

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



**Doença Aterosclerótica
Prevenção e Terapêutica**

Rita Isabel da Fonseca Adrião

Monografia orientada pela Professora Doutora Maria Cristina Crespo Marques,
Professora Auxiliar.

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2023

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



**Doença Aterosclerótica
Prevenção e Terapêutica**

Rita Isabel da Fonseca Adrião

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas apresentado à
Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Maria Cristina Crespo Marques,
Professora Auxiliar.

2023

Resumo

A Doença Aterosclerótica tem aumentado a sua prevalência a nível mundial. É caracterizada pela existência de placas de ateroma nas artérias de maior calibre com início na disfunção endotelial e comprometimento das suas funções fisiológicas, como a tonicidade vascular e integridade vascular. De seguida, uma cascata de eventos resulta na acumulação de lípidos na parede vascular, elementos fibrosos e calcificação com formação de células espumosas. Estas lesões podem afetar artérias de médio a largo calibre, incluindo as artérias coronárias, carótidas, cerebrais e a aorta e os seus ramos. A placa de ateroma e a sua instabilidade pode manifestar-se clinicamente por obstrução do fluxo sanguíneo, levando a isquemia local, disfunção do órgão, ou enfarte.

Os fatores e indicadores de risco principais incluem dislipidemia, fatores metabólicos, doenças genéticas e hipertensão. A avaliação e estimativa do risco cardiovascular individual é o primeiro passo na gestão do risco e das medidas preventivas. A prevenção da doença aterosclerótica baseia-se na gestão dos fatores de risco com intervenção no estilo de vida, dieta, atividade física, tabagismo e terapêutica farmacológica concomitante de comorbilidades de risco cardiovascular.

A terapêutica farmacológica consiste numa abordagem direcionada para gestão do perfil lipídico primeiramente direcionada para a diminuição substancial dos níveis de LDL-C. A terapêutica farmacológica da aterosclerose abrange várias classes anti-dislipidemicas, em particular estatinas, inibidores da absorção do colesterol, sequestradores de ácidos biliares, inibidores da pró-proteína convertase subtilisina quexina tipo 9, possuindo mecanismos de modificação das lipoproteínas. Outros alvos terapêuticos em ensaios clínicos com efeito nas lipoproteínas estão em vista, incluindo uma nova abordagem dos inibidores da PCSK9, ácido bempedóico, angiopoietina-like 3, apolipoproteína C-III e lipoproteína(a). O bloqueio da inflamação aterogénica constitui também um potencial alvo no tratamento da aterosclerose. Agentes terapêuticos imunomoduladores direcionados para estes mecanismos estão a ser estudados e avaliados em ensaios pré-clínicos e clínicos, como canakinumab, xilonix, tocilizumab e IL-2.

Palavras-chave: aterosclerose; LDL-C; fatores de risco; prevenção; terapêutica

Abstract

Atherosclerotic Disease has increased its prevalence worldwide. It is characterized by atheroma plaques initiating in endothelial dysfunction and compromising its physiological functions, including vascular tonicity, and vascular integrity. A waterfall of events follows resulting in lipid accumulation in the arterial wall, fibrous elements, and calcification with foam cells formations. This can affect medium and large calibre arteries, including coronary arteries, carotid, cerebral and the aorta and its branches. The atheroma plaque and its instability together with these processes can manifest itself clinically by obstructing blood flow, causing local ischemia, organ dysfunction, or infarct.

Main indicators and risk factors include dyslipidaemia, metabolic factors, genetic disorders, and hypertension. The evaluation and estimation of total individual cardiovascular risk is the first step in managing risk and prevention measures. Atherosclerosis Disease prevention is based on managing risk factors by lifestyle interventions, diet, physical activity, smoking, and concomitant pharmacological therapy for cardiovascular comorbidities.

Pharmacological therapy consists in a targeted approach for managing the lipid profile focused on lowering LDL-C. Atherosclerosis pharmacological therapy covers several anti-dyslipidaemia classes, in particular statins, cholesterol absorption inhibitors, bile acids sequestrants and proprotein convertase subtilisin kexin type 9, all having lipoproteins modification properties. Other therapeutic targets in clinical trials with effect on lipoproteins are in sight, including a novel approach regarding PCSK9 inhibitors, bempedoic acid, angiopoietin-like 3, apolipoprotein C-III and lipoprotein(a). Blocking atherogenic inflammation is also a potential target in atherosclerosis therapy. Immunomodulatory agents targeting these mechanisms are being studied and evaluated in pre-clinical and clinical trial, as canakinumab, xilonix, tocilizumab and IL-2.

Keywords: atherosclerosis; LDL-C; risk factors; prevention; treatment

Abreviaturas

ACL - Adenosina trifosfato citrato liase

AGPIs - Ácidos gordos polinsaturados

AGS - Ácidos gordos saturados

ANGPTL3 - Angiopietina-like 3

ApoA-1 - Apolipoproteína A-1

ApoB - Apolipoproteína B

ApoB100 - Apolipoproteína B100

ApoC-III - Apolipoproteína C-III

CEs - Células endoteliais

CETP - Proteína de transferência de colesterol esterificado

CK - Creatina cinase

CMLVs - Células musculares lisas vasculares

CT - Colesterol total

CYP450 - Citocromo P450

DHA - Ácido docosahexanóico

DM - Diabetes mellitus

DMI - Diabetes mellitus tipo I

DMII - Diabetes mellitus tipo II

eNOS - Óxido nítrico sintase endotelial

EPA - Ácido eicosapentanóico

GMPc - Monofosfato de guanosina cíclico

HDL - Lipoproteína de alta densidade

HDL-C - Colesterol lipoproteína de alta densidade

HF - Hipercolesterolemia familiar

HFC - Hiperlipidemia familiar combinada

HFHe - Hipercolesterolemia familiar heterozigótica

HFHo - Hipercolesterolemia familiar homozigótica

ICAM-I - Molécula de adesão intercelular-1

IDL - Lipoproteína de densidade intermediária

IG - Índice Glicémico

IL-1 - Interleucina-1

IL-6 - Interleucina-6

ILC2 - Células linfóides inatas tipo 2

LDL - Lipoproteínas de baixa densidade

LDL-C - Colesterol lipoproteínas de baixa densidade

LDL-R - Recetor de lipoproteínas de baixa densidade

Lp(a) - Lipoproteína(a)

LPL - Lipoproteína lipase

lrTGs - Lipoproteínas ricas em TGs

CCL2 - Ligante de quimiocina 2

mRNA - RNA mensageiro

NF-kB - Factor nuclear kappa B

NO - Óxido nítrico

PCR - Proteína C reativa

PCSK9 - Pró-proteína convertase subtilisina quexina tipo 9

PPAR- α - Recetor- α ativado pela proliferação do peroxissoma

ROS - Espécies reativas de oxigénio

siRNA - Moléculas pequenas interferentes de RNA

TCV - Tensões de cisalhamento vasculares

TGs - Triglicéridos

TMAO - N-óxido de trimetilamina

TNF α - Fator de necrose tumoral

Células Treg - Células T reguladoras

VCAM-I - Proteína 1 de adesão celular vascular

VLDL - Lipoproteína de muito baixa densidade

Índice:

1	Introdução.....	11
1.1	Objetivos	12
1.2	Materiais e métodos	12
2	Sistema Arterial.....	13
2.1	Anatomia e Histologia.....	13
2.1.1	Vasos arteriais	16
3	Fisiopatologia da Doença Aterosclerótica.....	17
3.1	Iniciação e Formação da Placa de ateroma	17
3.1.1	Disfunção endotelial.....	17
3.1.1.1	Forças hemodinâmicas	17
3.1.1.2	Redução do óxido nítrico	18
3.1.2	Infiltração das LDL	18
3.1.3	Ativação endotelial.....	19
3.1.4	Recrutamento dos monócitos e formação das células espumosas.....	19
3.2	Desenvolvimento da Placa fibrosa	21
3.2.1	Capa fibrosa.....	21
3.2.2	Núcleo necrótico.....	22
3.2.3	Calcificação da placa.....	22
3.3	Estabilidade da Placa e Rutura	22
3.3.1	Placa vulnerável	22
3.3.2	Rutura da placa e formação do trombo	23
3.3.3	Manifestações e complicações clínicas	23
4	Fatores e indicadores de risco	25
4.1	Não modificáveis.....	25
4.1.1	Idade	25
4.1.2	Doenças genéticas	25
4.1.3	Sexo	26
4.2	Modificáveis.....	27
4.2.1	Tabagismo	27
4.2.2	Níveis lipídicos.....	27
4.2.2.1	Colesterol, lipoproteínas e apolipoproteínas	27
4.2.2.2	Triglicéridos	29
4.2.3	Hipertensão.....	29
4.2.4	Fatores metabólicos.....	29
4.2.5	Inflamatórios	31
4.2.6	Microrganismos.....	32
5	Prevenção remota	34
5.1	Estimar o risco de doença aterosclerótica	34
5.2	Alterações no estilo de vida.....	35
5.2.1	Peso corporal e atividade física	37
5.2.2	Aporte lipídico.....	37
5.2.3	Hidratos de carbono e fibras.....	38
5.2.4	Álcool e tabagismo.....	38
5.3	Intervenção farmacológica	38
6	Terapêutica farmacológica	40
6.1	Modificação das lipoproteínas.....	40
6.1.1	Inibidores da HMG-CoA redutase (Estatinas)	40
6.1.2	Inibidores da absorção do colesterol	41
6.1.3	Sequestradores de ácidos biliares	42

6.1.4	Inibidores da pró-proteína convertase subtilisina quexina tipo 9.....	43
6.1.5	Fibratos.....	44
6.1.6	Ácidos gordos n-3	44
6.1.7	Inibidores da proteína de transferência de colesterol esterificado	45
6.2	Perspetivas futuras e potenciais alvos	45
6.2.1	Modificação das lipoproteínas.....	45
6.2.1.1	Inibidores PCSK9.....	45
6.2.1.2	Ácido bempedóico.....	46
6.2.1.3	Angiopietina-like 3.....	46
6.2.1.4	Apolipoproteína C-III.....	47
6.2.1.5	Lipoproteína(a).....	47
6.2.2	Imunomoduladores.....	48
6.2.2.1	Via NLRP3/IL-1 β	48
6.2.2.2	Seletivos para IL-1 α	49
6.2.2.3	Via IL-6.....	49
6.2.2.4	Células Treg	50
7	Conclusões	52
	Referências Bibliográficas	54

Índice de Figuras:

Figura 1	- Estrutura geral da parede arterial [Criado com BioRender.com]	14
Figura 2	- Efeito da TCV no endotélio vascular [Criado com BioRender.com].....	15
Figura 3	- Formação das células espumosas [Criado com BioRender.com].....	21
Figura 4	- Progressão da aterosclerose e manifestações vasculares [Criado no BioRender.com]	24

Índice de Tabelas:

Tabela 1	- Recomendações alimentares para diminuir os níveis de LDL-C e melhorar o perfil lipídico, adaptado de (54).....	36
----------	--	----

1 Introdução

A Doença aterosclerótica, ou aterosclerose, constitui a causa de morte subjacente a 50% das mortes nos países ocidentais. Nas últimas décadas o panorama da doença cardiovascular nos países desenvolvidos tem mudado, com diminuição de eventos fatais cardiovasculares, no entanto, permanece a causa de morte líder a nível mundial, principalmente na Europa. (1) Em Portugal, a mortalidade relacionada com eventos cardiovasculares representou 29,4% da mortalidade total em 2017. (2)

A aterosclerose desenvolve-se maioritariamente pelo processo contínuo da lesão arterial que resulta na retenção de lípidos na túnica íntima e na sua modificação, que por sua vez agrava o processo inflamatório de áreas vulneráveis das artérias e que possui um papel crucial em todas as fases do mecanismo aterogénico e na sua progressão. Este processo inicia-se na disfunção endotelial e na acumulação de lípidos na parede arterial que evoluem para lesões ateroscleróticas complexas, ou placas de ateroma. Estas podem resultar na oclusão parcial ou total da artéria, e/ou em rutura com libertação do trombo. (3) A doença aterosclerótica é uma doença silenciosa, em parte devido à atenuação dos sintomas por circulação colateral e pela progressão silenciosa do mecanismo aterogénico, só se manifestando clinicamente em estados avançados.

A aterosclerose é uma doença inflamatória crónica das artérias, processo impulsionado pela acumulação de lípidos, em particular lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e partículas remanescentes, acompanhada de processos de inflamação ativa em áreas localizadas das artérias. Regiões das artérias com perturbações do fluxo, em particular zonas de bifurcações apresentam maior propensão para lesões no endotélio que promovem a acumulação de lípidos na parede arterial. (3)

A aterosclerose e o desenvolvimento do processo aterosclerótico podem ser prevenidos. A educação da população na importância da implementação de medidas preventivas no seu quotidiano como atividade física regular, cessação tabágica, manutenção de peso corporal saudável e dieta saudável permanece uma necessidade crucial na gestão do risco de desenvolvimento da doença. (3)

O prognóstico da aterosclerose é favorável em parte devido aos avanços na gestão dos fatores de risco. Através de medidas preventivas e da gestão farmacológica dos fatores de risco, principalmente terapêuticas anti-dislipídicas, anti-hipertensivas e antidiabéticas, é possível gerir o desenvolvimento e progressão da doença aterosclerótica. No entanto, em manifestações

de estados mais avançados da doença o prognóstico piora, em particular após enfarte do miocárdio, acidente vascular isquêmico ou aneurisma. (3)

1.1 Objetivos

Este trabalho tem como objetivo uma revisão bibliográfica geral à fisiopatologia da doença aterosclerótica, e uma revisão das atuais medidas de prevenção e intervenções farmacológicas passíveis de diminuir o risco cardiovascular associado. Adicionalmente, referir e explorar novos alvos terapêuticos em estudo e em ensaios clínicos de fase II e III que têm vindo a mostrar resultados promissores no tratamento da doença aterosclerótica e/ou diminuição de eventos cardiovasculares associados.

1.2 Materiais e métodos

Relativamente a pesquisa científica, a literatura foi consultada e revista em bases de dados como PubMed e Google Académico, de janeiro de 2023 a setembro de 2023. A seleção de artigos foi feita primeiramente em artigos publicados nos últimos cinco anos, não excluindo artigos com informações científicas relevantes mais antigos. A pesquisa foi feita em artigos em inglês, em que as palavras-chave mais utilizadas foram “*Atherosclerosis*”, “*pathophysiology*”, “*prevention*”, “*treatment*”, “*atherogenic inflammation*”, “*cardiovascular risk*”, “*targeting the immune system*”, “*evolving targets*” e “*new perspectives*”.

2 Sistema Arterial

2.1 Anatomia e Histologia

A função do sistema arterial é a distribuição do sangue do coração até ao sistema capilar que irriga todos os órgãos em todo o corpo. A função de bomba do coração produz um fluxo de sangue pulsátil no sistema arterial. Com cada contração do coração, o sangue bombeado causa expansão das paredes arteriais, sendo o tecido elástico o que lhes permite recolher novamente durante a diástole. O recuo das paredes arteriais assiste na manutenção da pressão arterial sanguínea durante a diástole, tornando possível manter a pressão diastólica e auxiliar o movimento direcional do sangue. (4,5).

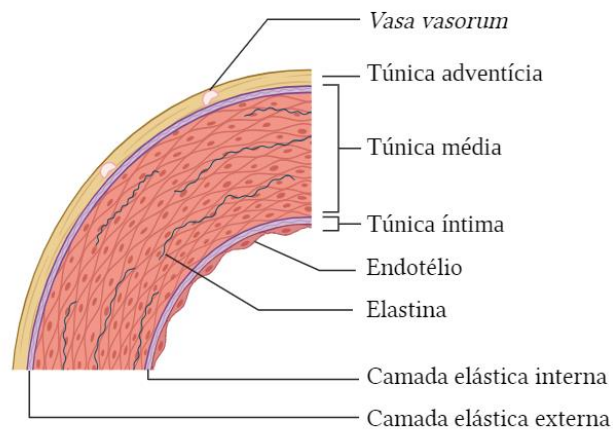
Existem três tipos principais de vasos no sistema arterial: artérias elásticas, artérias musculares e arteríolas. Estes possuem uma transição gradual da sua estrutura e função, não havendo uma demarcação clara. Em geral, a quantidade de elastina diminui à medida que os vasos diminuem de calibre. (5) As paredes dos vasos arteriais correspondem a uma estrutura geral de três camadas. As três camadas básicas da parede vascular são a túnica adventícia, túnica média e túnica íntima.

A túnica adventícia, é a camada mais externa da parede vascular, composta por tecido conjuntivo. Contém colagénio, um componente fundamental, que facilita a fixação do vaso a estruturas e tecidos próximos de apoio. É responsável pela integridade e resistência física perante as forças exercidas na parede. Nela estão contidos *vasa vasorum*, nos vasos de maior calibre, responsável pela irrigação do próprio tecido da parede. (6)

A túnica média é a camada intermédia da parede vascular. É geralmente mais espessa nos vasos arteriais e contém células musculares lisas capazes de alterar o calibre do lúmen vascular. A espessura da túnica média varia muito entre os diferentes tipos de vasos. Contém também lamelas elásticas e é envolta pela camada elástica externa, uma camada de fibras elásticas que separa a túnica média da túnica adventícia. (6)

A túnica íntima é a camada mais interior da parede vascular, está exposta e interage com o sangue. A túnica íntima é essencialmente definida por uma única camada de células endoteliais (CEs) planas. O endotélio está envolto pela lamina basal, ou matriz extracelular, suportada pela camada subendotelial, que é constituída por músculo liso, colagénio, e fibras elásticas que variam na sua espessura. A túnica íntima está envolta pela camada elástica interna, uma camada de fibras elásticas que separa a túnica íntima da média. (6)

Um esquema das três camadas básicas da estrutura geral das paredes arteriais encontra-se na Figura 1.



Created in BioRender.com bio

Figura 1 - Estrutura geral da parede arterial [Criado com BioRender.com]

O endotélio vascular é uma monocamada heterogênea formada por CEs, constituindo a primeira barreira com o lúmen, onde circulam moléculas e células na corrente sanguínea. (7) Está estrategicamente localizado entre a corrente sanguínea e os tecidos, funcionando como um sensor e transdutor de sinais produzindo substâncias biologicamente ativas. (7,8)

A superfície luminal das células endoteliais é anticoagulante e anti-trombogênica, as plaquetas e leucócitos não aderem às CEs e a cascata de coagulação permanece inativada. Em contraste, as macromoléculas da lamina basal sintetizadas pelas CEs são fortemente trombogênicas, e as CEs ativadas promovem a formação de trombos. Assim, as CEs regulam o equilíbrio entre trombose, homeostasia e tromborresistência. (9) Outra função fundamental do endotélio é o controle da transferência de solutos e macromoléculas entre o sangue e os tecidos circundantes, ou permeabilidade basal, e a permeabilidade induzida por inflamação. Os fluidos e solutos atravessam o endotélio por via paracelular, enquanto as macromoléculas atravessam por via transcelular ou paracelular. (9) As CEs estão envolvidas ainda em atividades metabólicas, possuindo a capacidade de ativar numerosos fatores de circulação, com e sem propriedades vasoativas, incluindo hormonas polipeptídicas, amins, nucleótidos, lipoproteínas, metabolitos do ácido araquidónico e espécies reativas de oxigénio (ROS). (9)

Alterações no sangue, incluindo a variação do *stress* mecânico e mudança de concentrações de fatores metabólicos, são detetadas pelo endotélio que medeia a transdução do sinal para as outras camadas da parede vascular. (7,8) O endotélio em particular é alvo das forças de fricção exercidas pela corrente sanguínea. A variação das forças mecânicas sobre a

parede vascular modula variadas funções fisiológicas, como a tonicidade e integridade vascular. As forças principais que atuam na parede arterial são as tensões de cisalhamento vasculares (TCV) induzidas pelo fluxo sanguíneo. (7,10)

As TCV desempenham um papel importante na hemodinâmica aterogénica contribuindo para a manutenção da forma achatada característica das CEs. As alterações podem afetar diretamente a morfologia e função do endotélio vascular, e estimular a migração e proliferação de células musculares lisas vasculares (CMLVs) e células mononucleares. A magnitude e direção da TCV é reconhecida por sensores mecânicos no endotélio, a transdução destes sinais regula a expressão de numerosos genes envolvidos na morfologia celular, adesão e proliferação. (7) Em pontos de bifurcações ou curvaturas vasculares ocorre perturbação do fluxo, passando do fluxo laminar típico das zonas sem ramificação para fluxo turbulento. Como consequência do fluxo turbulento e diminuição da TCV, as CEs aumentam o seu volume alterando a sua morfologia e adquirindo uma forma pavimentosa. (7,8)

Segmentos de vasos com TCV baixa ou variações acentuadas aparentam ter maior risco de desenvolvimento de aterosclerose, contribuindo para um dos seus passos iniciais, a disfunção endotelial (7,11), afetando a instalação e progressão da doença. A Figura 2 esquematiza o efeito da TCV no endotélio vascular.

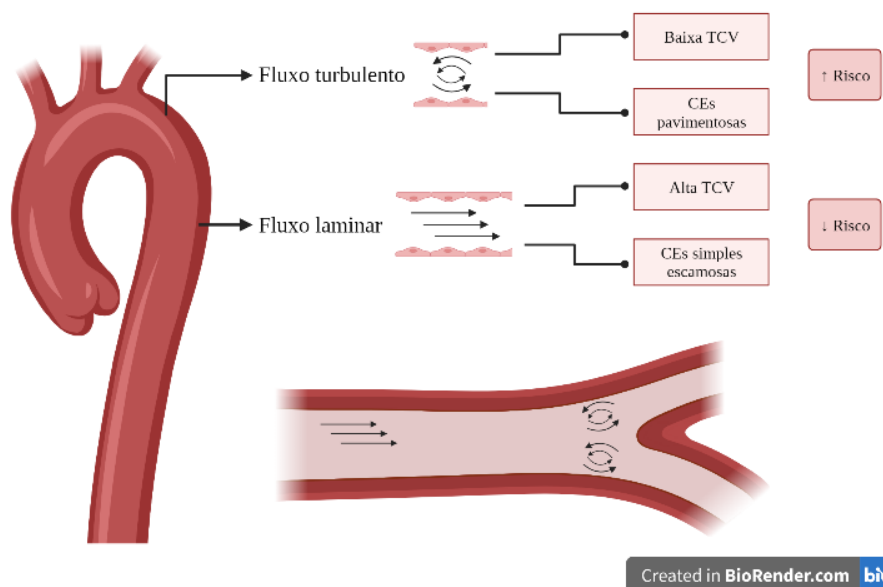


Figura 2 - Efeito da TCV no endotélio vascular [Criado com BioRender.com]

2.1.1 Vasos arteriais

Nas artérias elásticas, a túnica íntima consiste numa camada de CEs suportada por uma camada subendotelial de tecido conjuntivo rico em elastina disposta na forma de fibras e lamelas descontínuas. O tecido subendotelial contém fibroblastos e outros tipos de células com funções estruturais como as células mioíntimas, envolvidas na produção de matriz extracelular. Com o aumento da idade, existe a acumulação de lípidos na túnica íntima, aumentando a sua espessura progressivamente. Este processo proporciona o desenvolvimento da aterosclerose. (5) A túnica média é particularmente ampla e extremamente elástica. Consiste em lamelas fenestradas de elastina separadas por tecido conjuntivo e por fibras de músculo liso. A túnica adventícia rica em colagénio contém pequenos *vasa vasorum* que podem penetrar a camada exterior da túnica média. (5)

O fluxo sanguíneo nas artérias elásticas é altamente pulsátil. Com o avanço da idade, o sistema arterial torna-se menos elástico, diminuindo a complacência e aumentando a resistência e a pressão de pulso. (6)

Nas artérias musculares, o tecido elástico está concentrado em duas camadas elásticas. Uma camada consiste na camada elástica interna entre a túnica íntima e a túnica média; a segunda camada menos proeminente e mais variável é a camada elástica externa entre a túnica média e a túnica adventícia. A túnica íntima é usualmente de espessura muito fina; a túnica média é composta de fibras musculares lisas concêntricas com escassas fibras elásticas entre elas. A túnica adventícia varia na espessura e é composta por colagénio e tecido elástico. Em artérias musculares de maior calibre, esta camada pode conter *vasa vasorum* proeminentes. (5) As artérias elásticas e musculares desenvolvem comumente aterosclerose, com infiltração e acumulação de lípidos na túnica íntima.

Artérias musculares de menor calibre, já com uma fina ou ausente camada elástica externa e menos camadas de músculo liso, originam arteríolas. Esta transição gradual envolve a perda da camada elástica interior e uma redução progressiva do número de fibras musculares na túnica média. A túnica adventícia é fina e mistura-se impercetivelmente com tecido conjuntivo envolvente. (5)

3 Fisiopatologia da Doença Aterosclerótica

3.1 Iniciação e Formação da Placa de ateroma

A aterosclerose inicia-se após disfunção endotelial, acompanhada pela infiltração e retenção de LDL com modificação na túnica íntima. (12) As LDL modificadas juntamente com fatores aterogênicos promovem a ativação das CEs, levando ao recrutamento de monócitos na túnica íntima. Os monócitos diferenciados e CMLVs vão capturar as LDL modificadas, dando origem à formação de células espumosas. (13,14) Paralelamente vários mecanismos inflamatórios são ativados, dando origem à formação da placa de ateroma, que representa o primeiro sinal de aterosclerose. (15)

3.1.1 Disfunção endotelial

Quando as CEs perdem a capacidade de manter as suas funções, há uma predisposição para vasoconstrição, infiltração lipídica, adesão leucocitária, ativação das plaquetas, *stress* oxidativo, entre outros. (16) Em conjunto, estes fatores induzem uma resposta inflamatória que é considerada o primeiro passo para a formação da placa aterosclerótica. (17)

3.1.1.1 Forças hemodinâmicas

As forças hemodinâmicas promovem disfunção endotelial. Como referido anteriormente, as regiões mais propensas a lesões estão localizadas em áreas onde o fluxo laminar é perturbado devido a separação, recirculação ou reconexão (18), criando um fluxo turbulento. Este fluxo turbulento cria oscilações das forças mecânicas exercidas no endotélio e uma TCV diminuída. Estas perturbações físicas sobre a parede vascular levam a uma perturbação da integridade endotelial que favorece a permeabilidade e infiltração de lipoproteínas na túnica íntima. (18)

Por outro lado, as forças hemodinâmicas e os seus estímulos mecânicos regulam a expressão de diversos genes endoteliais. (18,19) Entre estes encontram-se vários genes aterogênicos, como o ligante de quimiocina 2 (CCL2), que induz o aumento da permeabilidade de monócitos na parede vascular (19), e fatores de crescimento plaquetários, que promovem a migração de CMLVs. (20) Adicionalmente, em zonas com fluxo laminar e alta TCV, ocorre a diminuição da expressão de genes aterogênicos, enquanto genes envolvidos nos *checkpoints* do ciclo celular e na capacidade antioxidante celular sofrem um aumento de expressão. (7)

Estas descobertas apoiam a relação entre o padrão de fluxo e a resposta diferencial do endotélio, evidenciando a relevância das forças hemodinâmicas na disfunção endotelial.

3.1.1.2 Redução do óxido nítrico

O óxido nítrico (NO) é sintetizado a partir da L-arginina nas CEs numa reação catalisada pela óxido nítrico sintase endotelial (eNOS). Atravessa as membranas celulares por difusão, alcançando o músculo liso da parede vascular. Aqui, o NO estimula a guanilato ciclase solúvel que catalisa a formação de monofosfato de guanosina cíclico (GMPc) nas CMLVs, promovendo o relaxamento das fibras de músculo liso, conhecido como vasodilatação dependente do endotélio. (7,21)

O NO é considerado uma molécula ateroprotetora por atuar contra as manifestações da aterosclerose. Está envolvida na redução da agregação das plaquetas, adesão vascular, oxidação do tecido e inflamação, ativação de fatores trombogénicos, crescimento celular, proliferação e migração de CMVLs. (21,22) Fatores chave da aterogénese como oxidação das lipoproteínas, ativação endotelial e infiltração e ativação dos macrófagos são também inibidos pelo NO. (23) Por outro lado, também mantém homeostasia metabólica, uma vez que reduz o conteúdo de triglicéridos e aumenta a síntese de insulina e eficiência mitocondrial. (7)

No entanto, na presença de fatores de risco cardiovasculares como dislipidemia, hipertensão, diabetes ou nos fumadores, a produção de NO está diminuída como consequência do *stress* oxidativo aumentado associado a estas patologias. (23) O *stress* oxidativo promove a síntese de fatores aterogénicos, estes mediadores inibem a atividade da eNOS e consequentemente a produção de NO. (7)

Estudos efetuados em doentes hipercolesterolemicos e hipertensos demonstraram uma vasodilatação dependente do endotélio anormal devido a deficiente biodisponibilidade de NO. (24,25)

3.1.2 Infiltração das LDL

A acumulação de LDL no plasma favorece a infiltração transendotelial de LDL circulatório na túnica íntima. O LDL atravessa o endotélio por difusão, por transporte paracelular ou por transcitose, sendo que a última é mediada por recetores específicos que se diferem da endocitose clássica. O endotélio, o glicocálix, os pericitos e a matriz extracelular endotelial e o papel da TCv são fatores a considerar na infiltração das LDL. (7) Uma vez no espaço subendotelial, as partículas de LDL sofrem modificações, podendo ser oxidadas, glicosiladas, acetiladas ou agregadas. (7) O processo mais comum é a oxidação das LDL, processo facilitado pela ausência de antioxidantes plasmáticos. As LDL podem ser oxidadas

por radicais livre presentes na túnica média, e outras moléculas oxidativas. (26,27) Podem ainda ser oxidadas diretamente por atividade enzimática de fosfolipases e lipoxigenases. (28)

A apolipoproteína B100 (apoB100), proteína maioritária das LDL, também sofre diferentes modificações em consequência do ambiente oxidativo. Estas modificações nesta proteína, consoante o seu grau, inibem o reconhecimento das LDL pelo seu recetor celular (LDL-R), aumentando o *uptake* de LDL por recetores não regulados. (29) Estas LDL modificadas contêm lípidos modificados que atuam como moléculas bioativas que adquirem novas atividades, tais como indução da resposta inflamatória nas células. (30)

Uma vez internalizadas pelas células, os produtos derivados da oxidação das LDL induzem a resposta inflamatória.

3.1.3 Ativação endotelial

Com a ativação da expressão de mediadores inflamatórios ao longo do processo de perturbação do endotélio e internalização das LDL ocorre a estimulação do endotélio. Os mediadores inflamatórios podem induzir alteração da tonicidade microvascular, permeabilidade ou diapedese, constituindo a resposta aguda à lesão endotelial, com mudanças funcionais e morfológicas de curto prazo sem síntese de proteínas ou aumento da expressão de genes. (31,32)

No entanto, em resposta a agentes inflamatórios específicos como Interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral (TNF α), endotoxinas, lipoproteínas modificadas e produtos de glicosilação, acompanhado da estimulação das forças mecânicas, o endotélio pode sofrer uma modulação fenotípica. (31) Esta ativação leva a uma complexa resposta inflamatória que se inicia com um aumento da produção de factor nuclear kappa B (NF-kB) nas próprias CEs com aumento de expressão de moléculas de adesão leucocitárias e de mediadores protrombóticos. (7)

3.1.4 Recrutamento dos monócitos e formação das células espumosas

As CEs ativadas induzem recrutamento de monócitos para a túnica íntima. O recrutamento inicia-se com a captação dos monócitos e deslocação pelo endotélio, até aderirem ao endotélio por ligação das integrinas dos monócitos a proteínas específicas das CEs, proteína 1 de adesão celular vascular (VCAM-1) e molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1). (32) Ao se deslocarem pelo endotélio os monócitos são ativados por proteínas superficiais aumentando a sua adesão. (7)

Finalmente os monócitos migram para a túnica íntima. O processo de migração é efetuado por quimiocinas previamente secretadas em resposta a sinais inflamatórios favorecendo a migração transendotelial de monócitos em circulação. Este processo ocorre por via transcelular ou paracelular. (7) Uma vez na túnica íntima os monócitos são diferenciados em macrófagos. Os macrófagos são sensíveis em relação ao seu ambiente, podendo alterar o seu fenótipo entre pro-inflamatório (M1) ou anti-inflamatório (M2) consoante os sinais do ambiente inflamatório. (33) Os macrófagos M1 promovem o recrutamento de macrófagos e propagação da resposta inflamatória, contribuindo para a progressão da lesão aterosclerótica.

Adicionalmente, os macrófagos expressam inúmeros recetores que medeiam a internalização das LDL, modificadas e não modificadas. Dentro dos macrófagos as LDL modificadas são degradadas por processos bioquímicos gerando colesterol livre que é transferido para as HDL, um passo importante na remoção de colesterol dos tecidos periféricos. (34) Este processo é extremamente importante na prevenção de formação de células espumosas na parede arterial. No entanto, em contexto aterosclerótico, o ambiente pro-inflamatório da lesão inibe o sistema de efluxo dos macrófagos e promove a formação de células espumosas e a progressão da lesão. (7) Para além disso, o *uptake* em excesso de LDL pelos macrófagos perpetua a resposta inflamatória, as LDL modificadas induzem cascatas de sinalização que ativam o NF- κ B e mantêm a ativação das CEs, o recrutamento dos monócitos e a consequente formação de células espumosas. (7)

CMLVs localizadas na túnica íntima também têm a capacidade de internalizar LDL modificadas por transportadores não regulados, contribuindo significativamente para a população de células espumosas. (35) As CMLVs da túnica íntima expressam menos proteínas envolvidas no mecanismo de efluxo do colesterol, promovendo a acumulação do colesterol e a formação de células espumosas. (36) Pelo menos 50% das células espumosas na túnica íntima coronária são derivadas de CMLVs, evidenciando a sua significância na progressão da lesão aterosclerótica. (36)

O mecanismo de recrutamento dos monócitos e formação das células espumosas encontra-se representado na Figura 3.

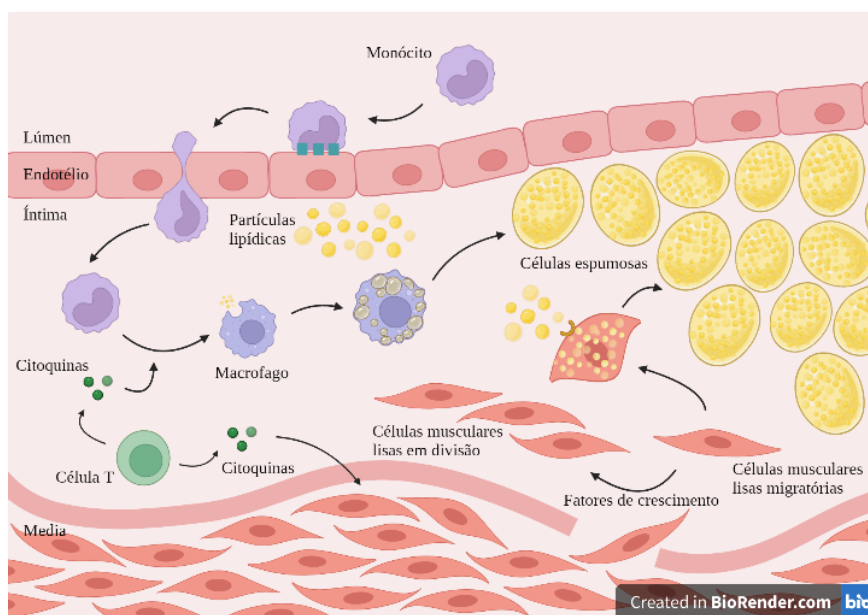


Figura 3 - Formação das células espumosas [Criado com BioRender.com]

3.2 Desenvolvimento da Placa fibrosa

3.2.1 Capa fibrosa

A capa fibrosa é uma barreira subendotelial que separa o lumen vascular da lesão, constituída por CMLVs que migraram para a face luminal e matriz extracelular. Funciona como apoio estrutural para evitar a exposição do material pro-trombótico do núcleo. (37)

Em contexto aterosclerótico, em resposta aos fatores de crescimento produzidos pelas células espumosa ou pelas CE, as CMLVs da túnica média migram para a túnica íntima. Para além disso, a IL-1 produzida pelos macrófagos aumenta a produção endógena de um fator de crescimento produzido pelas CMLVs que quando na túnica íntima, autocrinamente vai estimular a sua proliferação. (38) Em resposta à lesão as CMLVs mudam o seu fenótipo para CMLVs sintéticas com prevalências das atividades de migração, proliferação e produção de componentes da matriz extracelular. (39)

A proliferação de CMLVs e a produção de componentes de matriz celular gera a capa fibrosa que vai cobrir a placa de ateroma em desenvolvimento, envolvendo a lesão e prevenindo a sua rutura. Características como espessura, composição e conteúdo de colagénio são determinantes importantes para a estabilidade da placa. (7)

3.2.2 Núcleo necrótico

O núcleo necrótico constitui o núcleo da placa de ateroma. Consiste numa região hipocelular de elevado conteúdo lipídico com reduzido suporte de colagénio. (40)

Enquanto a placa se vai desenvolvendo, o núcleo necrótico vai aumentando o seu tamanho como resultado de dois fatores, a morte de macrófagos e deficiente eferocitose, processo pelo qual as células a morrer ou já mortas são removidas pelas células fagocíticas. A atividade fagocítica dos macrófagos não consegue responder à acumulação de células apoptóticas, sofrendo morte necrótica secundária com libertação de componentes intracelulares inflamatórios e oxidativos. A eferocitose também se torna deficiente por atividade deficiente de recetores que medeiam o processo, e por inibição do reconhecimento das células apoptóticas pelos recetores eferóticos, causada pelas LDL modificadas. (41)

A acumulação de LDL modificadas e o aumento da inflamação por espécies oxidativas contribui para a formação da placa vulnerável por promoção da apoptose dos macrófagos e deficiente eferocitose causando um aumento do núcleo necrótico. (41) Estes dois eventos contribuem para um ambiente inflamatório, *stress* oxidativo e trombogenicidade, promovendo a morte de células vizinhas e a vulnerabilidade estrutural da placa, com acumulação de morte celular e crescimento do núcleo necrótico. (41)

3.2.3 Calcificação da placa

A calcificação da placa é um marco da aterosclerose avançada. Consiste numa calcificação dentro da placa e é iniciada nas regiões inflamatórias com redução local de colagénio. Placas calcificadas aparentam estar associadas a uma maior estabilidade. (42) As CMLVs e os pericitos alteram o seu fenótipo para osteoblasto-*like* durante o desenvolvimento da placa, adquirindo a capacidade de gerar matriz mineralizada e levar a depósitos de cálcio. (7)

Calcificações de diferentes tamanhos, formas, aglomerações e posições possuem papeis distintos na homeostasia da placa, e o seu impacto depende não só das características de calcificação, mas do ambiente envolvente. (42)

3.3 Estabilidade da Placa e Rutura

3.3.1 Placa vulnerável

Uma placa é considerada vulnerável quando a lesão mostra um núcleo necrótico de grandes dimensões, uma capa fibrosa fina e uma resposta inflamatória aumentada. (43)

O ambiente inflamatório é extremamente relevante para a estabilidade da placa promovendo a instabilidade da capa fibrosa. Quando a inflamação se mantém, a manutenção da capa fibrosa diminui, tornando-a instável e suscetível a ruptura quando exposta às forças hemodinâmicas. (44)

3.3.2 Ruptura da placa e formação do trombo

Quando a placa rompe, o espaço subendotelial é exposto ao sangue, ativando a cascata de coagulação no local da lesão. Ocorre a adesão e ativação das plaquetas e a ativação da cascata de coagulação por elementos pró-trombóticos do núcleo necrótico e do plasma, levando à formação das redes de fibrina que vão constituir o trombo. (45)

A formação do trombo promove a expansão luminal da túnica íntima e da lesão aterosclerótica, provocando o estreitamento luminal do vaso.

3.3.3 Manifestações e complicações clínicas

Como a aterosclerose é uma alteração dos vasos arteriais, pode afetar praticamente qualquer órgão no organismo. É possível detectar placas calcificadas através de radiografias simples e a deformação das paredes vasculares por ecografia e angiografia. No entanto, no geral, a aterosclerose é assintomática até as complicações se desenvolverem. (4)

O desenvolvimento do trombo leva à estabilização da lesão, no entanto, como referido anteriormente, o risco de obstrução do vaso aumenta e há o risco de libertação do trombo. A libertação do trombo da parede vascular dá origem a um coágulo que circula pelo sistema cardiovascular, instalando-se e obstruindo o fluxo sanguíneo, possibilitando isquemia local, disfunção de órgãos, ou enfarte. (46) As manifestações da doença a nível vascular encontram-se representadas na Figura 4.

Em artérias coronárias, a redução do lúmen em mais de 75% causa angina de peito, por deficiente eliminação de metabolitos celulares e da sua acumulação no miocárdio. A dor normalmente desaparece com o repouso. Quando a lesão aterosclerótica causa obstrução total o tecido irrigado pela artéria sofre necrose, provocando o enfarte do miocárdio. (4) Na circulação cerebral, a obstrução das artérias pelas placas provoca acidentes vasculares cerebrais. Na artéria abdominal, lesões extensas podem levar a aneurisma e ruptura do vaso. Nas artérias renais, a diminuição do lúmen do vaso leva a hipertensão renal. Na circulação dos membros inferiores, a insuficiência vascular que se instala pode causar inúmeras doenças arteriais periféricas como claudicação intermitente, aliviada pelo descanso. Se a circulação for severamente afetada a pele pode ulcerar e, em estados mais avançados, levar a gangrena. (4)

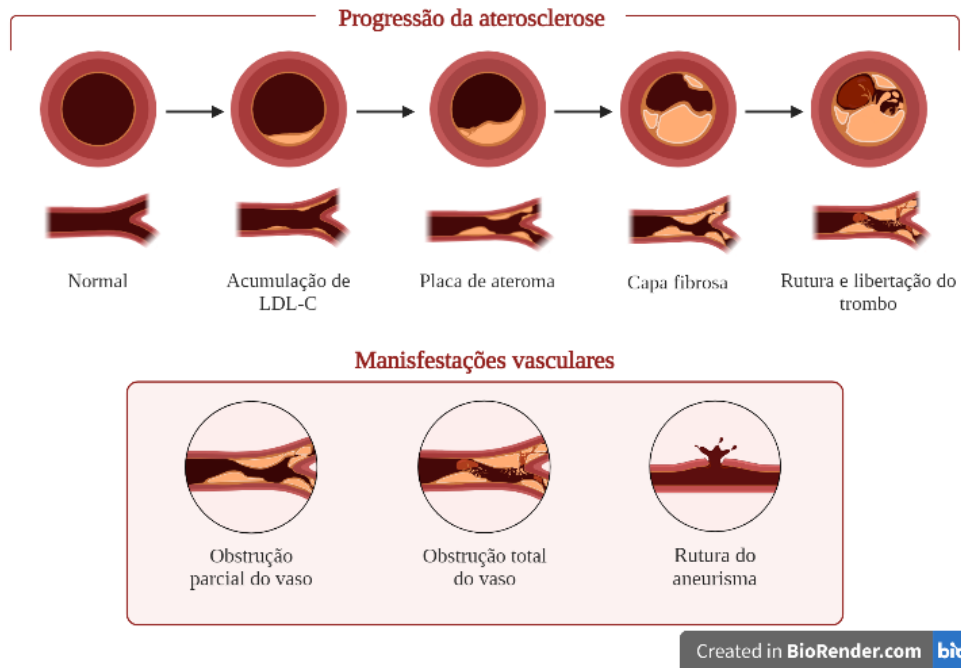


Figura 4 - Progressão da aterosclerose e manifestações vasculares [Criado no BioRender.com]

4 Fatores e indicadores de risco

4.1 Não modificáveis

4.1.1 Idade

O envelhecimento dos vasos leva a aumento da espessura das túnica média e da íntima, e perda de elasticidade das artérias, resultando numa diminuição da complacência. Adicionalmente às alterações na matriz e composição celular, os vasos envelhecidos expressam moléculas pro-inflamatórias e aumentam o *uptake* de lipoproteínas do plasma. Desta forma, o processo da aterosclerose é sobreposto ao normal envelhecimento dos vasos. (47)

4.1.2 Doenças genéticas

O perfil lipídico pode ser determinado por fatores genéticos e em alguns casos, manifestado em dislipidemias familiares. Doenças monogénicas representam um exemplo marcante nas implicações que têm no desenvolvimento da aterosclerose, sendo a hipercolesterolemia familiar a mais comum. A hereditariedade de mais de uma variante genética com efeitos no metabolismo lipoproteico pode não se manifestar isoladamente, mas em combinação com a influência poligénica nos níveis de colesterol total (CT), triglicéridos (TGs) e lipoproteína de alta densidade (HDL) aumenta significativamente, afetando comumente vários membros da família. (48)

Várias doenças monogénicas comprometem a atividade dos LDL-R hepáticos, responsáveis por retirar LDL do plasma, resultando numa elevação dos seus níveis no plasma. Sem o retorno natural de colesterol às células hepáticas, a produção de colesterol hepático é ativada e o mecanismo de feedback deixa de responder. (49)

A hiperlipidemia familiar combinada (HFC) é caracterizada por níveis elevados de LDL-C e/ou TGs e constitui uma causa de doença coronária prematura. É determinada pela interação de múltiplos genes suscetíveis com alta variabilidade inter e intraindividual dentro da mesma família. (50) O diagnóstico na prática clínica falha frequentemente, no entanto, a combinação de apolipoproteína B (ApoB) >120 mg/dL e TGs >133mg/dL com história familiar de doença coronária prematura pode ser utilizado para identificar uma provável HFC. (51)

Adicionalmente, a deficiência no transporte de LDL, mutações do gene apoB100 e mutações da PCSK9 mostraram resultar no aumento plasmático de LDL. (52)

Hipercolesterolemia familiar

A Hipercolesterolemia familiar (HF) é uma dislipidemia monogénica comum caracterizada por níveis elevados de LDL-C constantes e causadora de doença cardiovascular prematura. A prevalência de Hipercolesterolemia familiar heterozigótica (HFHe) é estimada em 1/250 pessoas. (53) Sem tratamento o desenvolvimento de doença cardiovascular acontece antes dos 55-60 anos, e o risco de doença coronária é 10 vezes superior nestes indivíduos, no entanto, o diagnóstico precoce com o tratamento apropriado diminui drasticamente este risco. (54)

O efeito primário da HF é a perda de função parcial ou total de LDL-R por mutações nos genes de LDL-R e ApoB, sendo que doentes heterozigóticos apresentam apenas 50% do número normal de LDL-R hepáticos com um aumento dos níveis plasmáticos de LDL em 2-3 vezes. (52,54) O diagnóstico é baseado na apresentação clínica seguindo critérios consensuais. (55)

A Hipercolesterolemia familiar homozigótica (HFHo) é a forma mais rara e mortal da HF. A apresentação clínica é caracterizada por xantomas extensos, doença cardiovascular prematura e progressiva com valores de CT >500 mg/dL. A maioria dos indivíduos com HFHo desenvolve doença coronária e estenose aórtica antes dos 20 anos com morte antes dos 30 anos. A frequência de HFHo é estimada em 1/160000-320000. (54) O diagnóstico precoce nas crianças e referência especializada é crucial, sendo que terapêutica intensiva de diminuição de LDL é recomendada. Terapêutica farmacológica na máxima dose e frequência tolerada deve ser mantida. (56)

Homocisteína

A hiperhomocisteinemia promove a aterosclerose. O metabolismo deficiente da homocisteína pode levar a *stress* oxidativo com formação de ROS, que têm uma intervenção importante na alteração da função endotelial, e na oxidação das LDL. (57) A disfunção endotelial mediada pela homocisteína com consequente infiltração de LDL e promoção da sua oxidação pelo ambiente oxidativo constitui um dos mecanismos da aterosclerose. A homocisteína aumenta ainda a expressão de TNF α , induzindo um estado pro-inflamatório vascular com aumento da adesão de neutrófilos às CEs e migração para a túnica íntima, podendo contribuir para o desenvolvimento da doença aterosclerótica. (49,57)

4.1.3 Sexo

No geral, indivíduos do sexo masculino tendem a ter um perfil de fatores de risco para a doença aterosclerótica pior do que o das mulheres, tendo em conta a maior prevalência de

hipertensão (58), diabetes (59), colesterol elevado (59) e de fumadores (60) no sexo masculino. A incidência de formação de placas e marcadores de inflamação também parece ser superior no homem, sendo estes preditores de eventos cardiovasculares. (61)

No entanto, nas décadas mais avançadas de vida, foi demonstrado que a incidência de enfarte do miocárdio nas mulheres iguala a dos homens a partir dos 60 anos, e ultrapassa-a a partir dos 80 anos; a insuficiência cardíaca com função de ejeção preservada demonstrou também ser mais comum nas mulheres idosas do que nos homens idosos. (61,62)

Assim, enquanto a idade é um fator de risco independente para a doença cardiovascular, é evidente que as mulheres mais velhas estão mais dispostas a complicações relacionadas com doença cardíaca. Geralmente, antes da menopausa, as mulheres estão relativamente protegidas da doença cardiovascular pela produção de estrogénios, possuindo uma função vasculo protetora pela capacidade de modular a função vascular; após a menopausa, o risco de doença cardíaca aumenta significativamente nas mulheres. (62) Isto sugere uma relação entre sexo e idade como variáveis importantes a perceber na aterosclerose.

4.2 Modificáveis

4.2.1 Tabagismo

O fumo do tabaco é um dos fatores de risco mais importantes para o desenvolvimento de aterosclerose e eventos cardiovasculares. Estudos recentes têm demonstrado alguns dos mecanismos envolvidos. Componentes do fumo de tabaco induzem *stress* oxidativo com aumento da formação de ROS, causando lesões endoteliais e conseqüentemente levando a disfunção endotelial, ou agravamento da mesma. (63) Para além disso, a nicotina é um composto que acelera a aterogénese e promove a proliferação endotelial e de CMLVs. (63)

Estudos em humanos têm demonstrado que o fumo do tabaco causa comprometimento da vasodilatação coronária em fumadores jovens saudáveis (64), enquanto a longo prazo reduz a dilatação mediada pelo fluxo (65) e aumenta a frequência e duração da isquemia coronária. (66)

4.2.2 Níveis lipídicos

4.2.2.1 Colesterol, lipoproteínas e apolipoproteínas

Altas concentrações de certas lipoproteínas estão relacionadas com o desenvolvimento da aterosclerose. Estas incluem lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), LDL e lipoproteína de densidade intermediária (IDL), sendo que os níveis de TGs e CT dão informação

sobre os níveis séricos destas lipoproteínas. Valores elevados de colesterol refletem-se em concentrações de quilomicras, VLDL e LDL aumentadas. (49)

Todas as lipoproteínas com ApoB na sua estrutura com diâmetro <70nm, incluindo lipoproteínas ricas em TGs (lrTGs) de pequenas dimensões e partículas remanescentes, podem atravessar a barreira endotelial, em particular na presença de disfunção endotelial. (54) Este processo de retenção na parede arterial constitui um passo fundamental na formação da placa de ateroma. Em média, indivíduos com concentrações mais elevadas destas lipoproteínas acumulam lípidos mais rapidamente, resultando num aceleração da instalação e progressão das placas de ateroma. A exposição contínua a estas lipoproteínas é também determinante para o aumento e progressão da aterosclerose. (67) O risco de um evento clínico resultante de aterosclerose aumenta consoante a concentração de lipoproteínas contendo ApoB e o seu tempo de exposição.

O LDL-C plasmático é uma medida de massa de colesterol transportada por partículas LDL, a mais numerosa das lipoproteínas que contém ApoB, e é uma estimativa da concentração de LDL circulante. Inúmeros estudos têm demonstrado consistentemente uma relação entre mudanças na concentração de LDL-C e o risco de doença aterosclerótica (68,69), bem como uma relação entre o tempo de exposição a altas concentrações de LDL-C e um risco aumentado de doença aterosclerótica, estabelecendo um efeito causal e cumulativo no risco de progressão da doença aterosclerótica. (70)

A Lipoproteína(a) (Lp(a)) é uma LDL com uma fração de apolipoproteína-A covalentemente ligada à componente ApoB. (71) Tem um diâmetro <70nm e atravessa livremente a barreira endotelial, onde pode ficar retida na parede arterial. Os efeitos pro-aterogénicos da Lp(a) também incluem efeitos pro-coagulantes pela estrutura similar ao plasminogénio, e efeitos pro-inflamatórios possivelmente relacionados com os fosfolípidos que transportam. Concentrações elevadas no plasma parecem estar associadas a um aumento do risco de aterosclerose, mas com menor significância que o LDL-C. (54)

A apoB100 é a proteína estrutural das LDL e funciona como ligando para os LDL-R. Adicionalmente, a apoB100 é crítica na produção e secreção de VLDL pelo fígado. O VLDL plasmático é metabolizado em IDL e LDL por lípases. VLDL e IDL remanescentes têm a capacidade de induzir a formação de células espumosas pela internalização pelos macrófagos. Por outro lado LDL, IDL e VLDL podem ser modificados e internalizados por um número de recetores não regulados, dando também origem a células espumosas. O HDL reduz a sua formação ao estimular o efluxo de colesterol e transportando-o diretamente para o fígado. (72)

Desta forma, a apoB é considerada preditora de risco aterosclerótico pela sua relação com as concentrações plasmáticas das lipoproteínas envolventes. É também possível fazer a relação entre valores elevados de colesterol e um aumento destas lipoproteínas, tornando o colesterol elevado também um indicador de risco para o desenvolvimento da placa aterosclerótica.

4.2.2.2 Triglicéridos

Os triglicéridos representam um importante biomarcador de doença cardiovascular pela sua associação a partículas remanescentes aterogénicas. Partículas de VLDL ricas em TGs e as partículas remanescentes transportam a maioria dos TGs circulantes. Assim, várias espécies de IrTGs, incluindo VLDL, VLDL remanescentes e quilomicras remanescentes aparentam promover a aterosclerose de forma independente das LDL. Similarmente às LDL modificadas, estas espécies são alvo de acumulação endotelial e internalização com formação de células espumosas. (73)

Estados de hipertrigliceridemia estão associados a aumento da produção de VLDL e atraso na sua eliminação da circulação, promovendo a sua acumulação endotelial e início do mecanismo aterosclerótico. (73)

4.2.3 Hipertensão

A hipertensão provoca lesões no endotélio por aumento da pressão hemodinâmica e pode aumentar a permeabilidade da parede vascular a lipoproteínas, promovendo os passos iniciais da aterosclerose. (49) O papel aterogénico das forças hemodinâmicas já foi desenvolvido anteriormente.

4.2.4 Fatores metabólicos

A Diabetes mellitus (DM) em si é um fator de risco independente para a doença cardiovascular, e está associado a um risco mais elevado por estarem estabelecidas fortes associações entre DM e efeitos vasculares. (74)

A DM está associada a risco de mortalidade superior após eventos coronários agudos apesar das terapêuticas atuais, evidenciando um mau prognóstico em doentes coronários com DM e a necessidade de terapêutica intensiva. (75)

A Diabetes mellitus tipo I (DMI) está associada a risco elevado cardiovascular em particular em pessoas com microalbuminúria e doença renal. (76) O perfil lipídico em doentes com DMI com glicémia controlada aparenta ser normal devido à administração subcutânea de

insulina que aumenta a atividade da lipoproteína lipase (LPL), e conseqüentemente, a metabolização de VLDL. No entanto, a composição das VLDL também se encontra alterada, consistindo maioritariamente em colesterol em vez de TGs, bem como um aumento de partículas pequenas VLDL e uma diminuição das maiores. (77)

Dados recentes evidenciam ainda a coexistência frequente de síndrome metabólico e DMI, resultando num aumento significativo do risco cardiovascular. (78)

Na Diabetes mellitus tipo II (DMII), o risco de doença aterosclerótica está fortemente determinando pela presença de lesões em órgãos alvo, incluindo nefropatia, neuropatia ou retinopatia, com aumento do risco consoante a existência de comorbilidades. (79) A dislipidemia diabética é caracterizada por lípidos e lipoproteínas anormais proximamente interligados metabolicamente. O aumento de partículas VLDL na DMII inicia a sequência de eventos que produz partículas aterogénicas, LDL de baixa densidade e pequenas partículas de HDL ricas em TGs. (80) Estas alterações de composição são refletidas nas suas funções.

Adicionalmente, os níveis de apolipoproteína C-III (ApoC-III) estão aumentados na DMII. Níveis elevados de ApoC-III impedem a *clearance* de IrTGs e dos seus remanescentes, resultando em elevados tempos de circulação destas partículas. (81)

Em conjunto, IrTGs, LDL de baixa densidade e HDL de baixa densidade constituem um perfil lipídico aterogénico, acompanhado de um aumento da concentração de ApoB por aumento das partículas que contêm ApoB.

Aterosclerose diabética

A patologia da aterosclerose diabética envolve hiperglicemia, dislipidemia, alterações na secreção de hormonas incluindo a insulina, e um estado pro-inflamatório. (82) Hiperglicemia intracelular causa inicialmente produção excessiva de ROS na mitocôndria ou por outros mecanismos. O *stress* oxidativo decorrente induz inflamação, que promove a produção de ROS. O *stress* oxidativo e a inflamação afetam a atividade das células β pancreáticas e a sensibilidade à insulina. (82)

Adicionalmente, ROS promovem disfunção endotelial e expressão de fatores inflamatórios, que em troca induzem a produção de ROS criando um ciclo. Aumento de ROS induz a oxidação das LDL e aumento da sua internalização por recetores não regulados, promovendo a sua acumulação nos macrófagos. Nos macrófagos a atividade de NF- κ B está aumentada, acompanhada do aumento da ativação de NLRP3, promovendo a expressão de fatores inflamatórios. (82)

Dados conclusivos suportam a proposta de que a hiperglicemia acelera a aterosclerose. Estes mecanismos em conjunto, com a disfunção endotelial, expressão de fatores inflamatórios e internalização das LDL oxidadas contribuem para a formação de células espumosas e a subsequente progressão da aterosclerose.

4.2.5 Inflamatórios

Avanços recentes têm estabelecido um papel fundamental de inflamação crônica na mediação de todas as fases da aterosclerose, desde a iniciação, progressão e ruptura da placa com formação de trombo. As interações celulares e moleculares envolvidas no mecanismo aterosclerótico são fundamentalmente semelhantes a doenças com inflamação crônica. Quase todos os tipos de células do mecanismo inflamatório têm sido identificados durante o processo aterosclerótico, como macrófagos, células B e T e citocinas pro-inflamatórias. (83) Para além disso, a acumulação de colesterol nas células ativa a resposta inflamatória e resulta na produção de mediadores inflamatórios.

Numerosos estudos animais demonstraram que o sistema imunitário e a inflamação possuem papéis cruciais no mecanismo aterogénico. (84) Em associação, vários ensaios clínicos levados a cabo demonstraram a presença de proteínas inflamatórias de fase aguda, nomeadamente a proteína C reativa (PCR) (54), uma proteína reativa que é libertada após infeção, lesão aguda ou estímulos inflamatórios promovendo a inflamação e funcionando como marcador inflamatório de fase aguda. Embora esta não possua especificidade para a aterosclerose. Por outro lado, citocinas pro-inflamatórias dos macrófagos e monócitos ativam a PCR no fígado. Esta promove a aterogénese pelos seus efeitos nos monócitos e CEs e pelo aumento da atividade e concentração do inibidor do ativador do plasminogénio-1. (49)

Valores aumentados de componentes de fase aguda como a PCR e o fibrinogénio podem refletir inflamação extravascular, que pode intensificar o processo aterosclerótico e as suas complicações. A PCR induz a ligação de plaquetas às CEs e estimula a entrada de monócitos e linfócitos para a parede vascular. Adicionalmente, medeia a proliferação e atividade das CMLVs levando à sua acumulação na túnica íntima, fator chave no desenvolvimento da placa aterosclerótica como já discutido. (49)

Alguns estudos demonstraram uma associação entre elevados níveis de PCR altamente sensível e possível risco aumentado de eventos cardiovasculares. (85) No entanto, noutros estudos com foco nos níveis elevados de PCR como indicador de inflamação crônica, não foi possível fazer a associação entre este e um indicador de doença cardiovascular. (86,87)

Adicionalmente, tem sido estabelecida uma relação entre fibrinogénio e doenças cardiovasculares. O fibrinogénio tem um papel na resposta a lesões vasculares com a consequente formação de uma rede de fibrina, como já discutido anteriormente, no entanto, em adição à sua função trombótica, o fibrinogénio causa proliferação celular, contração das paredes celulares lesadas e regulação de adesão celular. (49) Para além disso, o fibrinogénio é uma proteína de fase aguda positiva, encontrando-se a sua síntese aumentada em estados inflamatórios, que acompanham o mecanismo aterosclerótico.

O papel do fibrinogénio no desenvolvimento da placa e formação do trombo aliado ao aumento da sua síntese em ambiente inflamatório evidencia a prevalência deste fator hemostático na progressão da doença aterosclerótica.

4.2.6 Microrganismos

O corpo humano é hospedeiro de uma extensa quantidade de microrganismos que habitam em simbiose com o organismo humano e contribuem para a sua microbiota comensal. A associação entre a microbiota e o desenvolvimento de certas doenças, como aterosclerose e doença cardiovascular, já foi estabelecida. (88)

A microbiota intestinal possui a maior quantidade de organismos microbianos e regula várias funções biológicas, como absorção e metabolismo de nutrientes e maturação do sistema imunitário. (89) No entanto, quando a homeostasia é perturbada há um aumento da permeabilidade intestinal com redução da expressão de proteínas epiteliais e translocação de lipopolissacaridos, potentes endotoxinas constituintes da membrana externa de bactérias gram negativas. Estes induzem libertação de citoquinas pro-inflamatórias e inflamação de baixo grau, promovendo o mecanismo inflamatório aterogénico. (90)

A microbiota intestinal também interage com os nutrientes ingeridos, e estes componentes da dieta podem estar envolvidos no processo aterogénico. Variados metabolitos produzidos pela microbiota intestinal possuem a capacidade de modular a inflamação, contribuindo ou prevenindo a aterosclerose. (91) O exemplo mais estudado é o N-óxido de trimetilamina (TMAO), formada no fígado após síntese da trimetilamina pela microbiota intestinal na metabolização da colina e L-carnitina presentes no peixe, carne vermelha, marisco e ovos. O TMAO aumenta a resposta inflamatória vascular e suprime o transporte reverso de colesterol promovendo a acumulação de colesterol na túnica íntima. (91)

Assim, a microbiota pode influenciar a aterosclerose por promoção do seu desenvolvimento por ativação do sistema imunitário, alteração do metabolismo de colesterol e

produção de metabolitos como o TMAO. Em conjunto estes processos podem manter ou agravar o processo de desenvolvimento da placa de ateroma.

Adicionalmente, o desenvolvimento de placas de ateroma pode ser afetado por infecções distantes ou infecções diretamente na parede vascular, mecanismo que já foi comprovado pela presença de microorganismos na placa de ateroma e demonstrada em alguns estudos uma relação entre estas, e a estabilidade da placa e inflamação. (92) Estes agentes infecciosos incluem *Chlamydomphila pneumoniae* e *Helicobacter pylori*, microorganismos periodontais e alguns vírus. (93) A associação potencial entre infecções agudas e eventos cardiovasculares foi investigada num estudo onde foi demonstrado um risco aumentado de enfarte do miocárdio ou acidente vascular cerebral após infecções sistémicas do trato respiratório e urinário. (94)

5 Prevenção remota

A prevenção da doença aterosclerótica refere-se à prevenção de eventos cardiovasculares antes destes acontecerem por abrandamento da progressão da aterosclerose.

Na prevenção da doença aterosclerótica, é recomendado a avaliação do risco cardiovascular total, expresso pelo conjunto dos efeitos de determinados fatores de risco. O risco cardiovascular refere-se à probabilidade de um indivíduo desenvolver um evento cardiovascular aterosclerótico num período definido. Vários algoritmos de cálculo do risco cardiovascular têm sido desenvolvidos de forma a prever a mortalidade cardiovascular num período de 10 anos ou o risco cardiovascular ao longo da vida, em diferentes populações com diferentes comorbilidades. (95) Na Europa, um exemplo de uma calculadora de risco cardiovascular é o *Systematic coronary risk evaluation* (SCORE) e as suas variações mais recentes, como o SCORE2 e o SCORE2-OP. (96,97)

As ferramentas de previsão de risco têm o objetivo de estimar um prognóstico de forma imparcial e fornecer informações objetivas da probabilidade de ocorrência de eventos consequentes, apoiando as decisões de tratamento em relação a iniciação ou ajuste da medicação de prevenção. A intensidade das medidas preventivas é personalizada em função do risco cardiovascular total. (54)

Desta forma, aqueles que se encontrem no risco elevado devem ser identificados e tratados; aqueles que se encontrem em risco moderado devem receber aconselhamento profissional em relação a mudanças de estilo de vida; e aqueles em risco baixo devem receber aconselhamento para a sua manutenção. (54)

5.1 Estimar o risco de doença aterosclerótica

Os níveis plasmáticos de LDL-C devem ser medidos de forma a identificar a presença marcada de valores elevados significativos que possam sugerir um elevado risco aterosclerótico por exposição cumulativa a estas lipoproteínas aterogénicas. A medição de CT e HDL-C é também necessária para estimar o risco aterosclerótico. (54)

Os TGs plasmáticos devem ser medidos para identificar grupos de pessoas que possam ter um risco de desenvolvimento de aterosclerose diferente do que é refletido nos valores de LDL-C, devido à presença de uma concentração aumentada de lTGs que contêm ApoB ou por subestimar as concentrações de LDL e/ou o conteúdo de colesterol transportado por essas partículas. Estes cenários são especialmente relevantes em doentes com níveis elevados de TGs,

DM, obesidade ou valores muito diminuídos de LDL-C. Devida à subestimação da concentração de colesterol transportados pelas LDL e da concentração total de lipoproteínas que contêm ApoB é recomendada a medição de ambos ApoB e não-HDL-C como parte das análises de rotina do perfil lipídico para análise do risco aterosclerótico. (54) Como a concentração de ApoB permite uma estimativa realista da concentração total de partículas aterogênicas, é o método de medição preferencial para refinar a estimativa do risco aterosclerótico modificável por terapêuticas anti-dislipidêmicas. (54)

5.2 Alterações no estilo de vida

As intervenções a nível do estilo de vida são o fundamento das estratégias de prevenção da aterosclerose e constituem o primeiro passo na gestão de fatores de risco. A promoção de um estilo de vida saudável ao longo da vida permite a manutenção de níveis diminuídos de lipoproteínas que contêm ApoB diminuindo a progressão da aterosclerose. (67) A diminuição dos níveis de LDL-C é o alvo primário na redução do risco cardiovascular.

O papel fundamental da nutrição como prevenção da doença aterosclerótica tem sido extensamente revisto (98,99) sendo que os fatores dietéticos influenciam o desenvolvimento de doenças cardiovasculares por ação em fatores de risco como perfil lipídico, pressão arterial e glicémia. Em anos recentes, estudos têm sido efetuados com foco na relação entre a doença aterosclerótica, alimentos e padrões alimentares.

Em relação a alimentos à base de animais, é importante fazer a diferenciação entre carne processada e não processada, carne vermelha e carne branca. Sendo que, a carne processada deve ser de consumo limitado e a carne vermelha reduzida no consumo diário. Para outras fontes de proteína, as leguminosas são recomendadas como substituto da carne vermelha bem como o consumo de peixe. (99)

Em relação a alimentos à base de plantas, é importante fazer a diferenciação entre cereais integrais e cereais refinados, cereais com baixo e alto Índice Glicémico (IG). O IG consiste num fator que indica a velocidade à qual os hidratos de carbono ingeridos irão produzir um aumento dos níveis de glucose no sangue. O consumo de alimentos com elevado IG deve ser limitado, e substituído por cereais integrais e alimentos com baixo IG. Adicionalmente, o consumo diário de fruta e vegetais é essencial e está fortemente associado a um risco aterosclerótico diminuído. (99)

Assim, dietas com aumento do consumo de alimentos à base de plantas, limitação do consumo de cereais refinados, redução do consumo de carne processada e vermelha e

moderação do consumo de bebidas alcoólicas, estão associadas a um risco cardiovascular marcadamente mais baixo. (99) Adicionalmente, a substituição de gorduras animais por fontes vegetais e ácidos gordos polinsaturados (AGPIs) pode contribuir também para a diminuição do risco cardiovascular. (100)

A Dieta Mediterrânica e a *Dietary Approaches to Stop Hypertension* (DASH) provaram serem eficazes na redução do risco cardiovascular e, possivelmente, na contribuição para a prevenção da doença aterosclerótica. (101) Recomendações alimentares tendo em conta estas dietas e estudos de alimentos e padrões alimentares encontram-se apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Recomendações alimentares para diminuir os níveis de LDL-C e melhorar o perfil lipídico, adaptado de (54).

	Preferencial	Em moderação	Em quantidade limitada
Cereais	Cereais integrais	Pão branco, arroz, massa, biscoitos	Artigos de pastelaria
Vegetais	Vegetais crus ou cozinhados	Batatas	Vegetais preparados em gorduras saturadas
Leguminosas	Lentilhas, feijão, favas, ervilhas, grão, soja	N/A	N/A
Fruta	Fruta fresca ou congelada	Fruta desidratada, gelatina, compota, enlatada, sumo de fruta	N/A
Açúcares	Açúcares não calóricos	Sucrose, mel, chocolate, doces	Bolos, frutose, refrigerantes, gelados
Carne e peixe	Peixe magro, aves	Carne magra, borrego, porco, veado, marisco	Salsicha, bacon, órgãos, costeletas
Lacticínios e ovos	Leite e iogurte desnatados	Leite magro, queijo magro, ovos	Queijo, natas, iogurte, leite gordo
Lípidos alimentares	Vinagre, mostarda, molhos sem gordura	Azeite, maionese, ketchup, óleos	Ácidos gordos trans, margarina sólida, óleo

		vegetais não tropicais, margarina líquida	de coco e óleo de palma, manteiga, banha
Frutos secos e sementes	N/A	Sem sal	Coco
Técnicas de confeção	Grelhar, cozer, cozer a vapor	Saltear, assar	Fritar

N/A – Não aplicável

5.2.1 Peso corporal e atividade física

A redução de peso promove a sensibilidade à insulina e diminui os níveis de TGs. No entanto, o exercício físico regular reduz os níveis plasmáticos de TGs mais significativamente do que a redução de peso isoladamente. (102,103) A redução de peso também influencia os níveis de CT e LDL-C, mas a magnitude do efeito é reduzida e a redução dos níveis de LDL-C induzida por atividade física é ainda menor. (54) A redução de peso aumenta, ainda, os níveis de HDL-C (aumento de 0,4mg/dL por quilograma diminuído).

Assim, uma vez que sobrepeso, obesidade e obesidade abdominal contribuem para dislipidemia, é recomendado uma redução do aporte calórico e um aumento de gasto de energia nesta população. Uma redução de peso corporal, mesmo que modesta (5-10% do peso corporal inicial) comprovou melhorar as anormalidades lipídicas e afetar favoravelmente outros fatores de risco presentes em indivíduos com dislipidemia por pelo menos dois anos, em particular hipertensão e diabetes. (104)

A redução de peso pode ser conseguida diminuindo o consumo de alimentos densos em energia por indução de um déficit calórico de 300-500 kcal/dia. Esta medida deve ser acompanhada por dieta regulada e atividade física de intensidade moderada durante ≥ 30 minutos por dia. (103)

5.2.2 Aporte lipídico

Ácidos gordos saturados (AGS) são o fator dietético com o maior impacto nos níveis de LDL-C (0,8-1,6 mg/dL de aumento de LDL-C por 1% de energia proveniente de AGS). (105) Os ácidos gordos trans têm um efeito semelhante, no entanto, adicionalmente, levam a uma diminuição dos níveis de HDL-C. Gorduras insaturadas mostraram reduzir os níveis de LDL-C em comparação a AGS. (106)

Evitar o consumo de gorduras trans é assim uma medida fundamental na prevenção dietética das doenças cardiovasculares. Em relação a gorduras saturadas, o seu consumo deve ser <10% do aporte calórico total e deve ser reduzido na presença de hipercolesterolemia. O aporte lipídico deve originar predominantemente de alimentos com ácidos gordos monoinsaturados, incluindo n-6 e n-3 AGPIs. (107) Adicionalmente, o aporte de colesterol deve ser reduzido (<300mg/dia), particularmente em indivíduos com níveis elevados de colesterol plasmático.

5.2.3 Hidratos de carbono e fibras

Fibras dietéticas presentes em legumes, frutas, vegetais e cereais integrais têm um efeito hipocolesterolémico e representam um bom substituto de gorduras saturadas na dieta de forma a maximizar os efeitos desta nos níveis de LDL-C e equilibrar os efeitos do aporte de hidratos de carbono. (108)

O aporte de hidratos de carbono deve ser entre 45-55% do aporte energético (109) e o aporte de açúcares adicionados não deve exceder 10% da energia total. Os efeitos decrementais nos TGs de uma dieta rica em hidratos de carbono ocorrem maioritariamente quando existe consumo de açúcares refinados, sendo estes dose-dependentes. Uma dieta que permita 25-40g/dia de fibra dietética, incluindo ≥ 7 -13g de fibras solúveis é bem tolerada, efetiva e recomendada para controlo do perfil lipídico. (110)

5.2.4 Álcool e tabagismo

O consumo de álcool deve ser limitado, no entanto, o consumo moderado de bebidas alcoólicas segundo as *guidelines* atuais (≤ 10 g/dia em homens e mulheres) (54) é aceitável caso os níveis de TGs não estejam elevados. (111)

Em relação ao tabaco, existem benefícios claros na cessação tabágica em relação ao risco cardiovascular como explicado anteriormente, e em particular nos níveis de HDL-C. (112)

5.3 Intervenção farmacológica

Quando as alterações ao estilo de vida não são suficientes e/ou a avaliação do risco cardiovascular total o recomenda, várias classes farmacológicas são utilizadas para prevenção da aterosclerose.

Estes agentes farmacológicos atuam nos fatores de risco da aterosclerose, já desenvolvidos anteriormente, em particular quando há necessidade de intervenção farmacológica a nível do perfil lipídico, pressão arterial ou glicémia. Os agentes modificadores

das lipoproteínas, anti-hipertensores e anti-coagulantes ou anti-agregantes plaquetários têm mostrado eficácia na prevenção do desenvolvimento da aterosclerose. (113)

A abordagem direcionada para gestão do perfil lipídico está primeiramente direcionada para a redução do risco aterosclerótico por diminuição substancial dos níveis de LDL-C.

Como abordado anteriormente, o risco de experienciar um evento clínico decorrente de manifestações da doença aterosclerótica aumenta rapidamente quanto maior a concentração de lipoproteínas que contêm ApoB e quanto mais duradoura for a sua exposição. O tratamento para diminuição de LDL-C é recomendado para indivíduos nestas condições devido aos efeitos cumulativos da exposição a concentrações elevadas de LDL-C, e consoante o seu risco cardiovascular total. (54)

A decisão de iniciar terapêutica farmacológica como prevenção primária ou secundária deve ser avaliada e individualizada consoante os fatores de risco para o desenvolvimento e progressão da doença aterosclerótica e do risco cardiovascular total.

6 Terapêutica farmacológica

6.1 Modificação das lipoproteínas

6.1.1 Inibidores da HMG-CoA redutase (Estatinas)

As estatinas reduzem a síntese de colesterol no fígado por um mecanismo de inibição competitiva da enzima HMG-CoA redutase. A redução do colesterol intracelular induz um aumento da expressão de LDL-R na superfície dos hepatócitos, aumentando o *uptake* de LDL plasmático resultando numa diminuição da sua concentração plasmática. (54) Alguns exemplos de estatinas utilizadas são atorvastatina, rosuvastatina, pitavastatina, sinvastatina, fluvastatina e pravastatina.

O grau de redução dos níveis de LDL-C é dose-dependente variando consoante a estatina. Estas podem ser feitas em regime de alta intensidade com doses de estatinas que reduzam os níveis de LDL-C em $\geq 50\%$ ou regimes de intensidade moderada com reduções de 30-50%. (54) Independentemente dos valores de LDL-C e do risco cardiovascular iniciais, uma meta-análise de 26 ensaios clínicos com estatinas demonstrou uma redução do risco de eventos cardiovasculares em 40-50% por 36-54 mg/dL de redução dos valores de LDL-C. (68)

Os registos de resultados insuficientes no tratamento com estatinas devem-se, geralmente, a fraca adesão ao tratamento ou alterações genéticas. Em indivíduos que não toleram a máxima dose recomendada ou que não tenham ainda atingido os valores alvo de LDL-C, é recomendada a adição de um agente modificador de lipoproteínas de outra classe. (54)

Adicionalmente, as estatinas reduzem a concentração plasmática de partículas ricas em TGs. Estas constituem a terapêutica de primeira linha em doentes com hipertrigliceridemia, reduzindo os níveis de TGs até 27% e, principalmente, o risco cardiovascular. (114) Estatinas mais potentes como atorvastatina, rosuvastatina e pitavastatina demonstraram uma redução robusta dos níveis de TGs, especialmente a altas doses e em indivíduos com hipertrigliceridemia, naqueles em que o risco cardiovascular total e a necessidade de redução é maior. (54)

Numa meta-análise, as elevações nos níveis de HDL-C variaram consoante a dose e a estatina, produzindo aumentos até 15%. (115) No entanto, a relação isolada desta alteração modesta nos níveis de HDL-C e a redução do risco cardiovascular é indeterminada tendo em conta a redução marcada que estas produzem nos níveis de LDL-C. (54)

Posto isto, as estatinas são fármacos muito eficazes com demonstrações consistentes na redução dos valores de LDL-C e do risco cardiovascular e que constituem a primeira linha terapêutica na dislipidemia, em particular, na dislipidemia associada à doença aterosclerótica.

Limitações

A biodisponibilidade das estatinas é relativamente baixa devido ao efeito de primeira passagem pelo fígado, muitas delas sendo significativamente metabolizadas pelo citocromo P450 (CYP450). Um número de indutores e inibidores do CYP450 apresentam interações medicamentosas com algumas estatinas, interferindo com outros fármacos metabolizados pelo mesmo sistema enzimático.

As estatinas são maioritariamente bem toleradas, no entanto, têm efeitos específicos de classe. Possuem efeitos na hemostasia da glucose com risco aumentado de desenvolvimento de DMII (116), sendo que o risco é maior com o uso de estatinas potentes a doses elevadas (117), nos idosos e na presença de outros fatores de risco para diabetes como obesidade e resistência à insulina.

O efeito adverso mais clinicamente relevante e prevalente são as mialgias, e uma das principais razões para falta de adesão e interrupção do tratamento. Estas normalmente não são acompanhadas de elevação significativas dos níveis de creatina cinase (CK). (118) Por outro lado, um efeito severo é a rabdomiolise (3-4 casos em 100 000/ano). (119) A rabdomiolise é caracterizada por dor muscular severa, necrose muscular e mioglobinúria com possível evolução para falência renal e morte. Os níveis de CK aumentam ≥ 10 vezes podendo chegar às 40 vezes. (118)

6.1.2 Inibidores da absorção do colesterol

O ezetimiba inibe a absorção intestinal do colesterol dietético sem interferir com a absorção de gorduras solúveis. Ao inibir a absorção de colesterol reduz a quantidade de colesterol transportado para o fígado resultando num aumento da expressão dos LDL-R e numa redução dos níveis de LDL-C plasmático.

Resultados de estudos como PRECISE-IVUS (120) e IMPROVE-IT (121) mostraram regressão da placa de ateroma coronária e melhoramento cardiovascular, respetivamente, apoiando o uso de ezetimiba como segunda linha terapêutica em associação com estatinas quando o objetivo terapêutico não tenha sido alcançado com monoterapia de estatinas na máxima dose tolerada ou em doentes intolerantes ou com contraindicação a estatinas.

Uma meta-análise de ensaios demonstrou uma redução de 18,5% nos níveis de LDL-C com ezetimiba, um aumento de 3% dos níveis de HDL-C, uma redução de 8% dos níveis de TGs e de 14% no CT, comparativamente ao braço placebo. (122)

A combinação de ezetimiba com terapêutica com estatinas demonstrou uma redução dos níveis de LDL-C em 38% em indivíduos com hipercolesterolemia. Em alguns estudos, esta combinação melhorou significativamente os valores de LDL-C quando em comparação com aumento isolado da dose de estatina e após a transição de monoterapia com estatinas para terapêutica combinada com ezetimiba (15% adicionais). (123) A relação do tratamento combinado com ezetimiba e estatinas e uma redução dos eventos cardiovasculares foi estudada no ensaio SHARP (124) em comparação com o braço placebo, onde foi demonstrada uma redução de eventos ateroscleróticos major em doentes com doença renal crônica.

A administração de ezetimiba em combinação com sequestradores de ácidos biliares também demonstrou uma redução adicional dos níveis de LDL-C em 10-20%. (125)

Limitações

Não há efeitos clinicamente relevantes consoante a idade, sexo ou raça na farmacocinética do ezetimiba nem necessidade de ajuste de doses. A adição de ezetimiba a estatinas não demonstrou aumentar o risco de incidência de elevados níveis de CK para além do documentado com o tratamento de estatinas. (126)

6.1.3 Sequestradores de ácidos biliares

Os ácidos biliares são sintetizados no fígado a partir de colesterol e são libertados no lúmen intestinal sofrendo na grande maioria reabsorção. Ao ligar os sequestradores de ácidos biliares aos ácidos biliares, estes previnem a reabsorção do composto de volta ao sangue, removendo uma grande porção de ácidos biliares da circulação enterohepática. O fígado aumenta a síntese de ácidos biliares aumentando a expressão de LDL-R o que resulta na diminuição dos níveis de LDL-C plasmático. (54)

Em doses elevadas, a colestiramina, colestipol e colesevelam alcançam reduções de 18-25% nos níveis de LDL-C. (54)

Limitações

O uso de colestiramina e colestipol está limitado por efeitos adversos gastrointestinais mesmo em doses baixas e interações medicamentosas significativas com outras classes farmacológicas. Os efeitos adversos gastrointestinais podem ser atenuados começando o

tratamento com doses baixas e aumentando a ingestão de fluídos, com um aumento gradual da dose. Adicionalmente, foram reportadas diminuições da absorção de vitaminas lipossolúveis. (54)

O colesevelam aparenta ser melhor tolerado e ter menos interações com outras classes farmacológicas, e é passível de ser combinado com estatinas. (127)

6.1.4 Inibidores da pró-proteína convertase subtilisina quexina tipo 9

A pró-proteína convertase subtilisina quexina tipo 9 (PCSK9) é majoritariamente expressa no fígado. Liga-se aos LDL-R no fígado e estimula a absorção e degradação destes recetores levando à sua destruição lisossomal e resultando em níveis elevados de LDL-C plasmático. (128) Ao inibir a PCSK9 a degradação dos LDL-R é prevenida, aumentando a absorção de LDL-C pelo fígado e levando a uma diminuição das concentrações plasmáticas de LDL-C.

Os inibidores da PCSK9 oferecem a possibilidade de alcançar níveis de LDL-C ainda mais baixos do que aqueles com combinação de estatinas e ezetimiba.

A eficácia e segurança de dois anticorpos monoclonais que inibem a PCSK9, o evolucumab e alirocumab, foi demonstrada em dois ensaios clínicos de fase III em 2015. (129,130) Estes anticorpos mostraram diminuir significativamente os níveis de LDL-C em 60% dependendo da dose, em 46-73% quando em combinação com estatinas de alta intensidade ou na dose máxima tolerada, e em 30% quando combinados com ezetimiba.

Estes inibidores mostraram também eficácia em ensaios clínicos de fase II na redução dos níveis de TGs em 17% e aumento de HDL-C e apolipoproteína A-1 (ApoA-1) em 4,6% e 2,9%, respetivamente. (130) Em contraste com as estatinas, também demonstraram uma redução dos níveis de Lp(a) em 30%. (131) Adicionalmente, resultados do ensaio GLAGOV demonstraram uma diminuição significativa do volume das placas de ateroma com o evolucumab após 76 semanas de tratamento. (132)

A terapêutica com inibidores da PCSK9 é indicada em doentes que expressem o LDL-R, incluindo na hipercolesterolemia familiar heterozigótica e homozigótica com expressão residual de LDL-R. (54)

Limitações

Estes anticorpos são administrados via subcutânea. Entre os efeitos adversos mais frequentemente reportados encontram-se prurido no local de injeção e sintomas de gripe. (133)

Um potencial problema de tratamentos a longo prazo com anticorpos é a ocorrência de autoanticorpos. O evolocumab e alirocumab são anticorpos humanizados, havendo menos probabilidade de indução de autoanticorpos, no entanto, o uso prolongado requer monitorização. Adicionalmente, considerando o custo do tratamento e os dados limitados quanto a uso prolongado, estes anticorpos podem apenas ser considerados custo-efetivos em doentes com risco muito elevado e consoante o país e sistema de saúde. (54)

6.1.5 Fibratos

Os fibratos são agonistas do recetor- α ativado pela proliferação do peroxissoma (PPAR- α), atuando via fatores de transcrição que regulam vários passos do metabolismo lipídico. Os fibratos têm boa eficácia na redução de TG endógenos e exógenos e lipoproteínas remanescentes ricas em TGs, com reduções até 50%, redução de valores de LDL-C \leq 20% e aumento de \leq 20% de HDL-C. A magnitude do efeito é dependente dos níveis iniciais. (134)

Limitações

Os fibratos apresentam efeitos adversos moderados como perturbações gastrointestinais, irritações cutâneas acompanhadas de miopatia, elevação das enzimas hepáticas e colelitíase. (135) O risco de miopatia aumenta duas vezes mais com monoterapia de fibratos do que com estatinas. Em particular, a combinação de estatinas com gemfibrozil aumenta o risco de miopatia e a sua associação com estatinas deve ser evitada. Por outro lado, a combinação de estatinas com outros fibratos como fenofibrato, benzafibrato e ciprofibrato apresenta pouco ou nenhum risco para miopatia. (136)

6.1.6 Ácidos gordos n-3

Ácidos gordos n-3 como o ácido docosahexanóico (DHA) e ácido eicosapentanóico (EPA) afetam as lipoproteínas, em particular a concentração de VLDL e consequentemente de TGs.

Os ácidos gordos reduzem os níveis de TGs mas o seu efeito noutras lipoproteínas não é significativo. Estudos recentes em pessoas com hipertrigliceridemia reportaram uma redução significativa dos níveis de TGs até 45% de forma dose-dependente, com EPA. (137) A eficácia na redução de TGs também foi demonstrada em meta-análises. (138) Os ácidos gordos n-3 podem ser adicionados a estatinas e fibratos caso os níveis de TGs não estejam ainda controlados. (54)

No entanto, uma meta-análise de 20 estudos e 63000 indivíduos não demonstrou efeitos destes ácidos gordos na ocorrência de eventos cardiovasculares. (139)

Limitações

A administração de ácidos gordos n-3 aparenta ser segura e sem interações clinicamente significativas, sendo o efeito adverso mais comum as perturbações gastrointestinais. Os seus efeitos antitrombóticos podem aumentar a propensão para hemorragias, particularmente em combinação com antiagregantes plaquetários. (54)

6.1.7 Inibidores da proteína de transferência de colesterol esterificado

A inibição da proteína de transferência de colesterol esterificado (CETP) por moléculas pequenas representa a abordagem farmacológica mais eficaz no aumento dos níveis de HDL-C com efeito de aumentos de mais de 100% dose-dependente e frequentemente acompanhada de uma redução dos níveis de LDL-C.

Em modelos de ratos tem sido reportada uma atenuação da aterosclerose, não por aumento dos níveis de HDL-C, mas pela diminuição do LDL-C pela inibição da CETP e por uma diminuição independente dos níveis de PCSK9. (140)

Dos inibidores da CETP inicialmente desenvolvidos, nomeadamente torcetrapib (141), dalcetrapib (142), evacetrapib (143), e anacetrapib, apenas o anacetrapib está atualmente ativo. O estudo REVEAL com anacetrapib demonstrou um aumento de HDL-C em 104% e de ApoA-1 em 36%, com uma redução de LDL-C em 17% e de ApoB em 18%. Demonstrou ainda reduzir eventos coronários em 9% ao longo de 4 anos. (144)

6.2 Perspetivas futuras e potenciais alvos

6.2.1 Modificação das lipoproteínas

6.2.1.1 Inibidores PCSK9

Uma nova abordagem na redução dos níveis de PCSK9 é a administração de moléculas pequenas interferentes de RNA (siRNA) direcionadas para a PCSK9. Estas moléculas facilitam um complexo silenciador induzido por RNA, clivando o RNA mensageiro (mRNA) das PCSK9 e impedindo a tradução destas proteínas.

Em ensaios clínicos de fase I (145) e fase II (146), siRNA alcançou reduções dos níveis de PCSK9 de cerca de 50% dependendo da dose, e conseqüentemente de LDL-C. As reduções de PCSK9 e LDL-C foram mantidas durante 6 meses.

O estudo HPS4/TIMI65/ORION4 de fase III em 15000 indivíduos com Doença Aterosclerótica pré-existente está atualmente em curso. Este estudo pretende investigar os efeitos desta siRNA em eventos cardiovasculares major, com uma duração média planeada de 5 anos.

6.2.1.2 Ácido bempedóico

O ácido bempedóico é um inibidor da adenosina trifosfato citrato liase (ACL) e inibe a síntese de colesterol por inibição da ação da ACL no mecanismo de biossíntese. (147) Adicionalmente induz o aumento de expressão de LDL-R, diminuindo os níveis de LDL-C plasmáticos. (127) Em monoterapia, reduz os níveis de LDL-C em cerca de 30%, e em cerca de 50% em combinação com o ezetimiba.

Um ensaio clínico de fase III, CLEAR Harmony, foi realizado de forma a determinar as segurança e tolerabilidade do ácido bempedóico em indivíduos com elevado risco cardiovascular e níveis elevados de LDL-C que não são controlados pela terapêutica atual. Os resultados obtidos demonstraram uma redução adicional de 16,5% em comparação com os níveis de LDL-C iniciais (148).

Outro ensaio clínico de fase III, CLEAR Tranquility, determinou que a combinação do ácido bempedóico com ezetimiba em indivíduos com LDL-C elevado é eficaz e segura, com uma redução adicional de 28,5%. (149)

6.2.1.3 Angiopietina-like 3

A Angiopietina-like 3 (ANGPTL3) é uma proteína e principal reguladora do metabolismo das lipoproteínas. A sua função reside na inibição da atividade da LPL, uma enzima que catalisa a hidrólise dos TGs presentes nas quilomicras e VLDL.

Estudos demonstraram que indivíduos com deficiência em ANGPTL3 apresentam níveis de colesterol e de TGs diminuídos. Esta deficiência aparenta proteger contra a doença aterosclerótica nestes indivíduos. (150)

Um anticorpo monoclonal anti-ANGPTL3 está a ser desenvolvido, o evinacumab, e tem demonstrado uma diminuição dos níveis de TGs, LDL-C e ApoB em doentes com hipercolesterolemia familiar homozigótica, adicional à terapêutica de modificação lipídica que os indivíduos já realizavam. (151)

Outra abordagem consiste na inibição da produção de ANGPTL3 por oligonucleotidos antisense. Um ensaio clínico de fase I demonstrou reduções dose dependentes nos níveis de

mRNA hepáticos da ANGPTL3, TGs e LDL-C. (152) Adicionalmente demonstrou uma diminuição da progressão da aterosclerose e de lipoproteínas aterogênicas em humanos. (152)

A otimização da *clearance* de lrTGs pode vir a refletir uma diminuição da carga aterogênica.

6.2.1.4 Apolipoproteína C-III

A ApoC-III presente nas lrTGs pode contribuir diretamente para o desenvolvimento de aterosclerose por ativação do sinal pro-inflamatório nas células vasculares, reforçando a ligação da dislipidemia à aterosclerose. (153) Adicionalmente, tem como função a inibição da LPL, regulando a *clearance* e metabolismo dos TGs. Foi demonstrada não só a sua associação com as lrTGs mas também a sua ligação a inflamação, proliferação e progressão da aterosclerose. (154)

Um oligonucleotido antisense direcionado para o mRNA da ApoC-III bloqueando a sua síntese proteica pelo fígado foi desenvolvido, o volanesorsen. O volanesorsen demonstrou em estudos clínicos segurança e eficácia, e uma redução dos níveis plasmáticos de TGs em 70% e da Apo C-III em 40-80% dose-dependente. (154)

Estes efeitos no perfil lipídico podem diminuir o risco cardiovascular, pela sua predisposição em indivíduos com aterosclerose e doença coronária. Desta forma, o volanesorsen pode ser considerado para o tratamento de indivíduos com hipercolesterolemia para diminuir os níveis de TGs e ApoC-III. (155)

6.2.1.5 Lipoproteína(a)

A diminuição seletiva das concentrações de Lp(a) por terapêuticas baseadas em RNA é outra abordagem em estudo. A Lp(a) é reconhecida como um fator de risco para a doença cardiovascular por atravessar livremente a barreira endotelial, como abordado anteriormente. Adicionalmente, medeia o risco cardiovascular não só pela retenção na parede arterial, mas também pelo conteúdo de fosfolípidos oxidados proinflamatórios, e consequentes efeitos pro-aterogênicos. (156)

Um estudo clínico de fase II com um oligonucleótido direcionado para a Lp(a) demonstrou uma redução dos níveis até 71,6%. (156) Esta terapêutica está a ser desenvolvida para indivíduos com elevadas concentrações de Lp(a) e doença cardiovascular existente, com o objetivo de diminuir o risco cardiovascular associado a elevados valores de Lp(a).

6.2.2 Imunomoduladores

A inflamação crónica constitui um mecanismo patogénico da indução e progressão da aterosclerose, como já referido anteriormente. A inflamação relacionada com a aterosclerose é mediada por um conjunto de citocinas pro-inflamatórias, quimiocinas, lípidos bioativos e moléculas de adesão. Bloquear mecanismos inflamatórios aterogénicos chave pode ser benéfico para o tratamento da aterosclerose, e agentes terapêuticos direcionados a alguns destes mecanismos já se encontram em estudos pré-clínicos e clínicos. (157)

6.2.2.1 Via NLRP3/IL-1 β

A IL-1 β é uma citocina pró-inflamatória extensamente produzida pelos macrófagos, e em menor quantidade pelos neutrófilos e CEs. É sintetizada na forma inativa, sendo biologicamente ativada após clivagem pela caspase-1, mediada pelo NLRP3 por produção do inflamassoma. (158) Este inflamassoma pode ser induzido por cristais de colesterol depositados na placa de ateroma, estabelecendo uma relação entre o papel inflamatório da acumulação de colesterol na parede arterial e uma produção aumentada de IL-1 β na aterosclerose. (159). Nas CEs e CMLVs, a IL-1 β induz produção de TNF α que induz morte celular por mecanismos apoptóticos. (160)

Canakinumab é um anticorpo monoclonal humanizado anti-IL-1 β , já aprovado para outras indicações. No entanto, a sua habilidade de reduzir os marcadores inflamatórios sem efeito no perfil lipídico ou função plaquetária tornou-o num agente ideal para estudos de agentes inflamatórios no tratamento da aterosclerose. (161)

O ensaio clínico de fase III CANTOS, conduzido em doentes com história de enfarte do miocárdio e níveis elevados de PCR, demonstrou que o canakinumab reduz significativamente os eventos cardiovasculares recorrentes em comparação com o braço placebo, independentemente do perfil lipídico. (162) O ensaio CANTOS em sobreviventes de enfarte do miocárdio evidenciou que o eixo IL-1 é um contribuidor integral para a instabilidade da placa aterosclerótica. Adicionalmente, demonstrou que a inibição do eixo IL-1 tem o potencial de melhorar o prognóstico de doentes com aterosclerose coronária estabelecida. (161) O canakinumab é o primeiro agente anti-inflamatório com benefício provado num ensaio clínico de fase III em pacientes com aterosclerose. No entanto, canakinumab foi associado a maior número de infeções fatais e sepsis, e o custo da terapêutica monoclonal e aprovação regulamentar resultou na cessação da investigação para canakinumab.

Desta forma, anticorpos monoclonais direcionados para IL-1 β constituem uma potente ação anti-inflamatória e proteção contra o risco cardiovascular.

6.2.2.2 Seletivos para IL-1 α

O papel da IL-1 α é igualmente relevante no mecanismo aterosclerótico. IL-1 α ativa é libertada durante a necrose celular, um processo relevante na fisiopatologia da aterosclerose. Adicionalmente, CMLVs na lesão aterosclerótica produzem IL-1 α e promovem a senescência associada a inflamação vascular e ao fenótipo secretor. (163,164) Por outro lado, ácidos gordos são potentes indutores da inflamação vascular promovida pela IL-1 α , independente do inflamassoma e da IL-1 β . (165) A expressão de IL-1 α mostrou ser mais elevada nas células mononucleares periféricas em indivíduos com doença coronária comparativamente a indivíduos saudáveis, sugerindo potencial terapêutico na imunomodulação da IL-1 α . (166)

Múltiplos estudos têm demonstrado uma associação entre IL-1 α e a progressão das placas ateroscleróticas. Um estudo com *knockout* do gene IL-1 α em ratinhos com propensão a desenvolvimento de aterosclerose resultou numa diminuição significativa do tamanho da lesão aterosclerótica. (167)

Xilonix é um anticorpo monoclonal específico para a IL-1 α . Num pequeno ensaio clínico de fase II onde foi avaliada a capacidade de redução da inflamação da IL-1 α na estenose arterial femoral, o xilonix foi bem tolerado e observada tendência de melhoramento da estenose. A terapêutica com xilonix em indivíduos com doença vascular periférica avançada sugere potencial noutras patologias vasculares como aterosclerose, estenose e doenças isquémicas. (168)

6.2.2.3 Via IL-6

A Interleucina-6 (IL-6) é um mediador chave e biomarcador da inflamação aguda. A IL-6 produzida por células imunitárias, como monócitos ou macrófagos ou células T, possui propriedades pro-inflamatórias. É produzida durante os passos iniciais de infeção ou lesão induzindo a resposta imunitária e inflamatória. (169) As CMLVs também secretam IL-6 em resposta a estímulos inflamatórios.

O tocilizumab, um anticorpo monoclonal humanizado direcionado para o recetor da IL-6 é utilizado para inibir a cascata dependente da IL-6 que está patologicamente aumentado em doenças inflamatórias como Artrite Reumatoide. (170)

Estudos experimentais demonstraram que a IL-6 contribui para a iniciação e progressão da placa aterosclerótica. (171) Foi observado que níveis elevados de IL-6 em população saudável estão associados a elevado risco de enfarte do miocárdio (172), e provado que a IL-6 é um preditor independente de mortalidade em indivíduos com doença coronária. (173)

Tocilizumab pode reduzir a iniciação e progressão da aterosclerose (174), e estabilizar a placa aterosclerótica. (175) O tocilizumab mostrou aumentar os níveis plasmáticos de LDL-C, HDL-C, CT e TGs causando alterações aterogênicas no perfil lipídico. (176) A possibilidade de que o uso prolongado do inibidor da IL-6 possa aumentar o perfil lipídico limita o seu possível uso a longo prazo.

O ensaio clínico ASSAIL-MI explorou o papel cardioprotetor do Tocilizumab com foco no impacto no miocárdio. O tocilizumab foi associado a redução significativa da PCR comparativamente ao braço placebo. Este estudo mostrou indiretamente que o tocilizumab tem a capacidade de silenciar a inflamação e proteger os cardiomiócitos em indivíduos com enfarte do miocárdio. (177)

Adicionalmente, a cascata IL-6 aparenta exibir uma relação causal no desenvolvimento de doença coronária. A inibição desta cascata constitui uma nova abordagem na prevenção da doença coronária a estudar em ensaios aleatórios. (178) Se o tocilizumab tem ação na aterosclerose e o seu grau permanece inconclusivo.

6.2.2.4 Células Treg

Células T reguladoras (células Treg) disfuncionais estão envolvidas na inflamação crônica, em particular na doença aterosclerótica. Normalmente, as células Treg restringem a ação atacante das células T efetoras nos tecidos. Quando as células Treg estão disfuncionais este equilíbrio é comprometido. Indivíduos com doença coronária têm quantidades diminuídas e disfuncionais de células Treg circulatórias comparado com indivíduos saudáveis (179), e baixos níveis de células Treg circulatórias estão associados a um aumento do risco futuro de eventos coronários agudos. (180) Isto sugere um potencial terapêutico das células Treg em doenças onde este equilíbrio está alterado.

A função imunossupressora das células Treg, ativação e proliferação é regulada pela IL-2 em doses baixas. Doses baixas de IL-2 aumentam seletivamente a quantidade de células Treg em doentes com doenças inflamatórias, com melhoramento do controlo da doença. (181)

A administração de IL-2 fez aumentar as células Treg em ratinhos aterogênicos e foi associada a redução do desenvolvimento e progressão da doença com redução da placa de

ateroma. (182,183) Adicionalmente, a IL-2 demonstrou ativar células linfóides inatas tipo 2 (ILC2) que mostraram recentemente ter uma função ateroprotetora em ratinhos. (184)

Ensaio clínico de fase II está a estudar o efeito da terapêutica com doses baixas de IL-2 na promoção das células Treg e ILC2, e a redução da inflamação vascular em indivíduos com doença aterosclerótica. (185)

7 Conclusões

A doença cardiovascular, em particular a doença aterosclerótica tem um enorme impacto na sociedade. A prevenção da doença aterosclerótica baseia-se na gestão dos fatores de risco com intervenção no estilo de vida, dieta, atividade física, tabagismo e terapêutica farmacológica concomitante de comorbilidades de risco cardiovascular. As intervenções a nível do estilo de vida são o fundamento das estratégias de prevenção da aterosclerose e constituem o primeiro passo na gestão de fatores de risco.

A diminuição do LDL-C pelas estatinas permanece o alicerce do tratamento farmacológico da doença aterosclerótica pela sua eficácia e tolerância geral na população. Em indivíduos com risco cardiovascular elevado que não alcancem a diminuição desejada de LDL-C ou em indivíduos intolerantes a Estatinas, a combinação com outros agentes modificadoras das lipoproteínas, em particular o ezetimiba, deve ser considerada.

No entanto, o problema da intolerância ou resposta insuficiente a estatinas e outros agentes modificadores das lipoproteínas tornou necessário o desenvolvimento de novas terapêuticas que tratassem ou modulassem o desenvolvimento da aterosclerose. Nestas estão incluídos novos alvos terapêuticos no metabolismo das lipoproteínas como ácido bempedóico, ANGPTL3, ApoC-III e Lp(a); e agentes imunomoduladores.

Assim, o papel já conhecido da inflamação na aterosclerose levou à identificação de vários alvos terapêuticos. No entanto, o tratamento anti-inflamatório permanece um desafio por envolver mecanismos regulatórios e compensatórios que são difíceis de atingir farmacologicamente e especificamente. A investigação cardiovascular atual foca-se primeiramente em encontrar e atingir vias moleculares e inflamatórias presentes no mecanismo aterosclerótico que sejam clinicamente eficazes. A via inflamassoma NLRP3/IL-1 β e IL-6 mostrou uma grande relevância clínica no tratamento da doença coronária, e consequentemente, na aterosclerose, com agentes como canakinumab, xilonix, tocilizumab.

Estas novas moléculas têm demonstrado resultados promissores de eficácia e segurança em vários ensaios clínicos, sendo necessário, no entanto, reforçar a importância da avaliação contínua do benefício/risco da sua utilização a longo prazo no tratamento da aterosclerose.

Os avanços terapêuticos na doença aterosclerótica em conjunto com a prática preventiva e farmacológica vêm contribuir ainda mais para a possibilidade de gestão do risco cardiovascular da população e o bom prognóstico da doença aterosclerótica. Estas descobertas têm em vista

uma diminuição da prevalência da doença cardiovascular aterosclerótica e conseqüentemente a diminuição da mortalidade relacionada com eventos cardiovasculares.

Referências Bibliográficas

1. Costa J, Alarcão J, Araujo F, Ascensão R, Caldeira D, Fiorentino F, et al. The burden of atherosclerosis in Portugal. *Eur Hear J - Qual Care Clin Outcomes*. 2021 Mar 15;7(2):154–62.
2. INE. Causas de morte 2017 em Portugal. 2017.
3. Pahwa R, Jialal I. Atherosclerosis. *StatPearls*. 2023.
4. Mitrovic I. Cardiovascular Disorders: Vascular Disease. In: Hammer GD, McPhee SJ, editors. *Pathophysiology of Disease: An Introduction to Clinical Medicine*, 8e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2019.
5. Young B, O’Dowd G, Woodford P. *Wheater’s Functional Histology E-Book: Wheater’s Functional Histology E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2013.
6. Taylor AM, Bordoni B. Histology, Blood Vascular System. *StatPearls*. 2022 May 8;
7. Jebari-Benslaiman S, Galicia-García U, Larrea-Sebal A, Olaetxea JR, Alloza I, Vandembroeck K, et al. Pathophysiology of Atherosclerosis. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 1;23(6).
8. Gimbrone MA, García-Cardena G. Vascular endothelium, hemodynamics, and the pathobiology of atherosclerosis. *Cardiovasc Pathol*. 2013 Jan;22(1):9–15.
9. Félétou M. The Endothelium, Part I: Multiple Functions of the Endothelial Cells -- Focus on Endothelium-Derived Vasoactive Mediators. *Colloq Ser Integr Syst Physiol From Mol to Funct*. 2011 Jun 25;3(4):1–306.
10. Zhang B, Gu J, Qian M, Niu L, Zhou H, Ghista D. Correlation between quantitative analysis of wall shear stress and intima-media thickness in atherosclerosis development in carotid arteries. *Biomed Eng Online*. 2017 Dec 6;16(1):1–17.
11. Hays AG, Kelle S, Hirsch GA, Soleimanifard S, Yu J, Agarwal HK, et al. Regional coronary endothelial function is closely related to local early coronary atherosclerosis in patients with mild coronary artery disease: pilot study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012 May;5(3):341–8.
12. Mundi S, Massaro M, Scoditti E, Carluccio MA, van Hinsbergh VWM, Iruela-Arispe ML, et al. Endothelial permeability, LDL deposition, and cardiovascular risk factors—a review. *Cardiovasc Res [Internet]*. 2018 Jan 1 [cited 2023 Jan 26];114(1):35–52.

Available from: <https://academic.oup.com/circovasces/article/114/1/35/4710347>

13. Allahverdian S, Chehroudi AC, McManus BM, Abraham T, Francis GA. Contribution of intimal smooth muscle cells to cholesterol accumulation and macrophage-like cells in human atherosclerosis. *Circulation*. 2014;129(15):1551–9.
14. Yu XH, Fu YC, Zhang DW, Yin K, Tang CK. Foam cells in atherosclerosis. *Clin Chim Acta*. 2013 Sep 23;424:245–52.
15. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Rosenfeld ME, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1994 May;89(5):2462–78.
16. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of Endothelial Function for the Clinical Cardiologist. *Circulation*. 2002 Feb 5;105(5):546–9.
17. Esper RJ, Nordaby RA, Vilariño JO, Paragano A, Cacharrón JL, Machado RA. Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol* 2006 51. 2006 Feb 23;5(1):1–18.
18. Gimbrone MA, García-Cardena G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res*. 2016 Feb 19;118(4):620–36.
19. Zhou J, Li Y-S, Chien S. Shear Stress–Initiated Signaling and Its Regulation of Endothelial Function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014 Oct;34(10):2191–8.
20. Malek AM, Gibbons GH, Dzau VJ, Izumo S. Fluid shear stress differentially modulates expression of genes encoding basic fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor B chain in vascular endothelium. *J Clin Invest*. 1993 Oct 1;92(4):2013–21.
21. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012 Apr 1;33(7):829–37.
22. Chen J, Ye Z, Wang X, Chang J, Yang M, Zhong H, et al. Nitric oxide bioavailability dysfunction involves in atherosclerosis. *Biomed Pharmacother*. 2018 Jan;97:423–8.
23. Förstermann U, Xia N, Li H. Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circ Res*. 2017 Feb 17;120(4):713–35.
24. Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, Hoeg JM, Panza JA. The role of nitric oxide in endothelium-dependent vasodilation of hypercholesterolemic patients. *Circulation*. 1993

Dec;88(6):2541–7.

25. Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA. Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation*. 1993 May;87(5):1468–74.
26. Carr AC, McCall MR, Frei B. Oxidation of LDL by Myeloperoxidase and Reactive Nitrogen Species. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Jul;20(7):1716–23.
27. Steinbrecher UP, Zhang H, Loughheed M. Role of oxidatively modified LDL in atherosclerosis. *Free Radic Biol Med*. 1990 Jan;9(2):155–68.
28. Takahashi Y, Zhu H, Yoshimoto T. Essential Roles of Lipoxygenases in LDL Oxidation and Development of Atherosclerosis. *Antioxid Redox Signal*. 2005 Mar;7(3–4):425–31.
29. Levitan I, Volkov S, Subbaiah P V. Oxidized LDL: Diversity, Patterns of Recognition, and Pathophysiology. *Antioxid Redox Signal*. 2010 Jul;13(1):39–75.
30. Park JS, Bae SH. Interplay between Saturated Free Fatty Acids and mmLDL Induces Inflammation in LPS-stimulated Macrophages. *Korean Circ J*. 2021;51(1):81.
31. Pober JS, Sessa WC. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2007 Oct;7(10):803–15.
32. Liao JK. Linking endothelial dysfunction with endothelial cell activation. *J Clin Invest*. 2013 Feb 1;123(2):540–1.
33. De Paoli F, Staels B, Chinetti-Gbaguidi G. Macrophage Phenotypes and Their Modulation in Atherosclerosis. *Circ J*. 2014;78(8):1775–81.
34. Marques LR, Diniz TA, Antunes BM, Rossi FE, Caperuto EC, Lira FS, et al. Reverse Cholesterol Transport: Molecular Mechanisms and the Non-medical Approach to Enhance HDL Cholesterol. *Front Physiol*. 2018 May 15;9.
35. Mietus-Snyder M, Gowri MS, Pitas RE. Class A Scavenger Receptor Up-regulation in Smooth Muscle Cells by Oxidized Low Density Lipoprotein. *J Biol Chem*. 2000 Jun;275(23):17661–70.
36. Choi HY, Rahmani M, Wong BW, Allahverdian S, McManus BM, Pickering JG, et al. ATP-Binding Cassette Transporter A1 Expression and Apolipoprotein A-I Binding Are Impaired in Intima-Type Arterial Smooth Muscle Cells. *Circulation*. 2009 Jun 30;119(25):3223–31.

37. Watson MG, Byrne HM, Macaskill C, Myerscough MR. A two-phase model of early fibrous cap formation in atherosclerosis. *J Theor Biol.* 2018 Nov;456:123–36.
38. Forsyth EA, Aly HM, Neville RF, Sidawy AN. Proliferation and extracellular matrix production by human infragenicular smooth muscle cells in response to interleukin-1 β . *J Vasc Surg.* 1997 Dec;26(6):1002–8.
39. Bennett MR, Sinha S, Owens GK. Vascular Smooth Muscle Cells in Atherosclerosis. *Circ Res.* 2016 Feb 19;118(4):692–702.
40. Thim T, Hagensen MK, Bentzon JF, Falk E. From vulnerable plaque to atherothrombosis. *J Intern Med.* 2008 May;263(5):506–16.
41. Linton MF, Babaev VR, Huang J, Linton EF, Tao H, Yancey PG. Macrophage Apoptosis and Efferocytosis in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circ J.* 2016;80(11):2259–68.
42. Shi X, Gao J, Lv Q, Cai H, Wang F, Ye R, et al. Calcification in Atherosclerotic Plaque Vulnerability: Friend or Foe? *Front Physiol.* 2020 Feb 5;11.
43. Stefanadis C, Antoniou C, Tsiachris D, Pietri P. Coronary Atherosclerotic Vulnerable Plaque: Current Perspectives. *J Am Heart Assoc.* 2017 Mar;6(3).
44. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002 Dec;420(6917):868–74.
45. Vergallo R, Crea F. Atherosclerotic Plaque Healing. Jarcho JA, editor. *N Engl J Med.* 2020 Aug 27;383(9):846–57.
46. Lyaker M, Tulman D, Dimitrova G, Pin R, Papadimos T. Arterial embolism. *Int J Crit Illn Inj Sci.* 2013;3(1):77.
47. Wang JC, Bennett M. Aging and atherosclerosis: Mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence. *Circ Res.* 2012 Jul 6;111(2):245–59.
48. Willer CJ, Schmidt EM, Sengupta S, Peloso GM, Gustafsson S, Kanoni S, et al. Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. *Nat Genet.* 2013 Nov 6;45(11):1274–83.
49. Rafieian-Kopaei M, Setorki M, Doudi M, Baradaran A, Nasri H. Atherosclerosis: Process, Indicators, Risk Factors and New Hopes. *Int J Prev Med.* 2014;5(8).
50. Brahm AJ, Hegele RA. Combined hyperlipidemia. *Curr Opin Lipidol.* 2016 Apr;27(2):131–40.
51. Veerkamp MJ, de Graaf J, Bredie SJH, Hendriks JCM, Demacker PNM, Stalenhoef

- AFH. Diagnosis of Familial Combined Hyperlipidemia Based on Lipid Phenotype Expression in 32 Families. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 Feb;22(2):274–82.
52. Kovacic S, Bakran M. Genetic Susceptibility to Atherosclerosis. *Stroke Res Treat.* 2012;2012.
 53. Akioyamen LE, Genest J, Shan SD, Reel RL, Albaum JM, Chu A, et al. Estimating the prevalence of heterozygous familial hypercholesterolaemia: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2017 Sep 1;7(9):e016461.
 54. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J.* 2020 Jan 1;41(1):111–88.
 55. Al-Rasadi K, Al-Waili K, Al-Sabti HA, Al-Hinai A, Al-Hashmi K, Al-Zakwani I, et al. Criteria for Diagnosis of Familial Hypercholesterolemia: A Comprehensive Analysis of the Different Guidelines, Appraising their Suitability in the Omani Arab Population. *Oman Med J.* 2014 Mar 16;29(2):85–91.
 56. Cuchel M, Bruckert E, Ginsberg HN, Raal FJ, Santos RD, Hegele RA, et al. Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society. *Eur Heart J.* 2014 Aug 2;35(32):2146–57.
 57. Guthikonda S, Haynes WG. Homocysteine: Role and Implications in Atherosclerosis. 2006;
 58. Ostchega Y, Fryar CD, Nwankwo T, Nguyen DT. Hypertension Prevalence Among Adults Aged 18 and Over: United States, 2017-2018. *NCHS Data Brief.* 2020 Apr;(364):1–8.
 59. Tsao CW, Aday AW, Almarzooq ZI, Anderson CAM, Arora P, Avery CL, et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2023 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2023 Feb 21;147(8).
 60. Creamer MR, Wang TW, Babb S, Cullen KA, Day H, Willis G, et al. Tobacco Product Use and Cessation Indicators Among Adults — United States, 2018. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2019 Nov 15;68(45):1013–9.
 61. Man JJ, Beckman JA, Jaffe IZ. Sex as a Biological Variable in Atherosclerosis. *Circ Res.*

- 2020;1297–319.
62. Rodgers JL, Jones J, Bolleddu SI, Vanthenapalli S, Rodgers LE, Shah K, et al. Cardiovascular Risks Associated with Gender and Aging. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2019 Apr 27;6(2):19.
 63. Mercado C, Jaimes EA. Cigarette smoking as a risk factor for atherosclerosis and renal disease: Novel pathogenic insights. *Curr Hypertens Rep*. 2007 Mar 26;9(1):66–72.
 64. Lekakis J, Papamichael C, Vemmos C, Nanas J, Kontoyannis D, Stamatelopoulos S, et al. Effect of Acute Cigarette Smoking on Endothelium-Dependent Brachial Artery Dilatation in Healthy Individuals. *Am J Cardiol*. 1997 Feb;79(4):529–31.
 65. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation*. 1993 Nov;88(5):2149–55.
 66. Barry J, Mead K, Nabel EG, Rocco MB, Campbell S, Fenton T, et al. Effect of smoking on the activity of ischemic heart disease. *JAMA*. 1989 Jan 20;261(3):398–402.
 67. Ference BA, Graham I, Tokgozoglul, Catapano AL. Impact of Lipids on Cardiovascular Health. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Sep;72(10):1141–56.
 68. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaboration, Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet (London, England)*. 2010 Nov 13;376(9753):1670–81.
 69. Silverman MG, Ference BA, Im K, Wiviott SD, Giugliano RP, Grundy SM, et al. Association Between Lowering LDL-C and Cardiovascular Risk Reduction Among Different Therapeutic Interventions. *JAMA*. 2016 Sep 27;316(12):1289.
 70. Ference BA, Yoo W, Alesh I, Mahajan N, Mirowska KK, Mewada A, et al. Effect of Long-Term Exposure to Lower Low-Density Lipoprotein Cholesterol Beginning Early in Life on the Risk of Coronary Heart Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Dec;60(25):2631–9.
 71. Nordestgaard BG, Langsted A. Lipoprotein (a) as a cause of cardiovascular disease: insights from epidemiology, genetics, and biology. *J Lipid Res*. 2016 Nov;57(11):1953–75.

72. Linton MF, Yancey PG, Davies SS, Jerome WG, Linton EF, Song WL, et al. The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis. *Science* (80-). 2019 Jan 3;111(2877):166–86.
73. Talayero BG, Sacks FM. The role of triglycerides in atherosclerosis. *Curr Cardiol Rep*. 2011 Dec 4;13(6):544–52.
74. The Emerging Risk Factors Collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*. 2010 Jun;375(9733):2215–22.
75. Donahoe SM, Stewart GC, McCabe CH, Mohanavelu S, Murphy SA, Cannon CP, et al. Diabetes and Mortality Following Acute Coronary Syndromes. *JAMA*. 2007 Aug 15;298(7):765.
76. Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD, Burden AC, Morris A, Waugh NR, et al. Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia*. 2003 Jun 1;46(6):760–5.
77. Annuzzi G, Iovine C, Mandarino B, Patti L, Di Marino L, Riccardi G, et al. Effect of acute exogenous hyperinsulinaemia on very low density lipoprotein subfraction composition in normal subjects. *Eur J Clin Invest*. 2001 Feb;31(2):118–24.
78. Chillarón JJ, Flores Le-Roux JA, Benaiges D, Pedro-Botet J. Type 1 diabetes, metabolic syndrome and cardiovascular risk. *Metabolism*. 2014 Feb;63(2):181–7.
79. Brownrigg JRW, Hughes CO, Burleigh D, Karthikesalingam A, Patterson BO, Holt PJ, et al. Microvascular disease and risk of cardiovascular events among individuals with type 2 diabetes: a population-level cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2016 Jul;4(7):588–97.
80. Taskinen M-R, Borén J. New insights into the pathophysiology of dyslipidemia in type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2015 Apr;239(2):483–95.
81. Taskinen M-R, Borén J. Why Is Apolipoprotein CIII Emerging as a Novel Therapeutic Target to Reduce the Burden of Cardiovascular Disease? *Curr Atheroscler Rep*. 2016 Oct 9;18(10):59.
82. Yuan T, Yang T, Chen H, Fu D, Hu Y, Wang J, et al. New insights into oxidative stress and inflammation during diabetes mellitus-accelerated atherosclerosis. *Redox Biol*. 2019 Jan 1;20:247–60.

83. Ross R. Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. Epstein FH, editor. *N Engl J Med*. 1999 Jan 14;340(2):115–26.
84. Emini Veseli B, Perrotta P, De Meyer GRA, Roth L, Van der Donckt C, Martinet W, et al. Animal models of atherosclerosis. *Eur J Pharmacol*. 2017 Dec;816:3–13.
85. 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 Mar 23;342(12):836–43.
86. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir 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 Apr;350(14):1387–97.
87. Zacho J, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, Grande P, Sillesen H, Nordestgaard BG. Genetically Elevated C-Reactive Protein and Ischemic Vascular Disease. *N Engl J Med*. 2008 Oct 30;359(18):1897–908.
88. Gilbert JA, Quinn RA, Debelius J, Xu ZZ, Morton J, Garg N, et al. Microbiome-wide association studies link dynamic microbial consortia to disease. *Nature*. 2016 Jul 7;535(7610):94–103.
89. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View. *Cell*. 2012 Mar;148(6):1258–70.
90. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes*. 2008 Jun 1;57(6):1470–81.
91. Eshghjoo S, Jayaraman A, Sun Y, Alaniz RC. Microbiota-Mediated Immune Regulation in Atherosclerosis. *Molecules*. 2021 Jan 1;26(1):179.
92. Jonsson AL, Bäckhed F. Role of gut microbiota in atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol*. 2017 Feb 1;14(2):79–87.
93. Rosenfeld M, Ann Campbell L. Pathogens and atherosclerosis: Update on the potential contribution of multiple infectious organisms to the pathogenesis of atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 2011 Nov 23;106(11):858–67.
94. Smeeth L, Thomas SL, Hall AJ, Hubbard R, Farrington P, Vallance P. Risk of Myocardial Infarction and Stroke after Acute Infection or Vaccination. *N Engl J Med*.

2004 Dec 16;351(25):2611–8.

95. Rossello X, Dorresteyn JA, Janssen A, Lambrinou E, Scherrenberg M, Bonnefoy-Cudraz E, et al. Risk prediction tools in cardiovascular disease prevention: A report from the ESC Prevention of CVD Programme led by the European Association of Preventive Cardiology (EAPC) in collaboration with the Acute Cardiovascular Care Association (ACCA) and the As. *Eur J Prev Cardiol.* 2019 Sep 24;26(14):1534–44.
96. de Vries TI, Cooney MT, Selmer RM, Hageman SHJ, Pennells LA, Wood A, et al. SCORE2-OP risk prediction algorithms: estimating incident cardiovascular event risk in older persons in four geographical risk regions. *Eur Heart J.* 2021 Jul 1;42(25):2455–67.
97. Hageman S, Pennells L, Ojeda F, Kaptoge S, Kuulasmaa K, de Vries T, et al. SCORE2 risk prediction algorithms: new models to estimate 10-year risk of cardiovascular disease in Europe. *Eur Heart J.* 2021 Jul 1;42(25):2439–54.
98. Dalen JE, Devries S. Diets to Prevent Coronary Heart Disease 1957-2013: What Have We Learned? *Am J Med.* 2014 May;127(5):364–9.
99. Riccardi G, Giosuè A, Calabrese I, Vaccaro O. Dietary recommendations for prevention of atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 2022 Mar 25;118(5):1188–204.
100. Chen M, Li Y, Sun Q, Pan A, Manson JE, Rexrode KM, et al. Dairy fat and risk of cardiovascular disease in 3 cohorts of US adults. *Am J Clin Nutr.* 2016 Nov;104(5):1209–17.
101. Moore TJ, Vollmer WM, Appel LJ, Sacks FM, Svetkey LP, Vogt TM, et al. Effect of Dietary Patterns on Ambulatory Blood Pressure. *Hypertension.* 1999 Sep;34(3):472–7.
102. Shaw KA, Gennat HC, O'Rourke P, Del Mar C. Exercise for overweight or obesity. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006 Oct 18;2010(1).
103. Huffman KM, Hawk VH, Henes ST, Ocampo CI, Orenduff MC, Slentz CA, et al. Exercise effects on lipids in persons with varying dietary patterns—does diet matter if they exercise? Responses in Studies of a Targeted Risk Reduction Intervention through Defined Exercise I. *Am Heart J.* 2012 Jul;164(1):117–24.
104. Zomer E, Gurusamy K, Leach R, Trimmer C, Lobstein T, Morris S, et al. Interventions that cause weight loss and the impact on cardiovascular risk factors: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2016 Oct;17(10):1001–11.

105. Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2003 May;77(5):1146–55.
106. Schwingshackl L, Bogensberger B, Benčić A, Knüppel S, Boeing H, Hoffmann G. Effects of oils and solid fats on blood lipids: a systematic review and network meta-analysis. *J Lipid Res.* 2018 Sep;59(9):1771–82.
107. Harris WS, Mozaffarian D, Rimm E, Kris-Etherton P, Rudel LL, Appel LJ, et al. Omega-6 Fatty Acids and Risk for Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2009 Feb 17;119(6):902–7.
108. Brown L, Rosner B, Willett WW, Sacks FM. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 1999 Jan;69(1):30–42.
109. Huang J, Pan G, Jiang H, Li W, Dong J, Zhang H, et al. A meta-analysis between dietary carbohydrate intake and colorectal cancer risk: evidence from 17 observational studies. *Biosci Rep.* 2017 Apr 30;37(2).
110. Poli A, Marangoni F, Paoletti R, Mannarino E, Lupattelli G, Notarbartolo A, et al. Non-pharmacological control of plasma cholesterol levels. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008 Feb;18(2):S1–16.
111. Wood AM, Kaptoge S, Butterworth AS, Willeit P, Warnakula S, Bolton T, et al. Risk thresholds for alcohol consumption: combined analysis of individual-participant data for 599 912 current drinkers in 83 prospective studies. *Lancet.* 2018 Apr;391(10129):1513–23.
112. Maeda K, Noguchi Y, Fukui T. The effects of cessation from cigarette smoking on the lipid and lipoprotein profiles: a meta-analysis. *Prev Med (Baltim).* 2003 Oct;37(4):283–90.
113. Frohlich J, Al-Sarraf A. Cardiovascular risk and atherosclerosis prevention. *Cardiovasc Pathol.* 2013 Jan;22(1):16–8.
114. Adams SP, Sekhon SS, Wright JM. Rosuvastatin for lowering lipids. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Nov 21;2017(1).
115. Barter PJ, Brandrup-Wognsen G, Palmer MK, Nicholls SJ. Effect of statins on HDL-C: a complex process unrelated to changes in LDL-C: analysis of the VOYAGER Database.

- J Lipid Res. 2010 Jun;51(6):1546–53.
116. Mach F, Ray KK, Wiklund O, Corsini A, Catapano AL, Bruckert E, et al. Adverse effects of statin therapy: perception vs. the evidence – focus on glucose homeostasis, cognitive, renal and hepatic function, haemorrhagic stroke and cataract. *Eur Heart J*. 2018 Jul 14;39(27):2526–39.
 117. Preiss D. Risk of Incident Diabetes With Intensive-Dose Compared With Moderate-Dose Statin Therapy. *JAMA*. 2011 Jun 22;305(24):2556.
 118. Stock J. Statin-associated muscle symptoms EAS Consensus Panel paper focuses on this neglected patient group. *Atherosclerosis*. 2015 Sep;242(1):346–50.
 119. Law M, Rudnicka AR. Statin Safety: A Systematic Review. *Am J Cardiol*. 2006 Apr;97(8):S52–60.
 120. Tsujita K, Sugiyama S, Sumida H, Shimomura H, Yamashita T, Yamanaga K, et al. Impact of Dual Lipid-Lowering Strategy With Ezetimibe and Atorvastatin on Coronary Plaque Regression in Patients With Percutaneous Coronary Intervention. *J Am Coll Cardiol*. 2015 Aug;66(5):495–507.
 121. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, McCagg A, White JA, Theroux P, et al. Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 2015 Jun 18;372(25):2387–97.
 122. Pandor A, Ara RM, Tumor I, Wilkinson AJ, Paisley S, Duenas A, et al. Ezetimibe monotherapy for cholesterol lowering in 2,722 people: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Intern Med*. 2009 May;265(5):568–80.
 123. Morrone D, Weintraub WS, Toth PP, Hanson ME, Lowe RS, Lin J, et al. Lipid-altering efficacy of ezetimibe plus statin and statin monotherapy and identification of factors associated with treatment response: A pooled analysis of over 21,000 subjects from 27 clinical trials. *Atherosclerosis*. 2012 Aug;223(2):251–61.
 124. Baigent C, Landray MJ, Reith C, Emberson J, Wheeler DC, Tomson C, et al. The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2011 Jun;377(9784):2181–92.
 125. Jones MR, Nwose OM. Role of Colesevelam in Combination Lipid-Lowering Therapy. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2013 Oct 3;13(5):315–23.

126. Toth P, Phan, Dayspring T. Ezetimibe therapy: mechanism of action and clinical update. *Vasc Health Risk Manag.* 2012 Jul;415.
127. Bergheanu SC, Bodde MC, Jukema JW. Pathophysiology and treatment of atherosclerosis: Current view and future perspective on lipoprotein modification treatment. *Netherlands Hear J.* 2017 Apr 1;25(4):231.
128. Solanki A, Bhatt LK, Johnston TP. Evolving targets for the treatment of atherosclerosis. *Pharmacol Ther.* 2018 Jul 1;187:1–12.
129. Sabatine MS, Giugliano RP, Wiviott SD, Raal FJ, Blom DJ, Robinson J, et al. Efficacy and Safety of Evolocumab in Reducing Lipids and Cardiovascular Events. *N Engl J Med.* 2015 Apr 16;372(16):1500–9.
130. Robinson JG, Farnier M, Krempf M, Bergeron J, Luc G, Averna M, et al. Efficacy and Safety of Alirocumab in Reducing Lipids and Cardiovascular Events. *N Engl J Med.* 2015 Apr 16;372(16):1489–99.
131. Gaudet D, Kereiakes DJ, McKenney JM, Roth EM, Hanotin C, Gipe D, et al. Effect of Alirocumab, a Monoclonal Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin 9 Antibody, on Lipoprotein(a) Concentrations (a Pooled Analysis of 150 mg Every Two Weeks Dosing from Phase 2 Trials). *Am J Cardiol.* 2014 Sep;114(5):711–5.
132. Nicholls SJ, Puri R, Anderson T, Ballantyne CM, Cho L, Kastelein JJP, et al. Effect of Evolocumab on Progression of Coronary Disease in Statin-Treated Patients. *JAMA.* 2016 Dec 13;316(22):2373.
133. Cicero AF, Tartagni E, Ertek S. Safety and tolerability of injectable lipid-lowering drugs: a review of available clinical data. *Expert Opin Drug Saf.* 2014 Aug 24;13(8):1023–30.
134. Chapman MJ, Redfern JS, McGovern ME, Giral P. Niacin and fibrates in atherogenic dyslipidemia: Pharmacotherapy to reduce cardiovascular risk. *Pharmacol Ther.* 2010 Jun;126(3):314–45.
135. Davidson MH, Armani A, McKenney JM, Jacobson TA. Safety Considerations with Fibrate Therapy. *Am J Cardiol.* 2007 Mar;99(6):S3–18.
136. Franssen R, Vergeer M, Stroes ESG, Kastelein JJP. Combination statin-fibrate therapy: safety aspects. *Diabetes, Obes Metab.* 2009 Feb;11(2):89–94.
137. Ballantyne CM, Bays HE, Kastelein JJ, Stein E, Isaacsohn JL, Braeckman RA, et al.

- Efficacy and Safety of Eicosapentaenoic Acid Ethyl Ester (AMR101) Therapy in Statin-Treated Patients With Persistent High Triglycerides (from the ANCHOR Study). *Am J Cardiol.* 2012 Oct;110(7):984–92.
138. Wei MY, Jacobson TA. Effects of Eicosapentaenoic Acid Versus Docosahexaenoic Acid on Serum Lipids: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Curr Atheroscler Rep.* 2011 Dec 6;13(6):474–83.
 139. Kotwal S, Jun M, Sullivan D, Perkovic V, Neal B. Omega 3 Fatty Acids and Cardiovascular Outcomes. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2012 Nov;5(6):808–18.
 140. van der Tuin SJL, Kühnast S, Berbée JFP, Verschuren L, Pieterman EJ, Havekes LM, et al. Anacetrapib reduces (V)LDL cholesterol by inhibition of CETP activity and reduction of plasma PCSK9. *J Lipid Res.* 2015 Nov;56(11):2085–93.
 141. Barter PJ, Caulfield M, Eriksson M, Grundy SM, Kastelein JJP, Komajda M, et al. Effects of Torcetrapib in Patients at High Risk for Coronary Events. *N Engl J Med.* 2007 Nov 22;357(21):2109–22.
 142. Lim GB. Dalcetrapib raises HDL-cholesterol level, but does not reduce cardiac risk. *Nat Rev Cardiol.* 2013 Jan 20;10(1):5–5.
 143. Aronow WS. Effect of evacetrapib on cardiovascular outcomes in patients with high-risk cardiovascular disease. *J Thorac Dis.* 2017 Jul;9(7):1822–5.
 144. HPS3/TIMI55–REVEAL Collaborative Group, Bowman L, Hopewell JC, Chen F, Wallendszus K, Stevens W, et al. Effects of Anacetrapib in Patients with Atherosclerotic Vascular Disease. *N Engl J Med.* 2017 Sep 28;377(13):1217–27.
 145. Fitzgerald K, White S, Borodovsky A, Bettencourt BR, Strahs A, Clausen V, et al. A Highly Durable RNAi Therapeutic Inhibitor of PCSK9. *N Engl J Med.* 2017 Jan 5;376(1):41–51.
 146. Ray KK, Landmesser U, Leiter LA, Kallend D, Dufour R, Karakas M, et al. Inclisiran in Patients at High Cardiovascular Risk with Elevated LDL Cholesterol. *N Engl J Med.* 2017 Apr 13;376(15):1430–40.
 147. Saeed A, Ballantyne CM. Bempedoic Acid (ETC-1002). *Cardiol Clin.* 2018 May;36(2):257–64.
 148. Ray KK, Bays HE, Catapano AL, Lalwani ND, Bloedon LT, Sterling LR, et al. Safety

- and Efficacy of Bempedoic Acid to Reduce LDL Cholesterol. *N Engl J Med*. 2019 Mar 14;380(11):1022–32.
149. Ballantyne CM, Banach M, Mancini GBJ, Lepor NE, Hanselman JC, Zhao X, et al. Efficacy and safety of bempedoic acid added to ezetimibe in statin-intolerant patients with hypercholesterolemia: A randomized, placebo-controlled study. *Atherosclerosis*. 2018 Oct;277:195–203.
 150. Stitzel NO, Khera A V., Wang X, Bierhals AJ, Vourakis AC, Sperry AE, et al. ANGPTL3 Deficiency and Protection Against Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Apr;69(16):2054–63.
 151. Gaudet D, Gipe DA, Pordy R, Ahmad Z, Cuchel M, Shah PK, et al. ANGPTL3 Inhibition in Homozygous Familial Hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2017 Jul 20;377(3):296–7.
 152. Graham MJ, Lee RG, Brandt TA, Tai L-J, Fu W, Peralta R, et al. Cardiovascular and Metabolic Effects of ANGPTL3 Antisense Oligonucleotides. *N Engl J Med*. 2017 Jul 20;377(3):222–32.
 153. Kawakami A, Yoshida M. Apolipoprotein CIII Links Dyslipidemia with Atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*. 2009;16(1):6–11.
 154. Rocha NA, East C, Zhang J, McCullough PA. ApoCIII as a Cardiovascular Risk Factor and Modulation by the Novel Lipid-Lowering Agent Volanesorsen. *Curr Atheroscler Rep*. 2017 Dec 9;19(12):62.
 155. Kolovou G, Kolovou V, Katsiki N. Volanesorsen: A New Era in the Treatment of Severe Hypertriglyceridemia. *J Clin Med*. 2022 Feb 13;11(4):982.
 156. Viney NJ, van Capelleveen JC, Geary RS, Xia S, Tami JA, Yu RZ, et al. Antisense oligonucleotides targeting apolipoprotein(a) in people with raised lipoprotein(a): two randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trials. *Lancet*. 2016 Nov;388(10057):2239–53.
 157. Chistiakov DA, Melnichenko AA, Grechko A V., Myasoedova VA, Orekhov AN. Potential of anti-inflammatory agents for treatment of atherosclerosis. *Exp Mol Pathol*. 2018 Apr 1;104(2):114–24.
 158. Jin C, Flavell RA. Molecular Mechanism of NLRP3 Inflammasome Activation. *J Clin Immunol*. 2010 Sep 30;30(5):628–31.

159. 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 Apr 29;464(7293):1357–61.
160. Niemann-Jönsson A, Ares MPS, Yan Z-Q, Bu D-X, Fredrikson GN, Brånén L, et al. Increased Rate of Apoptosis in Intimal Arterial Smooth Muscle Cells Through Endogenous Activation of TNF Receptors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Dec;21(12):1909–14.
161. Thompson PL, Nidorf SM. Anti-inflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease: lessons from the CANTOS trial. *J Thorac Dis*. 2018 Feb;10(2):695–8.
162. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med*. 2017 Sep 21;377(12):1119–31.
163. Clarke MCH, Talib S, Figg NL, Bennett MR. Vascular Smooth Muscle Cell Apoptosis Induces Interleukin-1–Directed Inflammation. *Circ Res*. 2010 Feb 5;106(2):363–72.
164. Gardner SE, Humphry M, Bennett MR, Clarke MCH. Senescent Vascular Smooth Muscle Cells Drive Inflammation Through an Interleukin-1 α –Dependent Senescence-Associated Secretory Phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015 Sep;35(9):1963–74.
165. Freigang S, Ampenberger F, Weiss A, Kanneganti T-D, Iwakura Y, Hersberger M, et al. Fatty acid–induced mitochondrial uncoupling elicits inflammasome-independent IL-1 α and sterile vascular inflammation in atherosclerosis. *Nat Immunol*. 2013 Oct 1;14(10):1045–53.
166. Wæhre T, Yndestad A, Smith C, Haug T, Tunheim SH, Gullestad L, et al. Increased Expression of Interleukin-1 in Coronary Artery Disease With Downregulatory Effects of HMG-CoA Reductase Inhibitors. *Circulation*. 2004 Apr 27;109(16):1966–72.
167. Kamari Y, Shaish A, Shemesh S, Vax E, Grosskopf I, Dotan S, et al. Reduced atherosclerosis and inflammatory cytokines in apolipoprotein-E-deficient mice lacking bone marrow-derived interleukin-1 α . *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Feb;405(2):197–203.
168. El Sayed H, Kerensky R, Stecher M, Mohanty P, Davies M. A randomized phase II study

- of Xilonix, a targeted therapy against interleukin 1 α , for the prevention of superficial femoral artery restenosis after percutaneous revascularization. *J Vasc Surg*. 2016 Jan;63(1):133-141.e1.
169. Naugler WE, Karin M. The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. *Trends Mol Med*. 2008 Mar;14(3):109–19.
 170. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab, for the treatment of autoimmune diseases. *FEBS Lett*. 2011 Dec 1;585(23):3699–709.
 171. Schieffer B, Selle T, Hilfiker A, Hilfiker-Kleiner D, Grote K, Tietge UJF, et al. Impact of Interleukin-6 on Plaque Development and Morphology in Experimental Atherosclerosis. *Circulation*. 2004 Nov 30;110(22):3493–500.
 172. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma Concentration of Interleukin-6 and the Risk of Future Myocardial Infarction Among Apparently Healthy Men. *Circulation*. 2000 Apr 18;101(15):1767–72.
 173. Lindmark E, Diderholm E, Wallentin L, Siegbahn A. Relationship Between Interleukin 6 and Mortality in Patients With Unstable Coronary Artery Disease. *JAMA*. 2001 Nov 7;286(17):2107.
 174. Akita K, Isoda K, Sato-Okabayashi Y, Kadoguchi T, Kitamura K, Ohtomo F, et al. An Interleukin-6 Receptor Antibody Suppresses Atherosclerosis in Atherogenic Mice. *Front Cardiovasc Med*. 2017 Dec 22;4.
 175. Peeters W, Hellings WE, de Kleijn DPV, de Vries JPPM, Moll FL, Vink A, et al. Carotid Atherosclerotic Plaques Stabilize After Stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009 Jan;29(1):128–33.
 176. Pierini FS, Botta E, Soriano ER, Martin M, Boero L, Meroño T, et al. Effect of Tocilizumab on LDL and HDL Characteristics in Patients with Rheumatoid Arthritis. An Observational Study. *Rheumatol Ther*. 2021 Jun 2;8(2):803–15.
 177. Broch K, Anstensrud AK, Woxholt S, Sharma K, Tøllefsen IM, Bendz B, et al. Randomized Trial of Interleukin-6 Receptor Inhibition in Patients With Acute ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2021 Apr;77(15):1845–55.
 178. Interleukin-6 Receptor Mendelian Randomisation Analysis (IL6R MR) Consortium, Swerdlow DI, Holmes M V, Kuchenbaecker KB, Engmann JEL, Shah T, et al. The

- interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis. *Lancet* (London, England). 2012 Mar 31;379(9822):1214–24.
179. Meng X, Yang J, Dong M, Zhang K, Tu E, Gao Q, et al. Regulatory T cells in cardiovascular diseases. *Nat Rev Cardiol*. 2016 Mar 3;13(3):167–79.
180. Wigren M, Björkbacka H, Andersson L, Ljungcrantz I, Fredrikson GN, Persson M, et al. Low Levels of Circulating CD4+FoxP3+ T Cells Are Associated With an Increased Risk for Development of Myocardial Infarction But Not for Stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012 Aug;32(8):2000–4.
181. Klatzmann D, Abbas AK. The promise of low-dose interleukin-2 therapy for autoimmune and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol*. 2015 May 17;15(5):283–94.
182. Dietrich T, Hucko T, Schneemann C, Neumann M, Menrad A, Willuda J, et al. Local delivery of IL-2 reduces atherosclerosis via expansion of regulatory T cells. *Atherosclerosis*. 2012 Feb;220(2):329–36.
183. Dinh TN, Kyaw TS, Kanellakis P, To K, Tipping P, Toh B-H, et al. Cytokine Therapy With Interleukin-2/Anti-Interleukin-2 Monoclonal Antibody Complexes Expands CD4+CD25+Foxp3+ Regulatory T Cells and Attenuates Development and Progression of Atherosclerosis. *Circulation*. 2012 Sep 4;126(10):1256–66.
184. Newland SA, Mohanta S, Clément M, Taleb S, Walker JA, Nus M, et al. Type-2 innate lymphoid cells control the development of atherosclerosis in mice. *Nat Commun*. 2017 Jun 7;8(1):15781.
185. Sriranjana R, Zhao TX, Tarkin J, Hubsch A, Helmy J, Vamvaka E, et al. Low-dose interleukin 2 for the reduction of vascular inflammation in acute coronary syndromes (IVORY): protocol and study rationale for a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase II clinical trial. *BMJ Open*. 2022 Oct 7;12(10):e062602.