de não participação dos pacientes no estudo, expressas em percentual, presentes na população inicial	37
Figura 7 - Correlação linear entre os logaritmos dos níveis séricos absolutos de PCR-as (mg/L) na VPAAE vs. SC na angina estável	46
Figura 8 - Correlação linear entre os logaritmos dos níveis séricos absolutos de PCR-as (mg/L) na VPAAE vs. SC na angina instável	46
Figura 9 - Correlação linear entre os logaritmos dos níveis séricos absolutos de PCR-as (mg/L) na VPAAE vs. SC na angina pectoris (estável e instável), considerando-se a totalidade da amostra	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características basais dos participantes do estudo	38
Tabela 2 - Fármacos utilizados pelos pacientes no momento da inclusão no estudo	39
Tabela 3 - Dados laboratoriais basais em veia periférica nos pacientes com angina estável e instável	40
Tabela 4 - Distribuição das lesões coronárias quanto ao número e artéria comprometida, de acordo com o tipo de angina	41
Tabela 5 - Níveis de PCR-as (mg/L) em VPAAE e SC na angina estável e instável	42
Tabela 6 - Níveis de PCR-as (mg/L) na VPAAE e SC em pacientes com e sem uso de nitrato na angina estável e instável	43
Tabela 7 - Níveis de PCR-as (mg/L) em VPAAE e SC, de acordo com o número de artérias comprometidos na angina estável e instável	44
Tabela 8 - Distribuição dos pacientes expressa em porcentual, de acordo com o tipo de angina e classificação de risco, baseado nos níveis de PCR-as (mg/L)	45

RESUMO

Leite WF. Análise comparativa entre a proteína C-reativa de alta sensibilidade em veia periférica e seio coronário na angina estável e instável [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

INTRODUÇÃO: A proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-as) é comumente utilizada na prática clínica para avaliar o risco cardiovascular. O seio coronário (SC) é considerado o local ideal para estudos de marcadores inflamatórios e circulação coronária, até o momento. A correlação entre os níveis séricos de PCR-as (valores absolutos) periférico versus (vs.) central ainda não foi feita. Avaliou-se a correlação entre os níveis séricos de PCR-as (mg/L) em veia periférica do antebraço esquerdo (VPAE) vs. SC, em pacientes portadores de doença arterial coronária (DAC) aterosclerótica com diagnóstico de angina estável (AE) ou angina instável (AI). Avaliou-se, também, se os níveis de PCR-as na VPAE e no SC diferem na AE e AI. **MÉTODOS e RESULTADOS:** 40 pacientes com DAC e estenose $\geq 70\%$ do diâmetro da luz vascular em uma das principais artérias coronárias foram incluídos no estudo e classificados em AE (n = 20) e, AI (n = 20). Coletaram-se amostras de sangue simultaneamente na VPAE e no SC, antes da angiografia coronária. A média dos níveis séricos absolutos de PCR-as na VPAE nos pacientes com AE foi de $2,97 \pm 2,66$, log $0,53 \pm 1,24$ e, com AI foi de $3,04 \pm 3,29$, log $0,67 \pm 0,94$, $p = 0,689$; e no SC, na AE foi de $2,71 \pm 2,46$, log $0,46 \pm 1,18$ e na AI, foi de $2,65 \pm 3,08$, log $0,41 \pm 0,97$, $p = 0,898$ e, portanto, não foram observadas diferenças significativas. A análise de correlação entre os níveis séricos de PCR-as em VPAE vs. SC mostrou uma forte correlação linear tanto para AE ($r = 0,993$, $p < 0,001$), para AI ($r = 0,976$, $p < 0,001$) e em toda amostra ($r = 0,985$, $p < 0,001$). **CONCLUSÃO:** Os nossos dados sugeriram uma forte correlação linear entre os níveis séricos de PCR-as na VPAE vs. SC na AE e AI; e esses níveis na VPAE e no SC na AE e AI foram semelhantes e não revelaram diferentes influências biológicas.

Descritores: Proteína C-reativa; Seio coronário; Angina estável; Angina instável; Coronariopatia; Inflamação; Aterosclerose.

ABSTRACT

Leite WF. Comparative analysis between high-sensitivity C-reactive protein in peripheral vein and coronary sinus in stable and unstable angina [Thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2014.

BACKGROUND: The high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) is commonly used in clinical practice to assess cardiovascular risk. The coronary sinus (CS) is considered the ideal location for studies of inflammatory markers and coronary circulation, until the moment. The correlation between peripheral versus (vs.) central serum levels of hs-CRP (absolute values) has not been done. We evaluated the correlation between serum levels of hs-CRP (mg/L) in the left forearm peripheral vein (LFPV) vs. CS in patients with atherosclerotic coronary artery disease (CAD) and diagnosis of stable angina (SA) or unstable angina (UA). We also evaluated whether the hs-CRP levels in LFPV and CS differ in SA and UA. **METHODS and RESULTS:** 40 patients with CAD and $\geq 70\%$ stenosis of the diameter of the vascular lumen in one of the main coronary arteries were included in the study and, classified into SA ($n = 20$) and, UA ($n = 20$). Blood samples from in the LFPV and CS were simultaneously collected before coronary angiography. The mean serum levels of hs-CRP in LFPV in the patients with SA was 2.97 ± 2.66 , $\log 0.53 \pm 1.24$ and, in the UA was 3.04 ± 3.29 , $\log 0.67 \pm 0.94$, $p = 0.689$. In CS in SA, it was 2.71 ± 2.46 , $\log 0.46 \pm 1.18$ and in UA it was 2.65 ± 3.08 , $\log 0.41 \pm 0.97$, $p = 0.898$; therefore, no significant differences were observed. The correlation analysis between the serum levels of hs-CRP in LFPV vs. CS showed a strong linear correlation in both for SA ($r = 0.993$, $p < 0.001$), for UA ($r = 0.976$, $p < 0.001$) and in the whole sample ($r = 0.985$, $p < 0.001$).

CONCLUSIONS: Our data suggested that in SA as well as in UA there was a strong linear correlation between the serum levels of hs-CRP in LFPV vs. CS and, these levels in VPAE and SC in AE and AI were similar and did not reveal different biological influences.

Descriptors: C-reactive protein; Coronary sinus; Stable angina; Unstable angina; Coronary disease; Inflammation; Atherosclerosis.

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Doença arterial coronária

As doenças cardiovasculares (DCV) são as maiores causas de mortes no mundo. Dentre essas, a doença arterial coronária (DAC) continua sendo a principal¹.

Baseado nos dados do Framingham Heart Study, nos Estados Unidos da América do Norte, a probabilidade após 40 anos para o aparecimento de DAC sintomática é 49 % para homens e 32 % para mulheres, com impacto econômico da ordem de 177,1 bilhões de dólares em 2010².

Estimativas da Organização Mundial da Saúde sugerem que mais de 17 milhões de pessoas morreram de DCV no mundo em 2008, representando 30 % de todas as mortes globais. Dessas mortes, aproximadamente 7,3 milhões foram por infarto agudo do miocárdio (IAM) e 6,2 milhões por acidente vascular cerebral (AVC), com projeção de 23,3 milhões de mortes por DCV em 2030¹.

O fato preocupante é que, de todos os pacientes que morrem dentro de 28 dias após o início dos sintomas, cerca de dois terços morrem antes de chegar ao hospital¹.

As DCV são responsáveis por aproximadamente 20 % de todas as mortes em indivíduos com mais de trinta anos e nesta faixa etária, as DCV de origem aterosclerótica foram responsáveis por 193.309 de 962.938 mortes em 2009 e são as principais causas de morte no Brasil³.

1.2 Angina pectoris

As manifestações cardíacas da DAC aterosclerótica podem ser crônica, angina estável (AE)^{2, 4-8} e aguda, como a angina instável (AI)^{5, 9-12}, infarto agudo

do miocárdio com ou sem supradesnível do segmento ST e morte súbita cardíaca.

De acordo com as Diretrizes Brasileiras de Doença Coronariana Crônica⁴:

“Angina é uma síndrome clínica caracterizada por dor ou desconforto em qualquer das seguintes regiões: tórax, epigástrio, mandíbula, ombro, dorso ou membros superiores, sendo tipicamente desencadeada ou agravada com atividade física ou estresse emocional e atenuada ou aliviada com uso de nitroglicerina, como o nitrato sublingual e derivados ou repouso”.

“No caso da angina pectoris estável, a dor ou desconforto dura alguns minutos e cede em aproximadamente um minuto após nitrato sublingual”.

“Para angina instável considerou-se pelo menos uma das três principais apresentações: em repouso (usualmente com duração maior que 20 minutos, ocorrendo há cerca de uma semana); de aparecimento recente (com, pelo menos, gravidade CCSC III – Classificação da Sociedade Canadense de Cardiologia), isto é, limitação com atividades habituais e angina ocorre ao caminhar um quarteirão plano ou subir um lance de escadas, e com início há dois meses; em crescendo (previamente diagnosticada, que se apresenta mais frequente, mais intensa e com episódios de maior duração ou com limiar menor)”.

O infarto agudo do miocárdio sem supradesnível do segmento ST (IAMSSST) e a AI apresentam características clínicas semelhantes, e diferem em relação à intensidade e gravidade da isquemia em levar a dano miocárdico suficiente para liberar marcadores de necrose^{9, 13}.

1.3 Aterosclerose e inflamação

Quase metade de todos os casos de IAM e AVC ocorre em indivíduos sem hiperlipidemia, o que está relacionado a evidências recentes de que aterosclerose é doença inflamatória complexa e pró-trombótica da parede vascular¹⁴.

Fatores de risco tais como: diabetes, dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica (HAS), tabagismo e sedentarismo, entre outros, explicam o crescimento da DAC. Esses, em especial, desencadeiam uma série de alterações no endotélio coronário, determinando disfunção endotelial que é à base do processo aterosclerótico, e este, da DAC.

A aterosclerose é essencialmente doença inflamatória crônica, sistêmica, comportamental, multifatorial, de patogênese complexa e autoimune, com participação dos sistemas imunitário adaptativo e inato^{15, 16}; mobilizando pesquisadores em busca de uma vacina antiaterosclerótica¹⁷. Parece ser influenciada diretamente pelo estilo de vida, e de acordo com estudos recentes, também, pela microbiota (comunidade ou flora microbiana intestinal) ou interação com lipopolissacarídeos bacterianos¹⁸⁻²¹. Na vida adulta, o indivíduo tem ateromas em diferentes fases de evolução, inclusive com graus variados de inflamação e vulnerabilidade. É um processo dinâmico que envolve inflamação, presente tanto no início, quanto na progressão e complicações da aterosclerose²², além de hemostasia, disfunção endotelial e angiogênese²³.

A aterosclerose caracteriza-se por disfunção endotelial, aumento da permeabilidade vascular e entrada da lipoproteína de baixa densidade (LDL) no espaço subendotelial, que, em ambiente de estresse oxidativo, sofre oxidação, e leva a expressão nessas células do receptor endotelial scavenger ou Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1)^{21, 24}. A expressão desse receptor LOX-1, também, é estimulada pela proteína C-reativa (PCR)^{21, 24}. O processo de estresse oxidativo não só causa diminuição da produção de óxido nítrico, como também a mais disfunção endotelial²¹.

A LDL oxidada comporta-se como um corpo estranho que estimula à resposta imune inata, e desencadeia processo inflamatório²¹ e proliferativo, que envolve respostas molecular (expressão de moléculas de adesão pelas células endoteliais lesadas) e celular, representada por linfócitos T e diapedese (infiltração) de monócitos os quais se transformam em macrófagos, que fagocitam a LDL oxidada e formam as células espumosas e, bem como, proliferação de células musculares lisas e componentes da matriz extracelular formando a capa fibrosa e estabelecem a placa aterosclerótica^{16, 25}.

Tais dados demonstram que a aterosclerose é um processo dinâmico na parede vascular, e leva à formação do ateroma, de início precoce e silencioso e na maioria das vezes, inicia-se na infância, por vezes na vida intrauterina, a depender do estilo de vida e fatores de risco materno²⁶.

Tornou-se imperativo na clínica o diagnóstico precoce desse processo inflamatório, tendo em vista adequada profilaxia da progressão e complicações cardíacas do ateroma, como as síndromes miocárdicas isquêmicas instáveis representadas por AI, IAMSSST, infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST (IAMCSST) e morte súbita.

Há vários marcadores inflamatórios passíveis de dosagens laboratoriais tais como: lipoproteína-fosfolipase A2 (Lp-PLA2), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), molécula de adesão intercelular (ICAM-1), molécula de adesão celular vascular (VCAM-1), proteína-1 quimioatrativa de monócitos (MCP-1), Selectina E e P, ligante CD40 solúvel (sCD40L) e PCR. Não é viável do ponto de vista clínico a utilização de rotina desses marcadores, devido ao alto custo e não serem dosados na maioria dos laboratórios. Por

essa razão ficam reservados às instituições de pesquisa, com exceção da PCR.

1.4 Proteína C-reativa

Em 1930, no Instituto Rockefeller de Pesquisa Médica (USA), William Smith Tillett (figura 1) e Thomas Francis Jr. (figura 2) descobrem uma substância no soro de paciente com pneumonia pneumocócica, que se precipita ao reagir contra o polissacarídeo C, fração somática não proteica da parede celular do *Streptococcus pneumoniae* ou *pneumococo*, e a chamam de substância C-reativa^{27, 28}.



Figura 1 - William Smith Tillett*
(1892 – 1974)



Figura 2 - Thomas Francis Jr*
(1900 – 1969)

*http://centennial.rucare.org/index.php?page=C-Reactive_Protein, acessado em 07/09/2014²⁸.

Em anos diferentes e sequenciais, vários autores aprofundam os estudos sobre PCR, a saber: em 1940, Theodore J. Abernethy e Oswald T. Avery estabelecem que a chamada substância C-reativa é uma proteína^{28, 29} e no

mesmo ano, Colin M. MacLeod e Oswald T. Avery a isolam e descrevem muitas de suas propriedades³⁰. Em 1971, Volanakis e Kaplan identificam a fosfocolina no polissacarídeo C da parede pneumocócica como sendo o primeiro ligante específico da PCR³¹. Em meados de 1980, Volanakis, Pepys e Kushner identificam a PCR como derivado hepático³². Em 1996, Kuller et al.³³ com o método ELISA³⁴ (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para dosagem de PCR, documentam a relação entre a PCR e mortalidade por doença cardíaca coronária.

Em 1997, Ridker et al.³⁵ desenvolvem a metodologia de alta sensibilidade para a dosagem de PCR. Isso possibilita avaliar níveis menores que 5 mg/L e divulgam a designação de proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-as), validando-a como biomarcador de doença cardiovascular. A medida da PCR-as pelo método nefelométrico plenamente automatizado é citado em 1999 por Rifai et al.³⁶.

Em 2002, Ridker et al.³⁷ validam a PCR-as, também, como preditor de risco ou de desfecho cardiovascular. Em 2003, tais autores em outra publicação definem as aplicações clínicas da PCR-as para detecção e prevenção de doenças cardiovasculares³⁸.

A PCR pertence à superfamília das proteínas de ligação cálcio dependente (pentraxina)^{30, 39}. Ela é constituída de cinco subunidades idênticas, com 206 aminoácidos cada (protômeros), e apresenta dois sítios de ligação de íons cálcio⁴⁰, com peso molecular de 23 kDa por subunidade, distribuídas simetricamente em torno de um poro central^{41, 42}, formando um disco de 115 kDa, com carga elétrica negativa internamente e positiva externamente⁴⁰. A PCR é considerada clássica ou curta, por se diferenciar da longa, pentraxina 3

(PTX 3), e inclui o componente P do soro amiloide, um componente importante dos depósitos de amiloide da Doença de Alzheimer^{40, 43}.

Segundo Black et al.⁴² e outros autores^{21, 31, 39, 44-46} a PCR é uma das 40 proteínas plasmáticas de fase aguda, sintetizada principalmente pelo fígado e considerada molécula de reconhecimento de padrões, ligando-se a padrões moleculares expostos durante a lesão/morte celular ou na superfície de patógenos, e participa da resposta inata. Os níveis séricos de PCR podem subir rapidamente e aumentar até mil vezes ou mais, após estímulo inflamatório agudo, com meia vida plasmática de 19 h^{25, 32}.

Existe a produção de PCR, embora em menor grau, em sítios extra-hepáticos como, por exemplo: tecido adiposo⁴⁶⁻⁴⁹, parede vascular (célula endotelial/placa aterosclerótica)^{25, 42, 50-53}, tecido atrial de pacientes com aterosclerose⁵¹, macrófagos residentes e células musculares lisas vasculares na placa aterosclerótica^{25, 41, 43, 54}, monócitos/macrófagos, linfócitos e neurônios^{25, 42, 43}.

De acordo com Rin-Biroulet et al.⁴⁹ em adipócitos mesentéricos de pacientes com Doença de Crohn, a síntese de PCR é mediada por TNF- α e IL-6, e pode ser desencadeada por inflamação local ou translocação bacteriana (principalmente de bactérias Gram negativas como a *Escherichia coli*) aos nódulos linfáticos (gordura mesentérica) e a seguir para órgãos internos como fígado e baço, e também, por lipopolissacarídeo, componente estrutural da parede bacteriana. Esses adipócitos podem responder às bactérias com hipertrofia, na gordura mesentérica, e expressarem receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), incluindo Toll-like Receptors (TLRs) 1-11, neste caso, TLR-4; que reconhecem padrões moleculares associados a

patógenos ou partículas (PAMPs). Uma crítica a esse estudo é a possibilidade de produção hepática de PCR, não excluída por punção venosa portal ou biópsia hepática, em função dos riscos de tais procedimentos.

A síntese de PCR pode ocorrer mediante estímulos de citocinas pró-inflamatórias primárias circulantes, como TNF- α e interleucina-1 (IL-1), especificamente a IL-1 β . Esta interleucina é maturada ou convertida por clivagem, de sua forma pró IL-1 β inativa (33 kDa) em IL-1 β madura ou ativa (17 kDa), sob ação da enzima interleucina-1 convertase ou Interleucina-1 enzima de conversão (ICE) ou mais conhecidamente como caspase-1^{55, 56}, sendo esta, também, convertida de sua forma inativa pró-caspase-1 em caspase-1 ativa, pelo complexo intracelular (citossólico) multiproteicos, que incluem a pró-caspase 1, denominados inflammasomes^{57, 58}.

Esses complexos, se acumulam ou se agrupam no citoplasma de macrófagos, células endoteliais e adipócitos, entre outras células, em consequência da ativação de receptores de membrana TLRs por PAMPs ou padrões moleculares associados ao perigo (DAMPs), que acionam a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e, receptores citoplasmáticos (sensores intracelulares) NOD-like Receptors (NLRs), que não só reconhecem PAMPs, mas também DAMPs^{57, 59, 60}. Em macrófagos, isso ocorre após fagocitose de cristais de colesterol, LDL modificada ou patógenos, entre outros.

A ligação entre o metabolismo do colesterol e inflamação na aterosclerose foi descrito por Duewell et al.⁵⁹ e Rajamaki et al.⁶⁰, os quais relatam que macrófagos reconhecem e fagocitam cristais de colesterol no núcleo necrótico e em áreas subendoteliais, e LDL oxidada, via receptores de superfície Toll-like (TLR-4).

Segundo os mesmos autores, tais receptores, uma vez estimulados, induzem a sinalização para expressão dos genes da pró-IL-1 β RNAm e NLRP3 RNAm. No citoplasma, os cristais de colesterol (semelhante à LDL oxidada), promovem desestabilização ou dano fagolisossomal com liberação da protease de cistina lisossômica chamada catepsina B (inativada posteriormente pelo pH neutro do citoplasma). A catepsina B lisossomal associada ao efluxo de potássio, ativa as ROS e o agrupamento ou montagem de vários inflammasomes, e o mais estudado é o receptor de oligomerização nucleotídeo leucine-rich, família pyrin 3 (NLRP3). Opinião compartilhado por Schroder⁵⁷.

As citocinas: IL-1, IL-1 β , TNF- α e IL-6, são sintetizadas e liberadas por leucócitos (principalmente monócitos/macrófagos^{58, 61, 62}), fibroblastos, mastócitos, adipócitos^{39, 46, 49} e células endoteliais⁵⁸, todos ativados entre outras causas, por lesão tecidual⁴⁴.

A IL-1 β ativa pode estimular diretamente a síntese hepática de PCR ou indiretamente, por liberação de IL-6^{58, 63}.

A PCR é produzida principalmente pelo estímulo da citocina pró-inflamatória secundária IL-6^{38, 46, 47, 64}, que se liga ao seu receptor específico (IL-6R) no hepatócito. Esta interação promove a translocação nuclear (DNA \rightarrow RNAm), seguido de translação (RNAm \rightarrow síntese protéica).

Entretanto, vários autores, demonstram que apenas a IL-6 estimula a síntese de todo o espectro da proteína C-reativa, através da indução da expressão e transcrição genética nuclear do RNAm de PCR, em hepatócitos humanos^{45, 65}.

Uma vez produzida, a PCR gera estímulo para mais produção de PCR, retroalimentando o sistema, até que o estímulo inicial termine.

A PCR é sintetizada em resposta à membrana ou células danificadas (inflamação ou infecção) ou em apoptose, bactérias e neoplasia maligna (sendo parte da resposta inata). Ela reconhece e interage com a fosfocolina⁴⁰, porção hidrofílica da fosfatidilcolina presente nos fosfolípidos das membranas celulares e das lipoproteínas do plasma (ligando-se a apolipoproteína B da LDL e VLDL⁶⁶), bem como na parede celular de bactérias e fungos ou a pequenas partículas de ribonucleoproteínas nucleares, expostas nessas situações⁴⁰, uma vez que são inacessíveis à PCR em situações normais (células normais)³⁹. Segundo Thompson et al.⁴⁰ a interação da PCR às membranas celulares é cálcio dependente.

A PCR pode unir-se, também, a vários outros ligantes, como por exemplo: receptor da LDL oxidada (LOX-1) induzindo sua expressão, receptores (Fc) de imunoglobulina IgG FcγRI (CD 64) e FcγRIIa (CD 32 - neutrófilos/monócito/macrófagos), CD 36 (macrófagos), CD 68, CD 40L (glicoproteína de superfície expressa em linfócitos T), CD 40 (expresso em linfócitos B, células endoteliais vasculares, monócitos, macrófagos e fibroblastos), cromatina, histona e C1q^{21, 25, 42, 67, 68}. Paffen e deMaat relatam que a PCR liga-se ao receptor inibitório FcγRIIB de leucócitos e células endoteliais, modulando suas ações²⁵.

A PCR ao ligar-se a fosfocolina^{21, 31}, ativa o sistema de complemento (aproximadamente 30 proteínas), principalmente C1-C9, que são os principais componentes da cascata de ativação clássica^{42, 43}. Essa ligação ocorre por meio da interação direta com complexo C1q^{21, 42, 67}, gerando produtos de clivagem C3 e C4 pela ação da C3 convertase. Agindo como opsoninas (partículas biológicas PCR-opsonizadas)^{42, 67} ativam a função fagocítica em

macrófagos e neutrófilos para, entre outras funções, promover depuração de material biológico como células apoptóticas, necróticas ou bactérias, ou a participarem na reparação da lesão celular/tecidual²⁵. Também, por inibir a formação de C5 convertase limita ou suprime a produção de C5-C9, complexos de ataque às membranas celulares, tendo nessa situação, ação anti-inflamatória (mecanismo de proteção celular, principalmente em doenças autoimunes)^{25, 42, 67}.

Para o reconhecimento/ligação (PCR-fosfocolina), ocorre interação entre dois íons cálcio na PCR e dois oxigênios da porção fosfato da fosfocolina, com participação de uma bolsa hidrofóbica centrada em duas estruturas da PCR denominadas Phe-66 e Glu-81. O Glu-81 liga-se a porção colina da fosfocolina^{40, 42, 69}.

A PCR-as não é um mero marcador de atividade inflamatória, mas, participa diretamente no processo de aterogênese, por meio de várias de suas ações biológicas^{46, 47, 70} e exerce efeitos pró-inflamatórios diretos em células endoteliais humanas, independente de LDL⁷⁰. Essa opinião é compartilhada por outros autores²⁵, os quais sugerem que a PCR pode contribuir para progressão e ou instabilização da placa aterosclerótica.

Vários autores destacam que a PCR tem ações anti-inflamatórias ou mecanismos de proteção, tais como: induzir a expressão de antagonista do receptor interleucina-1 (IL-1R); aumentar a síntese e liberação da citocina anti-inflamatória IL-10 por macrófagos residentes na placa aterosclerótica, por meio da qual retarda a progressão da aterosclerose e estabiliza a placa^{25, 42, 61}; reprimir a síntese do interferon- γ e suprimir a formação do complexo C5-C9^{25, 42} e, também, ações pró-inflamatórias citadas por outros autores a exemplo de:

ativar o complemento e aumentar a fagocitose²⁵; induzir a expressão de moléculas de adesão (ICAM-1, VCAM-1 e Selectinas) mediada em parte pela endotelina-1, IL-6 e IL-8^{25, 46, 47}; promover a quimiotaxia de monócitos através da expressão da MCP-1 em células endoteliais²⁵; ligar-se a fosfocolina ou apolipoproteína B da LDL ou VLDL (opsonização)^{21, 61, 66, 71}, além de opsonizar outras partículas biológicas para fagocitose por macrófagos⁶⁶; inibir a expressão da enzima óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS), modulando a função endotelial^{42, 46, 47, 72} embora, esse efeito possa ser atribuído ao contaminante azida de sódio no reagente, como bem relatam Paffen e deMaat²⁵; inibir a fibrinólise por ativar o inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1) em células endoteliais, e promover a formação de fibrina, que parece ser um importante elo entre a inflamação e a trombose^{25, 41, 46}; aumentar a liberação de IL-1, IL-6 e IL-8 (responsável pela adesão de monócito na célula endotelial)²⁵ e TNF- α ; induzir macrófagos residentes na placa aterosclerótica a sintetizarem IL-12²⁵, e essa, de acordo com Fonseca et al.⁶¹, participa na proliferação e diferenciação de células T e natural killer, que expressam o interferon γ (com ações sinérgicas a PCR²⁵), propiciando uma ligação entre as respostas imune adaptativa e inata.

A PCR ainda aumenta a permeabilidade vascular, por provável interação com o receptor LOX-1^{21, 25} expressos em células endoteliais lesadas^{21, 24}, induzindo a estresse oxidativo²¹; aumenta a atividade pró-inflamatória de diversas adipocinas^{47, 73}; induz a liberação de IL-6 por macrófago⁴²; aumenta a captação de LDL por macrófago por meio da opsonização da LDL cálcio dependente, em seu principal receptor no macrófago, identificado como receptor de imunoglobulina de baixa afinidade CD 32⁶⁶, e a fosfocolina das:

LDL oxidada, acetilada, enzimaticamente modificada, nativa e também, da “abandonada”^{66, 71}; induz a proliferação e a migração de células musculares lisas vasculares²⁵ e reestenose após ICP⁴⁷, por provável aumento da expressão do receptor de angiotensina tipo 1 (AT1-R)²⁵; inibe a angiogênese e estimula apoptose das células endoteliais^{24, 38, 47}.

Existem duas isoformas de PCR, a pentamérica (PCRp ou PCR nativa) e a monomérica (PCRm ou PCR modificada por perda irreversível da simetria ou rearranjo conformacional). Tal rearranjo ocorre após ligações da PCRp às membranas celulares danificadas ou em ambientes oxidativos⁷⁴, entre outros. A PCRm é menos potente que a PCRp^{25, 41, 74}. Ao contrário da PCRp, a PCRm parece ser predominantemente ligada às membranas celulares lesadas⁷³.

As isoformas de PCR apresentam diferentes ações biológicas, pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, dependendo do contexto na qual atuam⁴².

A PCRp e PCRm se ligam a receptores (Fc) distintos em neutrófilos humanos: FcγRIIa (CD32), também, expressos em macrófagos e plaquetas e FcγRIII (CD16), receptor de baixa afinidade de ligação a imunocomplexo IgG, respectivamente⁴¹.

Há dados a respeito do fato de que a PCRp inibe a ativação, aderência e tráfego de neutrófilos (ação anti-inflamatória) enquanto a PCRm, promove adesão dos neutrófilos às células endoteliais e suprime a apoptose dos neutrófilos (ação pró-inflamatória)^{74, 75}. Tais autores sugerem que leucócitos mononucleares e células endoteliais liberam IL-8 em resposta a PCRp e PCRm.

Molins et al.⁷⁵ relatam que ambas isoformas de PCR são capazes de se ligarem às plaquetas em repouso ou in vitro e determinar sua ativação; mas,

apenas as plaquetas aderidas e ativadas, sob condições de fluxo, são capazes de dissociar a PCRp em PCRm em sua superfície e somente essa PCRm formada, é capaz de promover recrutamento adicional de mais plaquetas e PCRp, ativar outras plaquetas e gerar mecanismo de feedback positivo. Pode, também, contribuir para complicações aterotrombóticas e trombose propriamente dita. Esses autores relatam ainda, a capacidade da PCRm de ligar-se a proteínas da matriz celular, tais como o colágeno I e IV, e fibronectina.

Apenas a PCRm apresenta características pró-trombóticas, por ativação e sinalização intracelular da glicoproteína IIb-IIIa, e leva a agregação plaquetária⁷⁵.

Na placa aterosclerótica, a PCR pode ligar-se à LDL e ativar o sistema do complemento. Dessa ligação decorre estimulação de macrófagos à sua fagocitose (LDL oxidada) e a produzirem fator tecidual, um dos responsáveis pela trombose que ocorre nas síndromes vasculares agudas⁷⁶.

A PCR pode ser um importante elo entre a inflamação e trombose, por meio da ativação do sistema de coagulação do sangue, via ativação das plaquetas⁴¹ e, para Thompson et al.⁴⁰ a PCR por seus prováveis efeitos pró-inflamatórios e pró-trombóticos, contribuem para a patogênese da progressão e complicações trombo oclusivas do ateroma.

Shang-Rong et al.⁷⁷ citam que a PCRm é preferencialmente expressa em tecidos e a PCRp encontrada principalmente no plasma. Tais autores consideram que a forma estável, PCRp, representa um estado de repouso da PCR, enquanto as isoformas monoméricas de PCR por eles citadas (de ação curta, PCR_m e longa, PCR_s), representam pré-formas funcionais da PCR.

Denominam a membrana celular como um possível interruptor universal, que regula a estrutura e funções da PCR.

1.5 Proteína C-reativa na doença arterial coronária

A busca por marcadores para avaliar o risco de doença cardiovascular é um dos grandes desafios da medicina nas últimas décadas, mais especificamente na área de cardiologia. Dentre estes marcadores temos os biológicos: glicose, creatinina, renina, colesterol na lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e leucócitos, e os inflamatórios: Lp-PLA2, IL-6, TNF- α , ICAM, VCAM, MCP-1, selectina-E e PCR-as; entre outros.

No aspecto clínico, ressalta-se que a validade da PCR-as como marcador de doença e preditor de risco cardiovascular, foi sugerida com a publicação do Physicians' Health Study³⁵. Outros estudos posteriores confirmam a validade desse marcador na predição dos principais desfechos cardiovasculares^{37, 38, 78, 79}. Entretanto, Danesh et al.⁸⁰ relatam que a PCR é um preditor moderado de DAC, e seu uso em prever a probabilidade desta patologia, necessita de revisão futura.

Na DAC, vários autores consideram a PCR como marcador inflamatório e preditor de risco de eventos cardiovasculares^{35, 38, 52, 81-85}. Mas, Kaptoge et al.⁸⁶ em meta-análise que avaliou 160.309 pessoas sem história de doença vascular, relatam que ajustes para vários fatores de risco convencionais e de fibrinogênio no plasma, resultam em considerável enfraquecimento das associações dos níveis de PCR com o risco de doença cardíaca coronária e AVC isquêmico.

A PCR-as determina um estado inflamatório, e é admitida como marcador de risco aterotrombótico¹⁴. Os indivíduos classificados como de alto risco devido a um aumento da PCR-as, podem se beneficiar com o uso de estatinas^{81, 87}. A opinião de que a PCR promove aterotrombose é compartilhada por outros autores²¹.

Na obesidade, a PCR faz a ligação entre a síndrome metabólica, resistência a insulina e diabetes tipo 2, a aterogênese aumentada^{46, 57}.

No estudo JUPITER⁸¹, pessoas com níveis de LDL-C < 130 mg/dL, PCR-as \geq 2,0 mg/L, triglicérides < 500 mg/dL, sem antecedentes de doenças cardiovasculares (DAC ou revascularização miocárdica) ou AVC, e aparentemente saudáveis, a PCR-as se mostrou como excelente marcador dos primeiros desfechos cardiovasculares em homens \geq 50 anos e mulheres \geq 60 anos.

Vários autores relatam que a PCR-as acrescenta informações de prognóstico em todos os níveis de LDL-C³⁷, pontuação de risco de Framingham^{37, 38, 88}, nos jovens e nas mulheres, principalmente no risco intermediário⁸⁸⁻⁹², de pressão arterial^{93, 94} e de síndrome metabólica^{14, 38, 95, 96}.

Entretanto, essa opinião não é compartilhada por Lloyd-Jones et al.⁹⁷ que: “não encontram nenhuma evidência definitiva de que, para a maioria dos indivíduos, a PCR acrescenta valor preditivo substancial além do previsto pela estimativa de risco, utilizando-se fatores de risco tradicionais para DCV”.

Em excelente revisão, Paffen e deMaat abordam o papel causal da PCR na aterosclerose e, concluem que o papel exato da PCR na iniciação e progressão da aterosclerose ainda é pouco claro e deve ser mais bem estudada²⁵.

Na atualidade, existe quase consenso entre os autores de que a PCR não é um fator de risco para DCV, principalmente após a publicação dos estudos de Zacho et al.⁹⁸ os quais demonstram que polimorfismos no gene da PCR estão associados a aumentos acentuados nos níveis de PCR, entretanto, não se associam a risco aumentado de doença vascular isquêmica. Opinião compartilhada por Elliot et al.²² cujos dados de randomização mendeliana de mais de 28.000 casos são evidências contra um papel causal para a PCR na aterosclerose.

Esses fatos são corroborados por meta-análises de Kaptoge et al.⁸⁶ e Wensley et al.⁹⁹. Nessa última, os autores avaliaram 47 estudos epidemiológicos, em 15 países, com 194.418 participantes e concluem que a PCR em si, é pouco provável que seja um fator causal na doença cardíaca coronária.

A PCR quando medida com detecção de alta sensibilidade apresenta reprodutibilidade, baixo custo, ser estável, sem variação circadiana¹⁰⁰ ou preparo para sua coleta, como jejum³⁹, além de ter padronização laboratorial, o que torna sua dosagem de fácil realização, com numerosos estudos epidemiológicos. É considerada na prevenção primária, como o melhor marcador inflamatório coronariano laboratorial validado para uso clínico no momento, em termos de predição de risco de evento cardiovascular, tanto por seu poder preditivo quanto por sua utilidade clínica⁸⁹.

Um número crescente de estudos prospectivos demonstra uma boa correlação entre os dados obtidos no seio coronário (SC) e resultados clínicos. Por sua vez, as alterações cardíacas podem ser mais bem estudadas a partir

de amostras de sangue do SC, que oferece uma forma única de avaliar o ambiente cardíaco local²³.

Vários estudos que avaliaram o estado inflamatório coronário na AE e AI, o fizeram e basearam suas conclusões com base nos níveis de PCR obtidos em amostras de sangue coletadas em veia periférica; supondo que tivessem boa representatividade do que ocorre no SC (coração).

Até onde sabemos, este é o primeiro estudo que avaliou a correlação entre os níveis séricos absolutos de PCR-as em veia periférica do antebraço esquerdo (VPAE) vs. SC, nos pacientes portadores de DAC com diagnóstico de AE e AI.

2 OBJETIVOS

2.1 Principal

Avaliar a correlação entre os níveis séricos absolutos de PCR-as na VPAE vs. SC, nos pacientes portadores de DAC com diagnóstico de AE e AI.

2.2 Secundário

Avaliar se os níveis séricos absolutos de PCR-as periférico (VPAE) e Central (SC), diferem nos pacientes portadores de DAC com diagnóstico AE e AI.

3 MÉTODOS

3.1 Aprovações do protocolo e financiamento da pesquisa

Este protocolo foi avaliado e aprovado no Comitê Científico e Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq), do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-HCFMUSP), sob o N° 0464/10 e do Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo, sob o N° 595-10. O estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), protocolo auxílio-pesquisa N° 2010/09072-6. O autor é bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O estudo foi realizado conforme a Declaração de Helsinque.

3.2 Caracterização do estudo

Para o presente modelo optou-se por estudo observacional descritivo, transversal, desenvolvido colaborativamente no InCor-HCFMUSP e Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo, onde os pacientes encaminhados ao hospital com DAC para angiografia coronária foram avaliados. Desses, 40 pacientes que preencheram os critérios de seleção foram incluídos no estudo e, classificados em AE (n = 20) e AI (n = 20).

As avaliações dos participantes foram feitas exclusivamente pelo autor da pesquisa. Foram coletados dados da história clínica e realização do exame físico, tendo em vista aplicar os critérios de inclusão e exclusão para participação no estudo, com ênfase no diagnóstico clínico de angina pectoris típica (AE e AI).

Todos os pacientes tinham fichas de avaliação com dados angiográficos, clínicos, ecocardiográficos, eletrocardiográficos, de identificação e laboratoriais, que incluíram os seguintes exames gerais de triagem: angiograma das artérias coronárias, ecocardiograma bidimensional (ECO), eletrocardiograma de 12 derivações (ECG), alanina aminotransferase (ALT), creatinina, glicose, hemograma, hormônio tiroestimulante (TSH) e troponina I, realizados no Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo seguindo-se a metodologia de rotina; e específico de PCR-as (InCor-HCFMUSP).

3.3 Seleção dos pacientes

A inclusão dos casos ocorreu de acordo com os critérios de seleção e após confirmação pela angiografia coronária da presença de lesão coronária obstrutiva significativa.

3.3.1 Critérios para inclusão

- Angina pectoris estável ou instável;
- Estenose ≥ 70 % do diâmetro da luz vascular, em um segmento de uma das principais artérias coronárias (epicárdicas);
- Função sistólica do ventrículo esquerdo normal, em repouso ao ECO (fração de ejeção ≥ 55 %), calculada pelo método de Simpson modificado;
- Idade entre 40 e 75 anos;
- Ritmo sinusal no ECG;
- Troponina I normal (com detecção de alta sensibilidade).

3.3.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os pacientes que apresentaram qualquer das condições relacionadas abaixo, que pudessem estar associadas a níveis aumentados de PCR, relatadas por vários autores⁸⁰.

- Ablação, estudo eletrofisiológico ou intervenção coronária percutânea (ICP) < 3 meses;
- Alcoolismo ou etilista pesado ou abstinência < 3 meses;
- Anemia;
- AVC < 3 meses;
- Bradi ou taquiarritmia;
- Cardiopatia congênita;
- Câncer < 5 anos;
- Cirurgia cardíaca ou geral < 3 meses;
- DAOP ou carotídea;
- Diabetes mellitus;
- Dissecção de aorta;
- Doença inflamatória crônica;
- Doença inflamatória infecciosa, não infecciosa aguda ou trauma < 3 meses;
- Doença renal crônica em fase de insuficiência renal moderada (creatinina \geq 1,5 mg/dL);
- HAS não controlada;
- Hipo ou hipertireoidismo;
- IAM < 3 meses;

- Insuficiência hepática;
- Miocardiopatia;
- Obesidade;
- Pneumopatia;
- Tabagismo ativo ou abstinência < 3 meses;
- Transplante de órgão prévio;
- Uso de glicocorticoide, imunossupressor ou anti-inflamatório não esteroide < 3 meses;
- Valvopatia;
- ICC.

3.4 Coleta da amostra de sangue e avaliação laboratorial

Coletaram-se amostras de sangue na sala de hemodinâmica, com paciente em decúbito dorsal horizontal e repouso de no mínimo 60 minutos, imediatamente antes da administração de heparina, nitrato ou contraste.

Todas as amostras de sangue foram coletadas com os pacientes em jejum prévio de 12 horas, tendo-se administrado a última dose de estatina (rosuvastatina 10 mg), nitrato ou ácido acetil salicílico (AAS), no mínimo, 11 horas e 20 minutos antes da coleta da amostra de sangue, realizada entre as 7h20 e 10h10 do dia seguinte.

As amostras foram obtidas simultaneamente de uma VPAE (amostra periférica) por meio de venopunção direta e, do SC (amostra central) por cateterização direta, utilizando-se cateter angiográfico Lehman[®], da Medtronic Parkway Minneapolis USA 55432.

O sangue assim coletado foi acondicionado em tubos com gel separador marca Vacuette[®], cinco mL, (Greiner Bio-One, Americana, São Paulo, Brasil), e imediatamente transferidos para caixa térmica (8 L), marca Invicta[®] (Sobral Invicta S/A, Brasil).

Para evitar oscilações de temperatura durante o transporte das amostras de sangue para o Laboratório de Análises Clínicas (InCor-HCFMUSP), realizou-se a validação da caixa térmica, possibilitando que a temperatura interna na caixa fosse estabilizada e mantida entre 3,5 e 4,5 °C (média 4 °C), de acordo com a recomendação (temperatura entre 2 e 8 °C) do fabricante do kit para a dosagem da PCR (figura 3).

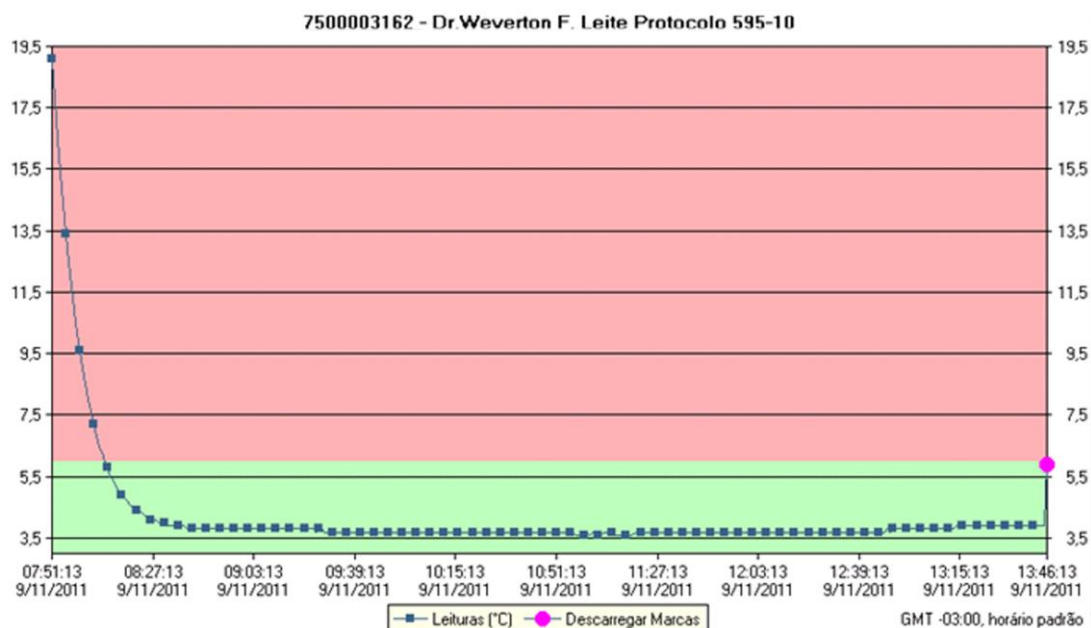


Figura 3 - Curva de temperatura interna na caixa térmica, estabilizada entre 3,5 e 4,5 °C (média 4 °C).

Nota: Software Log Tag Analyzer[®], versão 1.9, da Log Tag Recorders, Nova Zelândia, em computador fornecido pelo Hospital Beneficência de São Paulo, departamento de Hematologia e Hemoterapia.

Para este fim, utilizaram-se dois acumuladores de calor, marca Gela-K[®] 550 mL (GK Térmicos e Hospitalares Ltda, Butantã, São Paulo, Brasil), cuja temperatura foi registrada através de termômetro digital T Box[®].

No laboratório de análises clínicas, após formação completa do coágulo, os tubos com o sangue foram centrifugados a 3.000 rpm por 15 minutos, utilizando-se centrífuga marca Eppendorf[®] AG, modelo 5804R, Hamburg, Germany, na temperatura de 4 °C. As amostras de soro foram analisadas no mesmo dia para dosagem da PCR, utilizando-se metodologia de alta sensibilidade.

3.5 Eletrocardiografia

Os pacientes foram submetidos ao registro de ECG de repouso com doze derivações convencionais. Para tanto, foi utilizado o aparelho GE CardioSoft[®]

versão 6.51 da GE Medical Systems Information Technologies (Freiburg, Alemanha). Analisou-se o ECG segundo as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre análise e emissão de laudos eletrocardiográficos¹⁰¹.

3.6 Ecocardiografia bidimensional

Todos os pacientes foram submetidos ao exame ecocardiográfico para avaliação da função sistólica, por meio da fração de ejeção do ventrículo esquerdo. Isso se deu por meio da técnica bidimensional pelo método biplanar de discos, regra de Simpson modificada¹⁰²⁻¹⁰⁴. Determinaram-se também, lesões estruturais cardíacas. Os exames foram realizados no aparelho comercial modelo Xario[®] SSA-660A, marca Toshiba (Japão), usando-se transdutor de 2,5 MHz com banda larga. Todos os exames foram feitos por observadores com experiência reconhecida, e armazenados de forma digital no próprio aparelho, com posterior gravação em pen-drive.

3.7 Angiografia coronária quantitativa (ACQ)

Após avaliação clínica e observados os critérios de inclusão e exclusão, os pacientes foram levados à sala de hemodinâmica. As vias de acessos empregadas para angiografia coronária foram: artéria femoral direita¹⁰⁵ ou artéria radial direita¹⁰⁶. A posição do cateter mantida em SC foi confirmada por meio de injeção de contraste, imediatamente após a coleta das amostras de sangue (figura 4).

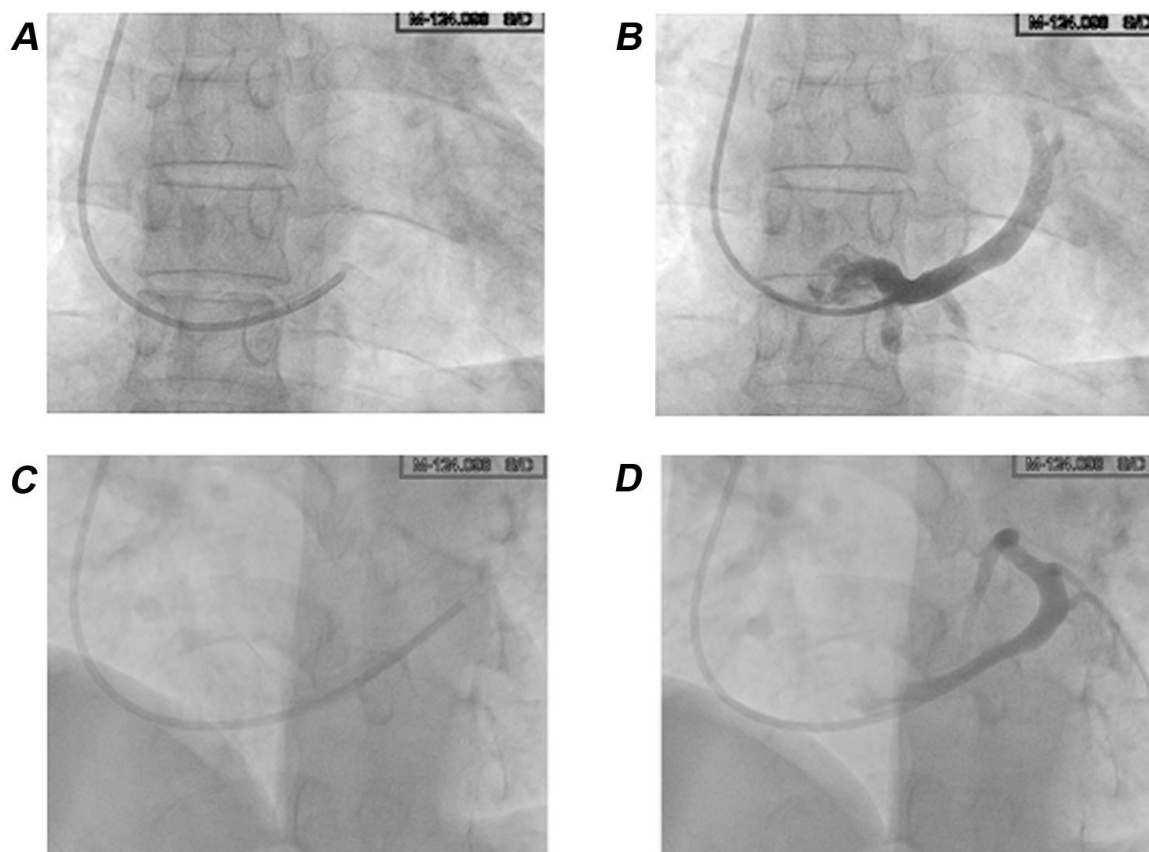


Figura 4 – Cateter posicionado no seio coronário, sem contraste, em projeção anteroposterior (A) e oblíqua anterior esquerda (C). Angiograma do seio coronário em projeção anteroposterior (B) e oblíqua anterior esquerda (D).

Depois da coleta da amostra de sangue realizou-se angiografia coronária nas projeções padronizadas, por meio de contraste iodado, iônico, da marca Telebrix Coronar^R Guerbet.

Realizou-se o exame em equipamento da marca Philips modelo Allura Xper FD 10[®], com captura e processamento digital de imagens, e transferência para a estação de trabalho Philips Xcelera[®], ambos da empresa Philips Medical Systems, Best, Holanda e, pós-processadas, utilizando-se o software Cardiovascular Angiography Analysis System (CAAS 2000[®]), da empresa PIE Medical's, Maastricht, Holanda. Determinou-se por meio de análise, o grau de gravidade da estenose. A seguir, as imagens foram armazenadas de maneira

digital no Picture Archiving and Communication System (PACS®) e gravadas em compact disc, padrão DICOM.

Não houve complicações durante as angiografias coronárias ou relativas às coletas das amostras de sangue em VPAE ou SC.

Na interpretação das imagens avaliadas por meio da ACQ, procurou-se determinar ou confirmar a presença de estenose $\geq 70\%$ nas principais artérias coronárias: descendente anterior, circunflexa e coronária direita.

3.8 Dosagem da proteína C-reativa

A PCR foi quantificada por meio de anticorpos monoclonais, pelo método de imunonefelometria (alta sensibilidade), que é considerado padrão ouro para detecção dos níveis de PCR-as³⁴, em equipamento automatizado BN II Systems®, utilizando o Kit Cardio Phase hs-CRP® da empresa Siemens Healthcare Diagnostics Products, Marburg, Alemanha.

O valor de referência foi inferior a 1,0 mg/L para avaliação de risco de doença vascular. O limite de detecção do método foi de 0,15 mg/L. O coeficiente de variação foi de 7,6 % para uma concentração de 0,4 mg/L.

3.9 Fluxograma do estudo

O fluxograma do estudo está esquematizado na figura 5.

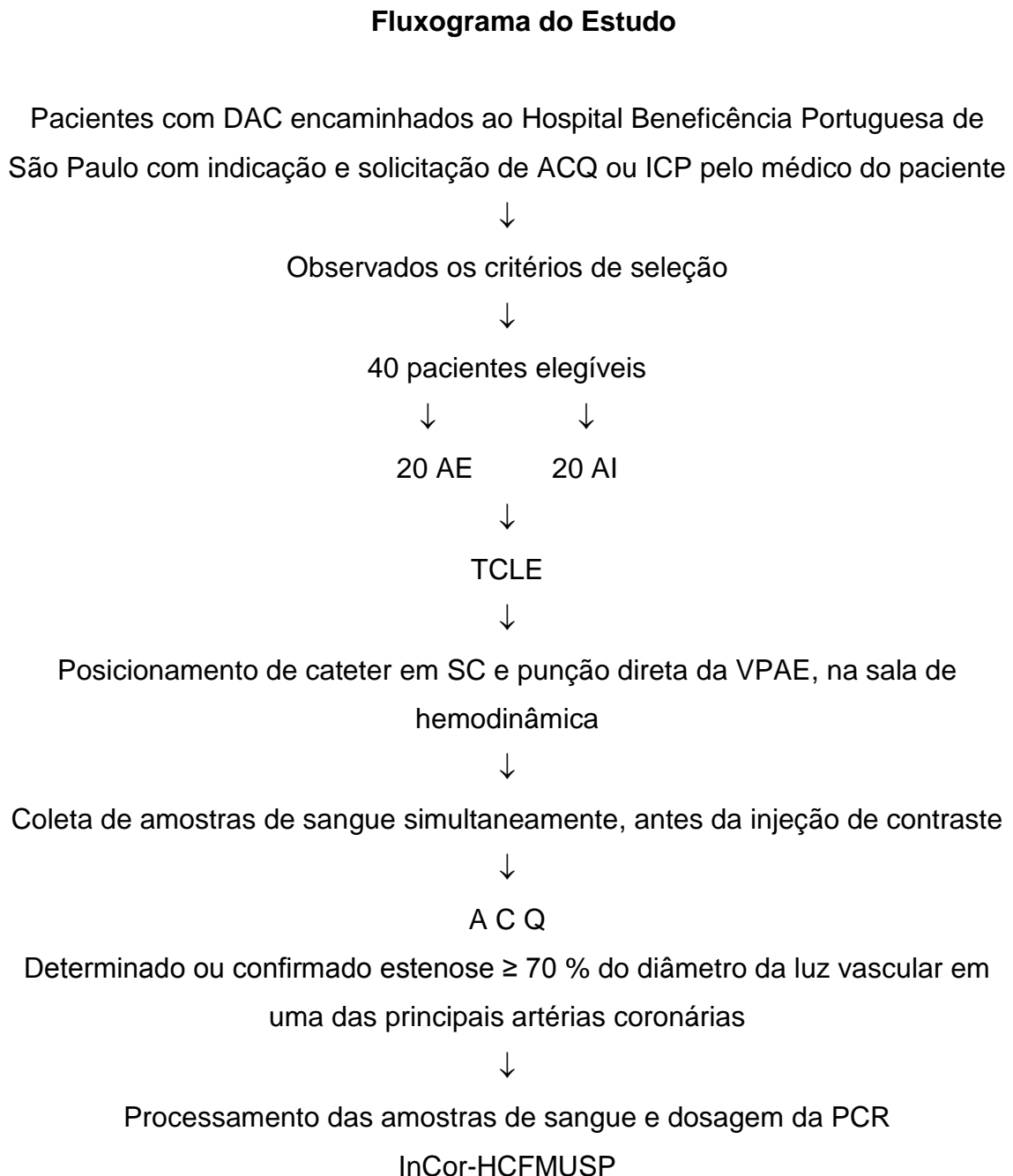


Figura 5 - Representação esquemática do fluxograma do estudo

3.10 Análise Estatística

O cálculo amostral foi realizado baseado no valor do coeficiente de correlação de Pearson (r). Nossa hipótese era de que haveria uma correlação entre os níveis de PCR-as na VPAAE vs. SC acima de 0,70.

Com base na estimativa de correlação de 0,70, poder de 80 % e nível de significância do teste de 5 %, obteve-se o tamanho da amostra para cada grupo (AE e AI).

A fórmula¹⁰⁷ utilizada para o cálculo do tamanho amostral foi:

$$"n = [(z_{(1-\alpha/2)} + z_{(1-\beta)}) / z_r] + 4"$$

Onde:

$$z_r = 0,5 \times \ln [(1+r) / (1-r)]$$

r = coeficiente de correlação de Pearson hipotético (neste estudo = 70)

$z_{(1-\alpha/2)}$ = valor da distribuição normal baseado no nível de significância

$z_{(1-\beta)}$ = valor da distribuição normal baseado no poder do teste

ln = logaritmo neperiano

Para as variáveis quantitativas, a análise foi feita por meio do cálculo de médias \pm desvios-padrão. Em relação às variáveis qualitativas, calcularam-se frequências absolutas e relativas.

Com o objetivo de avaliar se os níveis de PCR-as obedeciam à distribuição normal, utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk^{108, 109}. As análises referentes à PCR foram realizadas por meio de transformação dos dados para uma escala logarítmica (transformação logarítmica) para obtermos normalidade dos dados (distribuição Gaussiana).

Na comparação das médias de dois grupos foi utilizado o teste t de Student, quando a suposição de normalidade dos dados não foi rejeitada e o teste não paramétrico de Mann-Whitney, para dados não normais^{108, 109}.

Para o estudo de dois fatores influenciando as médias dos valores estudados, optou-se pela análise de variância a dois fatores (ANOVA)^{108, 109}. Proporções foram comparadas por meio do teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher^{108, 109}.

Para a correlação entre os níveis de PCR-as em VPAAE vs. SC utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson. Quanto à obtenção de um modelo preditor foi utilizado o modelo de regressão linear simples^{108, 109}.

Os valores obtidos nos testes foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Todos os dados foram analisados utilizando-se o software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc.[®], Chicago, IL, USA), versão 17.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização da amostra

Durante o período entre Novembro de 2011 e Setembro de 2012, avaliou-se 258 (100 %) pacientes portadores de DAC aterosclerótica. Desses, foram selecionados 40 (15,50 %) com diagnóstico de angina pectoris que compuseram a amostra do presente estudo, e classificados em AE (n = 20; 7,75 %) e AI (n = 20; 7,75 %).

Existiram 27 causas de não participação no estudo, onde um paciente pode ter tido mais de uma, e as mais frequentes com respectivos números de pacientes e percentuais (%), foram: diabetes 89 (34,49 %), miocardiopatia 36 (13,95 %), IAM < 3 meses 24 (9,30 %), ausência de angina 22 (8,52 %) e tabagismo 21 (8,14 %).

As causas de não participação expressas em percentual, baseadas nos 258 casos avaliados, encontram-se descritas na Figura 6.

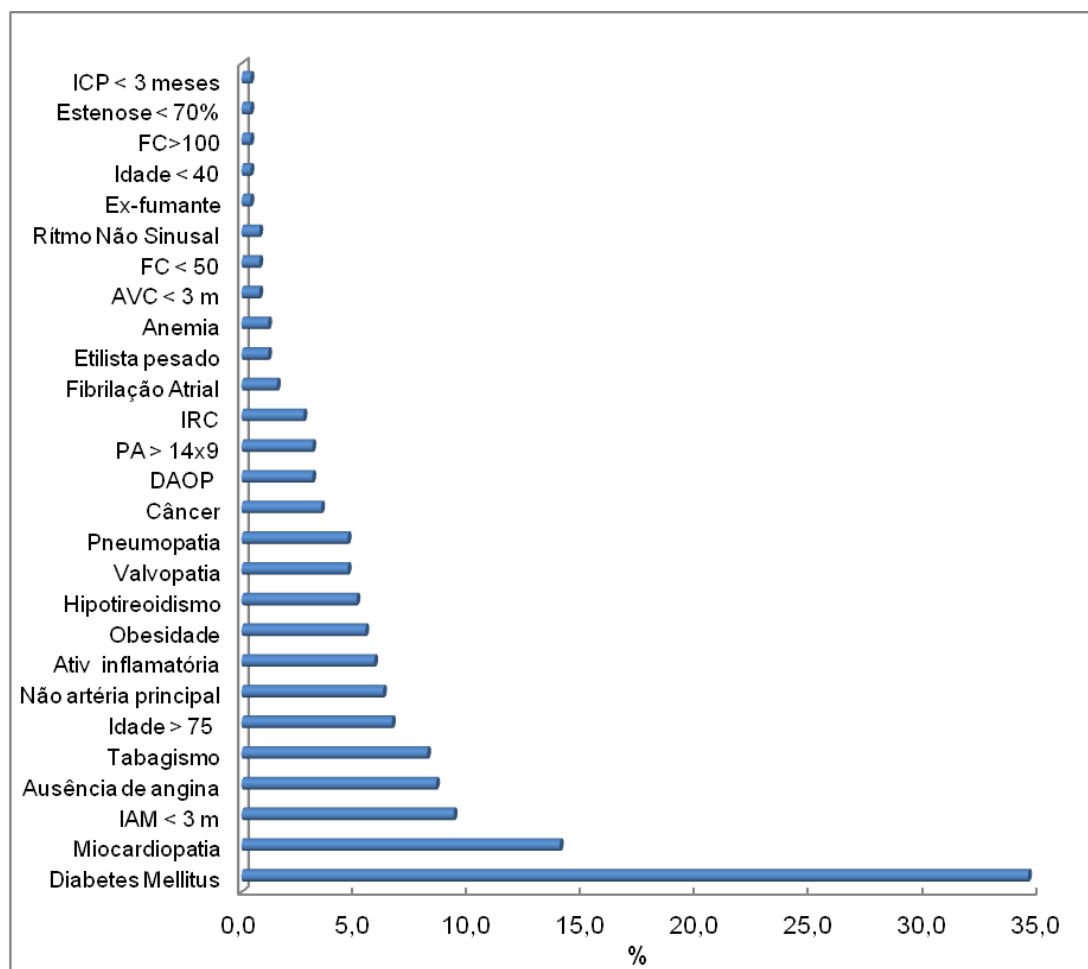


Figura 6 - Distribuição das causas de não participação dos pacientes no estudo, expressas em porcentual (%), presentes na população inicial.

Nota: Ex-fumante com abstinência de tabaco < 3 meses. Ativ, indica atividade e etilista pesado (consumo de álcool), mulher > 7 doses/semana e homem > 14 doses/semana.

4.2 Características basais dos participantes do estudo

Nos pacientes com AE, a média de idade foi de $59,50 \pm 9,12$ anos, e com AI, $59,00 \pm 9,79$ anos. Em cada grupo, 13 pacientes eram do sexo masculino e sete, do feminino.

De acordo com as características basais dos participantes observou-se que entre os pacientes com AE e AI, não houve diferença significativa na distribuição por idade, sexo, IMC, tabagismo, consumo de bebida alcoólica, HAS e FC (tabela 1).

Tabela 1 - Características basais dos participantes do estudo

Variável	Angina			P
	Total (n = 40)	Estável (n = 20)	Instável (n = 20)	
Idade (anos)	59,25 ± 9,34	59,50 ± 9,12	59,00 ± 9,79	0,868 ⁽¹⁾
Sexo masculino, n (%)	26 (65,0)	13 (65,0)	13 (65,0)	1,000 ⁽²⁾
IMC (kg/m ²)	26,00 ± 2,98	25,77 ± 3,29	26,24 ± 2,69	0,621 ⁽¹⁾
Ex-fumante, n (%)	25 (62,5)	12 (60,0)	13 (65,0)	0,744 ⁽²⁾
Uso de álcool, n (%)				
Ex-etilista, nunca, raramente	31 (77,5)	16 (80,0)	15 (75,0)	1,000 ⁽³⁾
Etilismo leve a moderado	9 (22,5)	40 (20,0)	5 (25,0)	
HAS, n (%)	29 (72,5)	16 (80,0)	13 (65,0)	0,288 ⁽²⁾
PAS (mmHg)	122,50 ± 10,00	120,75 ± 11,27	124,25 ± 8,47	0,274 ⁽¹⁾
PAD (mmHg)	73,88 ± 7,88	75,00 ± 6,07	72,75 ± 9,39	0,374 ⁽¹⁾
FC (bpm)	64,65 ± 10,43	63,75 ± 0,45	65,55 ± 10,60	0,592 ⁽¹⁾

NOTA: Ex-fumante com abstinência de tabaco > 3 meses; ex-etilista com abstinência de álcool > 3 meses; consumo de álcool raramente ≤ 1 dose/mês; etilismo leve, homem ou mulher ≤ 3 doses/semana; etilismo moderado, mulher de 4 a 7 doses/semana e homem de 4 a 14 doses/semana. Dados apresentados em média ± desvio padrão e porcentual. (1) Nível descritivo de probabilidade do teste t de Student. (2) Nível descritivo de probabilidade do teste qui-quadrado. (3) Nível descritivo de probabilidade do teste exato de Fisher.

4.3 Fármacos utilizados no momento da inclusão

Nos dois grupos, o AAS foi o fármaco mais prescrito, seguido de betabloqueador. A estatina foi prescrita para 13 (65 %) pacientes com AE e 14 (70 %) com AI.

O grupo AI apresentou maior percentual de uso de nitratos, 16 (80 %) vs. AE, cinco (25 %), com significância estatística ($p < 0,001$) (tabela 2).

Tabela 2 - Fármacos utilizados pelos pacientes no momento da inclusão no estudo

Fármacos	Angina		p*
	Estável (n=20)	Instável (n=20)	
AAS	18 (90 %)	18 (90 %)	1,000
BCC	4 (20 %)	6 (30 %)	0,465
Betabloqueador	14 (70 %)	14 (70 %)	1,000
BRA	5 (25 %)	6 (30 %)	0,723
Clopidogrel	7 (35 %)	9 (45 %)	0,519
Diurético	6 (30 %)	4 (20 %)	0,465
Estatina	13 (65 %)	14 (70 %)	0,736
IECA	7 (35 %)	10 (50 %)	0,337
Nitrato	5 (25 %)	16 (80 %)	<0,001

NOTA: AAS, indica ácido acetilsalicílico; BCC, bloqueador do canal de cálcio; BRA, bloqueador do receptor de angiotensina e IECA, inibidor da enzima conversora de angiotensina.

(*) Nível descritivo de probabilidade do teste qui-quadrado.

O maior percentual de casos com nitratos no grupo AI foi justificado em função da maior intensidade e frequência da angina pectoris nesse grupo.

4.4 Dados laboratoriais

Com relação aos dados laboratoriais, não se observou diferença significativa entre os pacientes com AE e AI, nesses parâmetros (Tabela 3).

Tabela 3 - Dados laboratoriais basais em veia periférica nos pacientes com angina estável e instável

Variável	Angina		p
	Estável (n=20)	Instável (n=20)	
Creatinina (mg/dL)	1,12 ± 0,16	1,13 ± 0,19	0,799 ⁽¹⁾
Hemoglobina (g/dL)	13,95 ± 1,30	14,29 ± 1,19	0,387 ⁽¹⁾
TSH (μU/L)	2,51 ± 1,45	2,20 ± 1,37	0,480 ⁽¹⁾
ALT (UL)	26,50 ± 15,74	25,70 ± 14,51	0,868 ⁽¹⁾
Troponina (μg/L)	0,003 ± 0,006	0,004 ± 0,004	0,169 ⁽²⁾
Glicose (mg/dL)	93,45 ± 11,45	97,30 ± 9,18	0,248 ⁽¹⁾

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio padrão.

(1) Nível descritivo de probabilidade do teste t de Student.

(2) Nível descritivo de probabilidade do teste não paramétrico de Mann-Whitney.

4.5 Dados angiográficos

Nos 40 pacientes que participaram do estudo, avaliou-se a angiografia coronária, identificando-se lesões obstrutivas ≥ 70 % da luz de uma artéria coronária principal e distribuição dessas lesões quanto ao número e artéria comprometida, de acordo com o tipo de angina. Observou-se que os pacientes com AE e AI, não apresentaram diferenças significativas, em relação a essas variáveis (tabela 4).

Tabela 4 - Distribuição das lesões coronárias quanto ao número e artéria comprometida, de acordo com o tipo de angina

Variável	Categoria	Angina		p [*]
		Estável (n=20)	Instável (n=20)	
Arterial	Uni	9 (45 %)	5 (25 %)	0,437
	Bi	7 (35 %)	10 (50 %)	
	Tri	4 (20 %)	5 (25 %)	
Uniarterial	CD	3 (15 %)	2 (10 %)	0,800
	DA	4 (20 %)	1 (5 %)	
	CX	2 (10 %)	2 (10 %)	

NOTA: Dados apresentados em porcentual.

(*) Nível descritivo de probabilidade do teste exato de Fisher.

4.6 Proteína C-reativa de alta sensibilidade

Avaliaram-se as médias dos níveis séricos de PCR-as nos dois tipos de angina, tanto em VPAAE como em SC, relacionado à angina estável e instável e a comparação entre essas médias não apresentou diferença significativa em VPAAE nos pacientes com AE ($2,97 \pm 2,66$, log $0,53 \pm 1,24$) ou AI ($3,04 \pm 3,29$, log $0,67 \pm 0,94$) ($p = 0,689$). Da mesma forma a comparação no SC nos pacientes com AE ($2,71 \pm 2,46$, log $0,46 \pm 1,18$) ou com AI ($2,65 \pm 3,08$, log $0,41 \pm 0,97$) ($p = 0,898$) também, não mostrou diferença significativa (tabela 5).

Tabela 5 - Níveis de PCR-as (mg/L) em VPAAE e SC na angina estável e instável

PCR-as	Angina		p*
	Estável (n = 20)	Instável (n = 20)	
VPAAE	2,97 ± 2,66	3,04 ± 3,29	
log	0,53 ± 1,24	0,67 ± 0,94	0,689
SC	2,71 ± 2,46	2,65 ± 3,08	
log	0,46 ± 1,18	0,41 ± 0,97	0,898

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio padrão e transformação logarítmica (log).

(*) nível descritivo de probabilidade do teste t de Student.

Os pacientes foram avaliados no que diz respeito à interação entre os dois tipos de angina e uso de nitratos nos valores da PCR-as, e os dados estão descritos na tabela 6.

Tabela 6 - Níveis de PCR-as (mg/L) na VPAE e SC em pacientes com e sem uso de nitrato na angina estável e instável

PCR-as	Angina			
	Estável (n = 20)		Instável (n = 20)	
	Com Nitrato	Sem Nitrato	Com Nitrato	Sem Nitrato
VPAE	3,11 ± 2,35	2,93 ± 2,83	3,13 ± 3,61	2,68 ± 1,83
log	0,82 ± 0,96	0,44 ± 1,33	0,65 ± 0,99	0,77 ± 0,78
SC	2,84 ± 2,33	2,67 ± 2,58	2,72 ± 3,39	2,35 ± 1,54
log	0,72 ± 0,93	0,39 ± 1,27	0,47 ± 1,04	0,66 ± 0,75

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio padrão e transformação logarítmica (log).

ANOVA - VPAE: Interação: p = 0,559; Nitrato: p = 0,762; Angina: p = 0,850.

ANOVA - SC: Interação: p = 0,532; Nitrato: p = 0,856; Angina: p = 0,971.

Também, foram analisados os níveis de PCR-as nos dois tipos de angina, tanto em VPAE quanto em SC, considerando os pacientes uni e multiarteriais; dados apresentados na tabela 7.

Tabela 7 - Níveis de PCR-as (mg/L) em VPAAE e SC, de acordo com o número de artérias comprometidas na angina estável e instável

Variável	Nº de Vasos	Angina	
		Estável (n = 20)	Instável (n =20)
PCR-as VPAAE	Uniarterial	3,28 ± 2,96	3,03 ± 3,64
	log	0,65 ± 1,26	0,53 ± 1,19
	Biarterial	2,46 ± 2,38	2,83 ± 3,81
	log	0,44 ± 1,09	0,57 ± 0,92
	Triarterial	2,78 ± 2,67	3,47 ± 2,29
	log	0,34 ± 1,65	1,01 ± 0,81
PCR-as SC	Uniarterial	2,95 ± 2,75	2,49 ± 3,01
	log	0,57 ± 1,17	0,26 ± 1,33
	Biarterial	2,26 ± 2,14	2,62 ± 3,86
	log	0,38 ± 1,06	0,44 ± 0,94
	Triarterial	2,63 ± 2,56	2,85 ± 1,55
	log	0,29 ± 1,63	0,89 ± 0,65

NOTA: Dados apresentados em média ± desvio padrão e transformação logarítmica (log).

ANOVA – VPAAE: Interação: p = 0,399; Nº de Vasos: p = 0,871; Angina: p = 0,522.

ANOVA – SC: Interação: p = 0,324; Nº de Vasos: p = 0,709; Angina: p = 0,375.

Analisaram-se os pacientes quanto ao risco futuro de IAM ou AVC, de acordo com os níveis de PCR-as em VPAAE e tipo de angina, segundo os critérios estabelecidos pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças, e Associação Americana de Cardiologia⁸⁹. Com relação à distribuição dos pacientes quanto a esse risco, não se demonstrou diferença significativa entre os tipos de angina (AE e AI), estando os dados descritos na tabela 8.

Tabela 8 - Distribuição dos pacientes expressa em porcentual, de acordo com o tipo de angina e classificação de risco, baseado nos níveis de PCR-as (mg/L)[#]

PCR-as VPAE	Angina		p*
	Estável (n = 20)	Instável (n = 20)	
< 1	7 (35 %)	5 (25 %)	
1 – 3	5 (25 %)	8 (40 %)	0,579
> 3	8 (40 %)	7 (35 %)	

(#) De acordo com Centro de Controle e Prevenção de Doenças e Associação Americana de Cardiologia.

(*) nível descritivo de probabilidade do teste qui-quadrado.

Para atender aos questionamentos do objetivo principal deste estudo, procedeu-se a análise de correlação entre os níveis séricos absolutos de PCR-as em VPAE vs. SC, nos pacientes portadores de DAC com diagnóstico de angina estável e instável. Essa análise mostrou uma forte correlação linear para AE ($r = 0,993$, $p < 0,001$; figura 7) e AI ($r = 0,976$, $p < 0,001$; figura 8).

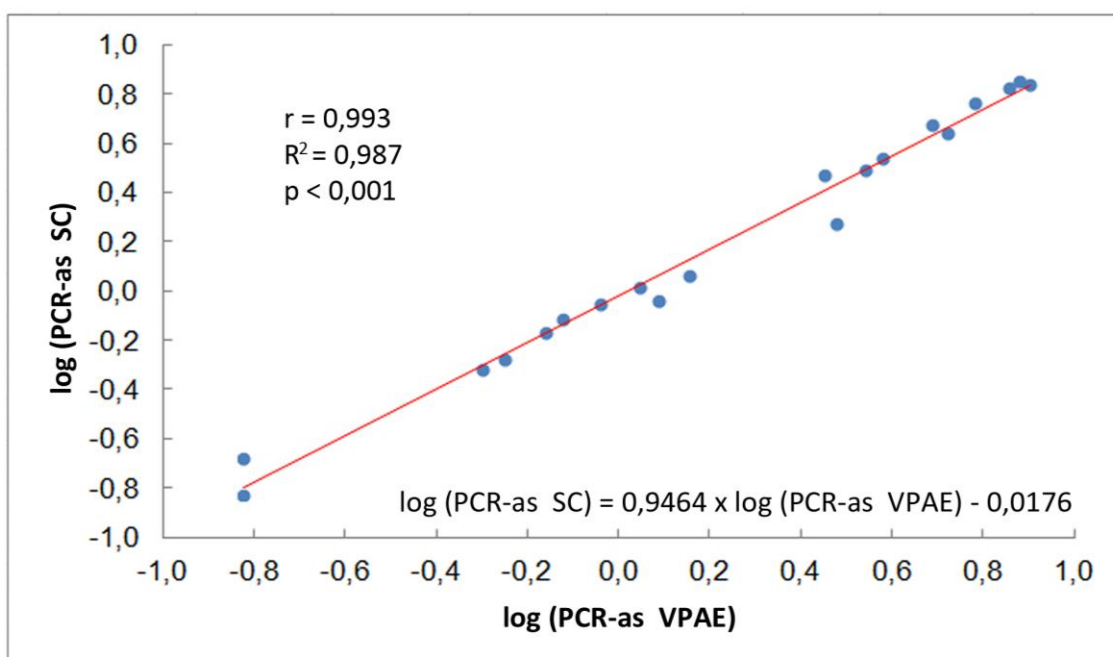


Figura 7 - Correlação linear entre os logaritmos dos níveis séricos absolutos de PCR-as (mg/L) na VPAAE vs. SC na angina estável.

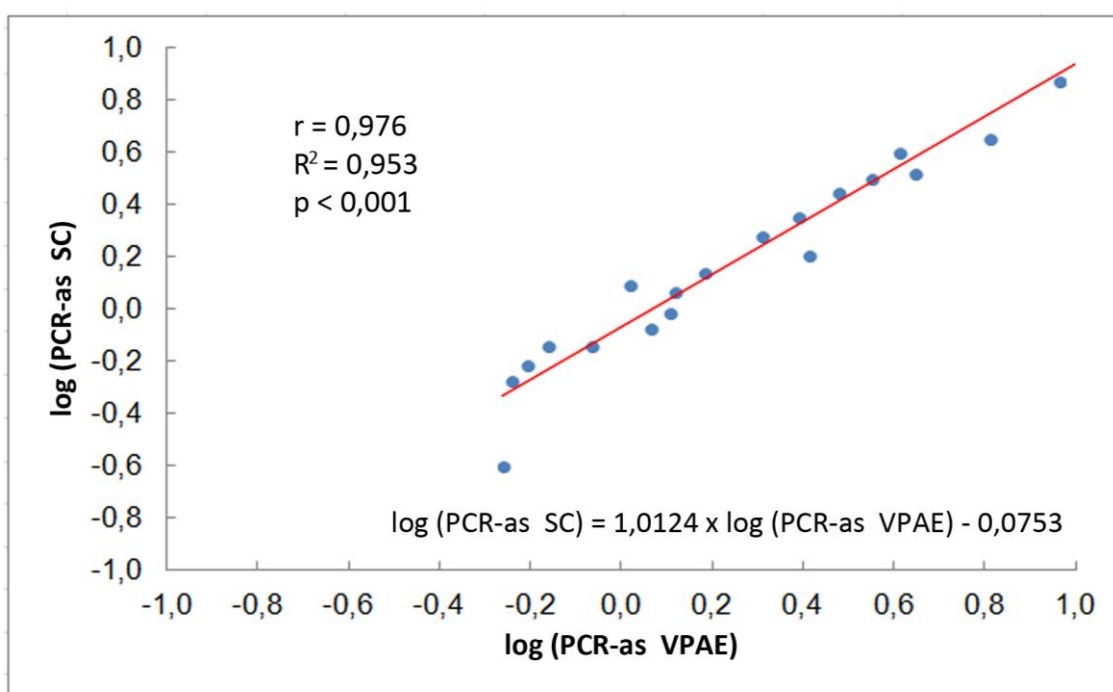


Figura 8 - Correlação linear entre os logaritmos dos níveis séricos absolutos de PCR-as (mg/L) na VPAAE vs. SC na angina instável.

Considerando que não houve diferença significativa do ponto de vista estatístico entre os pacientes com AE e AI (características basais, medicações, uni e multiarteriais, médias dos níveis de PCR-as em VPAAE e SC), analisaram-se os pacientes como um todo e a forte correlação evidenciada separadamente manteve-se ($r = 0,985$, $p < 0,001$; figura 9).

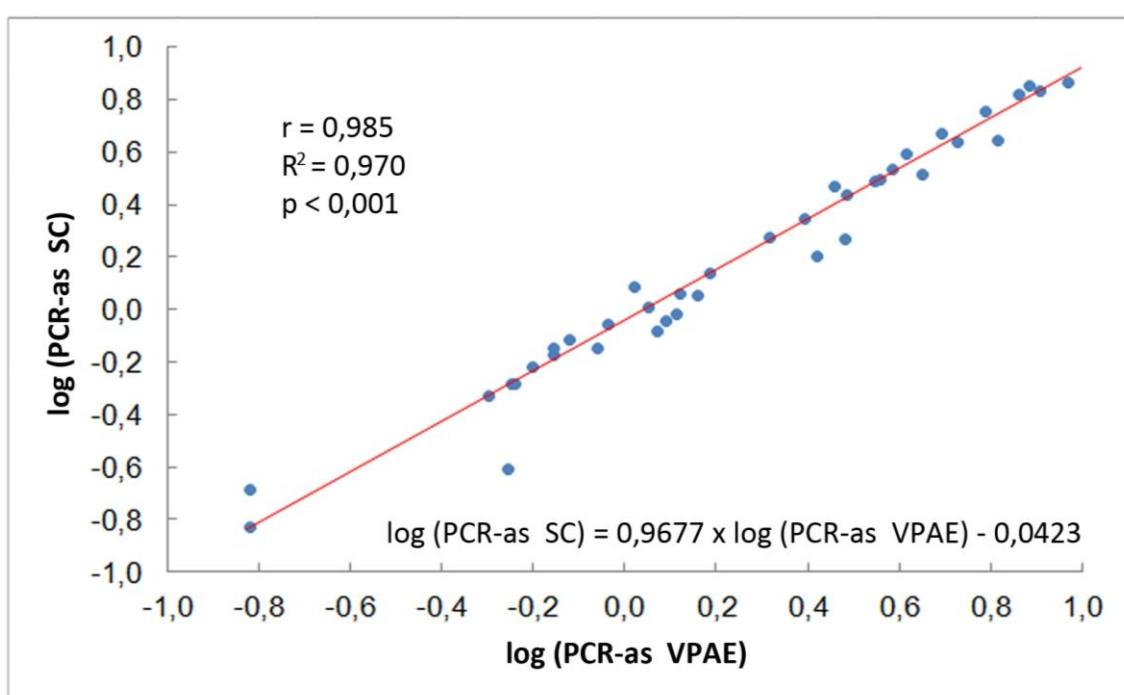


Figura 9 - Correlação linear entre os logaritmos dos níveis séricos absolutos de PCR-as (mg/L) na VPAAE vs. SC na angina pectoris (estável e instável), considerando-se a totalidade da amostra.

5 DISCUSSÃO

O reconhecimento de que a aterosclerose é uma doença inflamatória crônica, com patogênese complexa e autoimune^{15, 16}, mobiliza pesquisadores em busca de um marcador ou preditor de risco de doença cardiovascular ideal. A PCR-as é utilizada na prática clínica e em vários estudos^{35, 37, 38, 52, 78, 81, 82, 84, 89}, com este propósito.

Entretanto, seu significado prognóstico, bem como seu papel como marcador ou preditor de risco coronário são discutíveis. Sposito et al.¹¹⁰ não encontram boa sensibilidade da PCR sérica para detecção de inflamação nos pacientes com IAMCSST. Chegam a ter valor < 1,0 mg/L em 70 % desses pacientes.

A PCR apesar de que seja um marcador inflamatório estabelecido desde 1930²⁷, parece ser também, inespecífico; embora, o fato de ser inespecífico não diminua sua importância³⁹. Porém, os níveis de PCR devem ser sempre utilizados e interpretados com base nos dados clínicos dos pacientes, tal qual a temperatura, um parâmetro igualmente inespecífico, mas de grande utilidade clínica³⁹.

No nosso estudo avaliaram-se os níveis séricos absolutos de PCR-as em VPAE e SC, em pacientes portadores de DAC aterosclerótica com AE e AI, buscando-se uma correlação. A nossa suposição era que haveria uma correlação > 70 % entre esses níveis em VPAE vs. SC.

Este estudo, e ao que se sabe é o primeiro da literatura, que analisou a correlação entre os níveis séricos de PCR-as (valores absolutos) em VPAE vs. SC, nos pacientes portadores de DAC com diagnóstico de AE e AI.

Foram excluídos os pacientes que apresentassem processo infeccioso ou inflamatório extracardíaco ou cardíaco, que pudessem elevar os níveis de PCR-as em VPAAE ou SC. Para esse fim, realizou-se anamnese criteriosa, ECG, ECO, exames laboratoriais, com pelo menos uma dosagem de troponina I (por meio da técnica de alta sensibilidade) 12 horas após início dos sintomas, afastando-se necrose miocárdica por IAMSSST, principalmente no grupo de AI.

Na análise das medicações utilizadas pelos pacientes, não se observou diferença significativa nos dois grupos, à exceção dos nitratos. O grupo de pacientes com AI apresentou maior porcentual de casos com nitratos, 16 (80 %) vs. AE, cinco (25 %), com significância estatística, $p < 0,001$. Justificou-se esse fato, em função da maior intensidade e frequência da angina pectoris nos pacientes com AI.

Essa diferença foi testada, e para tanto, avaliou-se possível interferência nos níveis de PCR-as em ambos os grupos. Utilizou-se para tal fim, a ANOVA, pela qual se observou que não houve efeito da interação entre os dois tipos de angina e uso de nitratos nos níveis de PCR-as em VPAAE ($p = 0,559$) e SC ($p = 0,532$) e que não existiu diferença significativa entre os grupos de uso ou não de nitratos em ambas as medidas, VPAAE ($p = 0,762$) e SC ($p = 0,856$).

Observou-se, em nosso estudo, que as médias dos níveis séricos de PCR-as em VPAAE e SC de ambos os grupos, foram acima do normal (considerado < 1 mg/L em 90 % das amostras coletadas de adultos saudáveis e voluntários doadores de sangue¹¹¹), independentemente do sítio de coleta da amostra de sangue ou tipo de angina.

Os dois grupos estavam sob o possível efeito anti-inflamatório atribuído à estatina, que poderia ter aliviado o processo inflamatório, entretanto, na análise

dos fármacos utilizados pelos pacientes nos dois grupos, a estatina não interferiu do ponto de vista estatístico.

De acordo com os nossos dados, a distribuição dos pacientes por tipo de angina e nível de PCR-as em VPAE foi: AE < 1 mg/L, sete (35 %), AI cinco (25 %); AE entre 1 e 3 mg/L, cinco (25 %) e AI oito (40 %) e AE > 3 mg/L, oito (40 %) e AI sete (35 %). Aplicou-se em nossa casuística, os critérios estabelecidos pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças e Associação Americana de Cardiologia⁸⁹, que avaliam os riscos futuros de eventos cardiovasculares baseados nos níveis periféricos de PCR-as, que consideram PCR-as: < 1,0 mg/L, baixo risco; de 1,0 a 3,0 mg/L, moderado risco; > 3,0 mg/L, alto risco, apenas 40 % dos pacientes com AE e 35 % com AI seriam classificados como alto risco, apesar de terem DAC sintomática, com pelos menos uma artéria principal apresentando obstrução luminal ≥ 70 %.

Nos pacientes participantes do nosso estudo encontraram-se valores de PCR-as em VPAE ≥ 1 mg/L em 65 % do grupo AE e 75 % no AI. Esse fato está de acordo com vários autores, que consideram a PCR-as como biomarcador inflamatório na DAC^{14, 38, 89}.

Existem fatores que poderiam se associar ao processo inflamatório, e este pode ser medido de várias formas. Uma delas é a mudança de temperatura na placa aterosclerótica^{85, 112} ou na árvore coronária/miocárdio^{83, 113}, que poderia interferir nos níveis de PCR-as. Have et al.¹¹⁴ e Kim et al.¹¹⁵ chamam atenção para o fato de que a temperatura na placa é dependente de sua geometria, do fluxo na artéria comprometida, da distribuição e atividade metabólica das células inflamatórias; sendo, portanto, assimétrica.

Nós não aferimos a temperatura, mas esperava-se que a inflamação trouxesse repercussão nos níveis de PCR-as no SC⁴¹, uma constatação observada em nosso estudo. No entanto, a análise de nossos dados, obtidos de pacientes com DAC aterosclerótica sintomática e lesão obstrutiva $\geq 70\%$ em pelo menos uma artéria coronária principal e mesmo com AI, que teoricamente teriam processo inflamatório mais ativo e conseqüentemente, maiores níveis de PCR-as em SC que na VPAE, não se observou diferença significativa entre tais níveis, no presente estudo.

Esse fato chamou atenção, porque, se o aumento da temperatura local está associado ao processo inflamatório e este, a elevação da PCR-as⁸³; por que no sangue periférico (VPAE) os valores de PCR-as se mantiveram no mesmo nível que no SC? A meia-vida de PCR no plasma é de 19 horas^{25, 32}. Tendo-se em conta que o fluxo coronário é da ordem de 5 % do débito cardíaco, mesmo em repouso, o incremento adicional da PCR extra-hepática à circulação coronária durante os poucos minutos de trânsito coronário deve ser insignificante.

De acordo com Buffon et al.¹¹⁶ há inflamação coronária generalizada envolvendo o endotélio de diferentes artérias coronárias, independentemente da localização da placa. Por outro lado, é muito importante lembrar que um terço do fluxo do SC se dá a partir da veia posterior, drenando o sangue da artéria coronária direita (ACD)¹¹³. Em nosso estudo tivemos apenas cinco pacientes (três com AE e dois, AI) com obstrução isolada em ACD. Assim, a influência do fluxo de ACD no SC foi muito fraca.

Na análise dos nossos resultados, a comparação entre as médias dos níveis de PCR-as não mostrou diferença significativa em VPAE nos dois tipos

de angina (AE $2,97 \pm 2,66$, log $0,53 \pm 1,24$ vs. AI $3,04 \pm 3,29$, log $0,67 \pm 0,94$ $p = 0,689$). Da mesma forma, tal comparação no SC (AE $2,71 \pm 2,46$, log $0,46 \pm 1,18$ vs. AI $2,65 \pm 3,08$, log $0,41 \pm 0,97$ $p = 0,898$), também, não revelou diferença significativa do ponto de vista estatístico.

Essa análise revelou ainda que nos pacientes portadores DAC com AE ou AI, apesar de não ter havido diferença significativa entre as médias dos níveis séricos de PCR-as em VPAE e no SC, essas médias estavam aumentados em ambas às situações e refletiram o estado inflamatório na árvore coronária.

Wang et al.¹¹⁷ compararam os gradientes dos níveis de PCR-as entre SC - raiz da aorta e veia periférica - raiz da aorta, em pacientes com DAC aguda e crônica (AI e AE). Nessa comparação, relatam que não há diferença em tais gradientes entre as circulações, coronária e sistêmica. Mas, as limitações reconhecidas em seu estudo podem ter prejudicado às análises sobre AI, porque eles não excluíram o IAMSSST por meio da dosagem de troponina I, que pode ser um fator de aumento nos níveis de PCR¹¹⁸. Os autores não fizeram análise de correlação entre os níveis séricos de PCR-as (valores absolutos) em veia periférica vs. central (SC).

No nosso estudo, pelo uso da ANOVA, observou-se que não há efeito da interação entre o tipo de angina e número de artérias comprometidas nos valores de PCR-as, em VPAE ($p = 0,399$) ou SC ($p = 0,324$) e que não houve diferença significativa entre os grupos, quanto ao número de artérias comprometidas em ambas às medidas (VPAE, $p = 0,871$ e SC, $p = 0,709$); levantando-se a hipótese de que a PCR-as pode não diferenciar, pacientes com lesão uni dos multiarteriais, nos grupos AE e AI.

Esse achado está de acordo com vários autores que, também, não observam diferenças entre os níveis de PCR e número de artérias comprometidas^{83, 118, 119-122}.

Porém, Taniguchi et al.¹¹⁹ relatam que na ausência de estatina, há diferença entre os níveis plasmáticos de PCR-as, e essa diferença foi associada com extensão da lesão coronária em pacientes com DAC estável.

Em contrapartida, Memon et al.¹²³ observam associação entre os níveis elevados de PCR- as em veia periférica e extensão da DAC.

No entanto, há relatos de que a correlação entre concentração plasmática de PCR e carga de placa aterosclerótica é pobre e fracamente associada à extensão da aterosclerose em seres humanos⁴¹, opinião compartilhada por outros autores^{124, 125}.

Para responder à pergunta principal do objetivo do presente estudo, realizou-se a análise de correlação entre os níveis séricos absolutos de PCR-as em VP AE vs. SC, na AE e AI, e determinou-se o coeficiente de correlação de Pearson. Os dados desta análise mostraram forte correlação linear, claramente evidenciada pela linha de regressão linear e, não se encontrou nenhuma diferença significativa do ponto de vista estatístico e sim, correlação quase que perfeita, na qual o coeficiente de correlação foi significativo, chegando próximo da unidade, tanto para AE ($r = 0,993$, $p < 0,001$) quanto para AI ($r = 0,976$, $p < 0,001$).

Analisou-se a totalidade da amostra (40 pacientes portadores DAC com diagnóstico de angina pectoris), e os nossos dados sugeriram que a forte correlação evidenciada nos grupos separadamente manteve-se ($r = 0,985$, $p < 0,001$).

Tais fatos poderiam ter implicações futuras em clínica e pesquisa, de modo a evitar técnicas invasivas para coleta de amostra de sangue no SC, até o momento considerado o local ideal para estudos de marcadores inflamatórios e circulação coronária²³, por meio de cateter e como via de acesso, veias: jugular, braquial ou femoral. Pois, este estudo sugeriu uma forte correlação linear entre os níveis séricos absolutos de PCR-as encontrados em VPAAE vs. SC. Com a finalidade de dosar os níveis de PCR-as em SC, bastará acessar uma VPAAE e coletar amostra sanguínea, através de técnica adequada para preservação da amostra.

Com os dados do nosso estudo, ao contrário de outros autores^{23, 117}, constatou-se que os níveis séricos absolutos de PCR-as na VPAAE, refletiram os níveis no SC, portanto, na circulação coronária.

Um fato interessante é que com os dados do presente estudo é possível calcular por meio de três fórmulas, o nível de PCR-as no SC a partir dos dados de uma amostra de sangue coletada em uma VPAAE na AE, AI e angina pectoris como um todo, sem separação entre AE e AI.

Reconhecemos as limitações do nosso estudo e sua aplicabilidade clínica para um grande universo de pacientes, devido a alguns fatores: a) o grande número de critérios de exclusão, b) os pacientes serem encaminhados por seus médicos para angiografia coronária com 100 % de suspeita de DAC ou DAC conhecida e, c) de 100 % dos pacientes receberem pelo menos uma dose de estatina na véspera do exame, uma vez que não se considerou prudente e ético suspender esse fármaco para dosar a PCR, principalmente nos pacientes com AI.

Esses fatos puderam ter contribuído para subestimar os reais níveis de PCR-as, interferindo nas considerações a respeito dos valores absolutos de tais níveis, mas, não na correlação entre esses níveis em VPAAE vs. SC, objetivo principal deste estudo.

6 CONCLUSÕES

1- Os nossos dados sugeriram que nos pacientes portadores de DAC com diagnóstico de AE ou AI, os níveis séricos de PCR-as na VP AE vs. SC apresentaram uma forte correlação linear.

2- Os níveis séricos de PCR-as na VP AE e no SC nos pacientes portadores de DAC com diagnóstico AE e AI foram semelhantes e não revelaram diferentes influências biológicas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. The World Health Organization (WHO) global atlas on cardiovascular disease prevention and control/2011.
www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/atlas_cvd/en/.
2. Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, Braunwald E. Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders: 2012. Chapter 57. p.1210-13.
3. Mansur AP, Favarato D. Mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e na região metropolitana de São Paulo: Atualização 2011. *Arq Bras Cardiol* 2012;99:755-761.
4. Mansur AP, Armaganijan D, Amino JG, Sousa AC, Simão AF, Brito AX, et al. Diretrizes de doença coronariana crônica angina estável. *Arq Bras de Cardiol*. 2004;83:2-43.
5. Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, Braunwald E. Braunwald's Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders: 2012. Chapter 56. p.1178-85.
6. Diamond GA, Staniloff HM, Forrester JS, Pollock BH, Swan HJC. Computer-assisted diagnosis in the noninvasive evaluation of patients with suspected coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 1983;1:444-55.
7. Diamond GA. A clinically relevant classification of chest discomfort [letter]. *J Am Coll Cardiol*. 1983;1:574-5.
8. Fihn SD, Gardin JM, Abrams J, Berra K, Blankenship JC, Dallas AP, et al. 2012 ACCF/AHA/ACP/AATS/PCNA/SCAI/STS guideline for the diagnosis and management of patients with stable ischemic heart disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association task force on practice guidelines, and the American College of Physicians, American

Association for Thoracic Surgery, Preventive Cardiovascular Nurses Association, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *Circulation*. 2012;126:e354-471.

9. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, et al. ACC/AHA Guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST segment elevation myocardial infarction-2002: Summary article: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (Committee on the management of the patients with unstable angina). *Circulation*. 2002;106:1893-900.

10. Braunwald E, Jones RH, Mark DB, Brown J, Brown L, Cheitlin MD, et al. Diagnosing and managing unstable angina. Agency for Health Care Policy and Research. *Circulation*. 1994;90:613-22.

11. Nicolau JC, Timerman A, Marin-Neto JA, Piegas LS, Barbosa CJDG, Franci A, Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre angina instável e infarto agudo do miocárdio sem Supradesnível do segmento. *Arq Bras Cardiol*. 2014;102(3Supl.1):1-61.

12. Braunwald E. Unstable Angina. A Classification. *Circulation*. 1989;80:410-4.

13. Quadros AS, Souza EN, Maestri R, Albarran C, Gottschall CAM, Leite RS. Avaliação do estado de saúde pelo questionário de angina de Seattle em pacientes com síndrome coronária aguda. *RBCI*. 2011;19:65-71.

14. Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, Braunwald E. Braunwald's Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders: 2012. Chapter 44. p. 914-31.

15. Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:508-19.

16. Rocha VZ, Libby P. Obesity, inflammation and atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol.* 2009;6:399-409.
17. Jan M, Meng S, Chen NC, Mai J, Wang H, Yang XF. Inflammatory and autoimmune reactions in atherosclerosis and vaccine design Informatics. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:459798.
18. Carvalho BM, Guadagnini D, Tsukumo DM, Schenka AA, Latuf-Filho P, Vassallo J, et al. Modulation of gut microbiota by antibiotics improves insulin signalling in high-fat fed mice. *Diabetologia.* 2012;55:2823-34.
19. Tsukumo DM, Carvalho BM, Carvalho-Filho MA, Saad MJA. Translational research into gut microbiota: new horizons in obesity treatment. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2009;53:139-44.
20. Mencarelli A, Cipriani S, Renga B, Bruno A, D'Amore C, Distrutti E, et al. VSL#3 resets insulin signaling and protects against NASH and atherosclerosis in a model of genetic dyslipidemia and intestinal inflammation. *PLoS One.* 2012;7:e45425.
21. Fujita Y, Kakino A, Nishimichi N, Yamaguchi S, Sato Y, Machida S, et al. Oxidized LDL receptor LOX-1 binds to C-reactive protein and mediates its vascular effects. *Clin Chem.* 2009;55:285-94.
22. Elliott P, Chambers JC, Zhang W, Clarke R, Hopewell JC, Peden JF, et al. Genetic loci associated with C-reactive protein levels and risk of coronary heart disease. *JAMA.* 2009;302:37-48.
23. Jaumdally R, Varma C, Macfadyen RJ, Lip GYH. Coronary sinus blood sampling: an insight into local cardiac pathophysiology and treatment? *Eur Heart J.* 2007;28:929-40.

24. Fujita Y, Kakino A, Harada-Shiba M, Sato Y, Otsui K, Yoshimoto R, et al. C-reactive protein uptake by macrophage cell line via class-A scavenger receptor. *Clin Chem*. 2010;56:478-81.
25. Paffen E, deMaat MPM. C-reactive protein in atherosclerosis: A causal factor? *Cardiovasc Res*. 2006;71:30-9.
26. Alkamede FE, Gittenberg-de Groot AC, Schiel AE, VanMunsteren JC, Hogers B, van Vliet LS, et al. Intrauterine exposure to maternal atherosclerotic risk factors increases the susceptibility to atherosclerosis in adult life. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:2228-35.
27. Tillett WS and Francis Jr T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med*. 1930;52:561-71.
28. C-reactive protein: From pneumococcal pneumonia to cardiovascular disease risk. The Rockefeller University. Science for the benefit of humanity. Friday, November 23, 2012.
http://centennial.rucare.org/index.php?page=C-Reactive_Protein.
29. Abernethy TJ, Avery OT. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. I. Distribution of the reactive protein in patients' sera and the effect of calcium on the flocculation reaction with C polysaccharide of pneumococcus. *J Exp Med*. 1941;73:173-82.
30. Macleod CM, Avery OT. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. II. Isolation and properties of the reactive protein. *J Exp Med*. 1941;73:183-90.
31. Volanakis JE, Kaplan MH. Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1971;136:612-4.

32. Ridker PM. C-reactive protein: eighty years from discovery to emergence as a major risk marker for cardiovascular disease. *Clin Chem*. 2009;55:209-15.
33. Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. *Am J Epidemiol*. 1996;144:537-47.
34. Lima JCC; Moreira A; Lima D; Correia LCL. Validação da medida de proteína C-reativa de alta sensibilidade (PCR-as) por quimioluminescência para estimativa de risco cardiovascular em indivíduos ambulatoriais: análise comparativa com nefelometria. *J Bras Patol Med Lab*. 2005;41:15-9.
35. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997;336:973-9.
36. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem*. 1999;45:2136-41.
37. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2002;347:1557-65.
38. Ridker PM: Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003;107:363-9.
39. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003;111:1805-12.
40. Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure*. 1999;7:169-77.

41. Fay WP. Linking inflammation and thrombosis: Role of C-reactive protein. *World J Cardiol.* 2010;2:365-69.
42. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. *J Biol Chem.* 2004; 297:48487-90.
43. Yasojima K, Schwab C, McGeer EG, McGeer PL. Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol.* 2001;158:1039-51.
44. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J.* 1990;265:621-36.
45. Castell JV, Gómez-Lechón MJ, David M, Fabra R, Trullenque R, Heinrich PC. Acute-phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. *Hepatology.* 1990;12:1179-86.
46. Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005 May;288(5):H2031-H2041.
47. Gomes F, Telo DF, Souza HP, Nicolau JC, Halpern A, Serrano Jr CV. Obesity and coronary artery disease: role of vascular inflammation. *Arq Bras Cardiol.* 2010;94:273-9.
48. Bergman R, Mittelman S. Central role of the adipocyte in insulin resistance. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 1998;9:205-21.
49. Peyrin-Biroulet L, Gonzalez F, Dubuquoy L, Rousseaux C, Dubuquoy C, Decourcelle C, et al. Mesenteric fat as a source of C reactive protein and as a target for bacterial translocation in Crohn's disease. *GUT.* 2012;61:78-85.
50. Ramadan MM, Kodama M, Mitsuma W, Ito M, Kashimura T, Ikrar T, et al. Impact of percutaneous coronary intervention on the levels of interleukin-6 and

C-reactive protein in the coronary circulation of subjects with coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 2006;98:915-7.

51. Wilson AM, Swan JD, Ding H, Zhang Y, Whitbourn RJ, Gurry J, et al. Widespread vascular production of C-reactive protein (CRP) and a relationship between serum CRP, plaque CRP and intimal hypertrophy. *Atherosclerosis.* 2007;191:175-81.

52. Inoue T, Kato T, Uchida T, Sakuma M, Nakajima A, Shibazaki M, et al. Local release of C-reactive protein from vulnerable plaque or coronary arterial wall injured by stenting. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:239-45.

53. Singh P, Hoffmann M, Wolk R, Shamsuzzaman ASM, Somers VK. Leptin induces C-reactive protein expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:e302–e307.

54. Calabró P, Willerson JT, Yeh ETH. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation.* 2003;108:1930-2.

55. Denes A, Lopez-Castejon G, Brough D. Caspase-1: is IL-1 just the tip of the Iceberg? *Cell Death Dis.* 2012;3:e338.

56. Yu HB and Finlay BB. The Caspase-1 Inflammasome: A Pilot of innate immune responses. *Cell Host & Microbe.* 2008;4:198-208.

57. Schroder K, Tschopp J. The Inflammasomes. *Cell.* 2010;140:821-32.

58. Fearon WF, Fearon TD. Inflammation and cardiovascular disease: role of the interleukin-1 receptor antagonist. *Circulation.* 2008;117:2577-9.

59. Duewell P, Kono H, Rayner KJ, Sirois CM, Vladimer G, Bauernfeind FG, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature.* 2010;464:1357-61.

60. Rajamaki K, Lappalainen J, Oomi K, Valimaki E, Matikainen S, Kovanem PT, et al. Cholesterol crystals activate the NLRP3 inflammasome in human macrophages: A novel link between cholesterol metabolism and inflammation. *PLoS One*. 2010;5:e11765.
61. Fonseca FAH, Fonseca HAR, Izar MCO. Proteína C-reativa, fosfolipase A₂, interleucina e moléculas de adesão vascular. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*. 2010;20:135-48.
62. Sprague AH, Khalil RA. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. *Biochem Pharmacol*. 2009;78:539-52.
63. Libby P, Ridker PM. Novel inflammatory markers of coronary risk: Theory versus practice. *Circulation*. 1999;100:1148 -50.
64. Castell JV, Gómez-Lechón MJ, David M, Fabra R, Trullenque R, Heinrich PC. Acute-phase response of human hepatocytes: regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6. *Hepatology*. 1990;12:1179-86.
65. Castell JV, Gómez-Lechón MJ, David M, Andus T, Geiger T, Trullenque R, et al. Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes. *FEBS Lett*. 1989;242:237-9.
66. Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-Reactive Protein–Mediated Low Density Lipoprotein Uptake by Macrophages. Implications for Atherosclerosis. *Circulation*. 2001;103:1194-7.
67. Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol*. 2001;38:189-97.
68. Bharadwaj D, Stein M-P, Volzer M, Mold C, Clos TWD. The major receptor for C-reactive protein on leukocytes is Fcγ receptor II. *J Exp Med*. 1999;190:585-90.

69. Shrive AK, Cheetham GM, Holden D, Myles DA, Turnell WG, Volanakis JE, et al. Three dimensional structure of human C-reactive protein. *Nat Struct Biol.* 1996;3:346-54.
70. Pascari V, Willerson JT, Yeh ETH. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation.* 2000;102:2165-68.
71. Chang MK, Binder CJ, Torzewski M, and Witztum JL. C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: Phosphorylcholine of oxidized phospholipids. *Proc Natl Acad Sci. U S A.* 2002;99:13043-48.
72. Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation.* 2002;106:1439-41.
73. Lemieux I, Pascot A, Prud'homme D, Alméras N, Bogaty P, Nadeau A, et al. Elevated C-reactive protein: another component of the atherothrombotic profile of abdominal obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:961-7.
74. Khreiss T, József L, Potempa LA, Filep JG. Loss of pentameric symmetry in C-reactive protein induces interleukin-8 secretion through peroxynitrite signaling in human neutrophils. *Circ Res.* 2005;97:690-97.
75. Molins B, Peña E, de la Torre R, Badimon L. Monomeric C-reactive protein is prothrombotic and dissociates from circulating pentamérica C-reactive protein on adhered activated platelets under flow. *Cardiovasc Res.* 2011.92:328-37.
76. Monteiro CMC e Fonseca FAH. Atherosclerosis and Inflammation. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo.* 2006;3:187-92.
77. Ji SR, Wu Y, Zhu L, Potempa LA, Sheng FL, Lu W, Zhao J. Cell membranes and liposomes dissociate C-reactive protein (CRP) to form a new,

biologically active structural intermediate: mCRP_m. *The FASEB Journal*. 2007; 21:284-94.

78. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*. 2000;342:836-43.

79. Sattar N, Murray HM, McConnachie A, Blauw GJ, Bollen EL, Buckley BM, et al. C-reactive protein and prediction of coronary heart disease and global vascular events in the Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk (PROSPER). *Circulation*. 2007;115:981-9.

80. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdóttir G, Rumley A, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2004;350:1387-97.

81. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FAH, Genest J, Gotto AMJr, Kastelein JJP, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med*. 2008;359:2195-207.

82. Kim H, Yang DH, Park Y, Han J, Lee H, Kang H, et al. Incremental prognostic value of C-reactive protein and N-terminal proB-type natriuretic peptide in acute coronary syndrome. *Circ J*. 2006;70:1379-84.

83. Toutouzas K, Drakopoulou M, Markou V, Stougianos P, Tsiames E, Tousoulis D, et al. Increased coronary sinus blood temperature: correlation with systemic inflammation. *Eur J Clin Invest*. 2006;36:218-23.

84. Lindahl B, Toss H, Siegbahn A, Venge P, Wallentin AL: Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2000;343:1139-47.

85. Toutouzas K, Drakopoulou M, Markou V, Karabelas I, Vaina S, Vavuranakis M, et al. Correlation of systemic inflammation with local inflammatory activity in non-culprit lesions: beneficial effect of statins. *Int J Cardiol.* 2007;119:368-73.
86. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R, et al. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet.* 2010;375:132-40.
87. Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, Braunwald E. Braunwald's Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders: 2012. Chapter 49. p.1011.
88. Xavier HT, Izar M C, Faria Neto J R, Assad M H, Rocha V Z, Sposito A C, et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.* 2013;101:1-22.
89. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, Criqui M, 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.* 2003;107:499-511.
90. Albert MA, Glynn RJ, Ridker PM: Plasma concentration of C-reactive protein and the calculated Framingham coronary heart disease risk score. *Circulation.* 2003;108:161-165.
91. Helfand et al. Emerging risk factors of coronary heart disease. A Summary of systematic reviews for the U.S. preventive service task force. *Ann Intern Med.* 2009;151:496-507.

92. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Pennells L, Wood AM, White IR, Gao P, et al. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular diseases prediction.

N Engl J Med. 2012; 367:1310-1320.

93. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA.* 2003; 290:2945-51.

94. Blake GJ, Rifai N, Buring JE and Ridker PM. Blood pressure, C-reactive protein, and risk of future cardiovascular events. *Circulation.* 2003;108:2993-9.

95. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: An 8-year follow-up of 14 719 initially healthy american women. *Circulation.* 2003;107:391-7.

96. Sattar N, Gaw A, Scherbakova O, Ford I, O'Reilly DSJ, Haffner SM, et al. Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study . *Circulation.* 2003;108:414-9.

97. Lloyd-Jones DM, Liu K, Tian L; Greenland P. Narrative Review: Assessment of C-reactive protein in Risk Prediction for Cardiovascular Disease. *Ann Intern Med.* 2006;145:35-42.

98. Zacho J, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, Grande P, Sillensen H, Nordestgaard BG, et al. Genetically elevated C-reactive protein and ischemic vascular disease. *N Engl J Med.* 2008;359:1897-908.

99. Wensley F, Gao P, Burgess S, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Shah T, et al. Association between C-reactive protein and coronary heart disease: mendelian randomisation analysis based on individual participant data. *BMJ.* 2011; 342:d548.

100. Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, Price N, Dinges DF, Mullington JM. Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. *Clin Chem*. 2001;47:426-30.
101. Pastore CA, Pinho C, Germiniani H, Samesima N, Mano R, et al. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Análise e Emissão de Laudos Eletrocardiográficos. *Arq Bras de Cardiol*. 2009;93:1-19.
102. Ciampi Q, Villari B. Role of echocardiography in diagnosis and risk stratification in heart failure with left ventricular systolic dysfunction. *Cardiovascular Ultrasound*. 2007;5:34.
103. Barbosa MM, Nunes MCP, Campos Filho O, Camarozano A, Rabischoffsky A, Maciel BC, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretrizes das indicações da ecocardiografia. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93:e265-e302.
104. Lang RM, Bierig M, Devereaux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Chamber Quantification Writing Group; American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee; European Association of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18:1440-63.
105. Judkins MP. Selective coronary arteriography. I. A percutaneous transfemoral technic. *Radiology*. 1967;89:815-24.

106. Campeau L. Percutaneous radial artery approach for coronary angiography. *Cathet Cardiovasc Diagn.* 1989;16:3-7.
107. Costa Neto, P.L.O. Estatística. Editora Edgard Blucher Ltda: 1997. Cap. 8. p. 187.
108. Rosner B. Fundamentals of Biostatistics. 2nd ed. Boston: PWS Publishers: 1986.
109. Pagano M, Gauvreau. Princípios de Bioestatística. São Paulo: Cengage Learning: 2010. ISBN: 85-221-0344-5.
110. Sposito AC, Alvarenga BF, Alexandre AS, Araujo ALR, Santos SN, Andrade JM, et al. Most of the patients presenting myocardial infarction would not be eligible for intensive lipid-lowering based on clinical algorithms or plasma C-reactive protein. *Atherosclerosis.* 2011;214:148-50.
111. Shine B, de Beer FC, Pepys. Solid phase radioimmunoassays for human C-reactive protein. *Clin Chim Acta.* 1981;117:13-23.
112. Toutouzas K, Drakopoulou M, Mitropoulos J, Tsiamis E, Vaina S, Vavuranakis M, et al. Elevated plaque temperature in non-culprit atheromatous lesions of patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47:301-6.
113. Ganz W, Tamura K, Marcus HS, Donoso R, Yoshida S, and Swan HJC. Measurement of coronary sinus blood flow by continuous thermodilution in man. *Circulation.* 1971;44:181-95.
114. Have AG, Gijzen FJH, Wentzel JJ, Slager CJ, Steen AFW. Temperature distribution in atherosclerotic coronary arteries: influence of plaque geometry and flow (a numerical study). *Phys Med Biol.* 2004;49:4447.

115. Kim T, Ley O. Numerical analysis of the cooling effect of blood over inflamed atherosclerotic plaque. *J Biomech Eng.* 2008;130:031013.
116. Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G, D'Onofrio J, Crea F, and Maseri A. Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med.* 2002;347:5-12.
117. Wang Y, Li L, Tan HW, Yu GS, Ma ZY, Zhao YX, et al. Transcoronary concentration gradient of sCD40L and hsCRP in patients with coronary heart disease. *Clin Cardiol.* 2007;30:86-91.
118. Cusack MR, Marber MS, Lambiase PD, Bucknall CA, Redwood SR. Systemic inflammation in unstable angina is the result of myocardial necrosis. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:1917-23.
119. Taniguchi H, Momiyama Y, Ohmori R, Yonemura A, Yamashita T, Tamai S, et al. Associations of plasma C-reactive protein levels with the presence and extent of coronary stenosis in patients with stable coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2005;178:173-7.
120. Matsubara T, Ishibashi T, Hori T, Ozaki K, Mezaki T, Tsuchida K, et al. Association between coronary endothelial dysfunction and local inflammation of atherosclerotic coronary arteries. *Mol Cell Biochem.* 2003;249:67-73.
121. Mezaki T, Matsubara T, Hori T, Higuchi K, Nakamura A, Nakagawa I, et al. Plasma levels of soluble thrombomodulin, C-reactive protein, and serum amyloid A protein in the atherosclerotic coronary circulation. *Jpn Heart J.* 2003;44:601-12.
122. Kincl V, Panovsky R, Meluzin J, Semenka J, Groch L, Tomcikova D, et al. Association between laboratory markers and presence of coronary artery

disease. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2010;154:227-34.

123. Memon L, Spasojevic-Kalimanovska V, Bogavac-Stanojevic N, Kalimanovska-Ostic D, Jelic-Ivanovic Z, Spasic S. Association of C-reactive protein with the presence and extent of angiographically verified coronary artery disease. *Tohoku J Exp Med.* 2006;209,197-206.

124. Zebrack JS, Muhlestein JB, Horne BD, Anderson JL. C-reactive protein and angiographic coronary artery disease: Independent and additive predictors of risk in subjects with angina. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:632-7.

125. Khera A, de Lemos JA, Peshock RM, Lo HS, Stanek HG, Murphy SA, et al. Relationship between C-reactive protein and subclinical atherosclerosis: the Dallas Heart Study. *Circulation.* 2006;113:38-43.