

**UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL**



**FUNÇÃO ENDOTELIAL E A SUA RELAÇÃO COM A COMPOSIÇÃO DA
PLACA ATEROSCLERÓTICA**

Lara Gameira Borges
Mestrado em Biologia Humana e Ambiente
2009

**UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL**



**FUNÇÃO ENDOTELIAL E A SUA RELAÇÃO COM A COMPOSIÇÃO DA
PLACA ATEROSCLERÓTICA**

Lara Gameira Borges
Mestrado em Biologia Humana e Ambiente
2009

Sob a orientação de:
Doutora Ana Crespo, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa
Doutora Teresa Pinheiro, Instituto Tecnológico e Nuclear

"A dúvida é o princípio da sabedoria."

Aristóteles

Agradecimentos

Na elaboração deste trabalho foram muitas as pessoas que me auxiliaram e quero, por isso, aqui deixar o meu agradecimento às que foram essenciais à sua concretização.

À minha orientadora, Doutora Teresa Pinheiro, pela dedicação, disponibilidade, preocupação e acompanhamento constantes. Obrigada por todos os ensinamentos que me transmitiu, estes permitiram-me crescer enquanto profissional e enquanto pessoa. Pelos seus conselhos e críticas que serviram sempre, para melhorar o meu desempenho e empenho, para que conseguisse atingir os meus objectivos com a melhor das motivações.

À Doutora Ana Crespo, professora e coordenadora do mestrado em Biologia Humana e Ambiente, pela sua disponibilidade e atenção sempre que precisei de ajuda.

À Doutora Patrícia Napoleão, pela sua amabilidade em acompanhar o meu trabalho prático, sabendo sempre responder às minhas dúvidas. Obrigada pelos conselhos e toda a informação cedida.

À Doutora Deodália Dias, professora e coordenadora do mestrado em Biologia Humana e Ambiente, por todo o apoio e motivação.

À Ana, por tudo o que passamos juntas, foi bom partilhar contigo este trabalho.

Ao Tiago, e a todos os meus amigos mais chegados, por serem a minha força de todos os dias, alegrando-me e motivando-me sempre que precisei.

Aos meus pais e às minhas irmãs, a gratidão é infinita por tudo o que me têm proporcionado e ainda conseguirem estar sempre presentes apesar de tudo.

Obrigada pelo apoio incondicional, imprescindível para que conseguisse conquistar mais esta etapa na minha vida.

Resumo

A aterosclerose é a principal causa das doenças cardiovasculares. Caracteriza-se pelo desenvolvimento do ateroma na parede arterial que progressivamente contribui para a sua disfunção.

A doença coronária aguda é a manifestação mais gravosa da aterosclerose, pois por ser causadora de enfartes agudos do miocárdio contribui significativamente para a taxa de mortalidade e morbidade associada àquela patologia. A activação, proliferação, diferenciação e apoptose celulares, são os processos que contribuem para o crescimento da placa e sua instabilidade, podendo culminar na sua ruptura com subsequente trombose coronária, sendo esta muitas vezes a primeira manifestação clínica da doença.

A inacessibilidade das artérias torna o estudo da função endotelial com base na avaliação de factores de crescimento, uma abordagem inovadora no âmbito das patologias associadas à doença coronária. O objectivo principal deste trabalho foi o de avaliar o papel do VEGF a nível sistémico como indicador da função endotelial na doença coronária e estabelecer a sua possível relação com as características biológicas da placa obtidas por VH IVUS.

Desta maneira, foram estabelecidas inter-relações entre os vários parâmetros de caracterização da placa, factores de risco, leucócitos e VEGF em circulação. Apesar da grande variabilidade observada nas concentrações de VEGF sérico, estas relacionaram-se com os triglicéridos e com parâmetros de inflamação, como a concentração de CRP e o número de leucócitos. Verificou-se que, os maiores níveis de VEGF se associavam às placas de ateroma com percentagem de tecido fibrótico superior a 65% e às placas com menores percentagens de cálcio, o que sugere o seu envolvimento na proliferação do ateroma. Também o aumento do número de leucócitos se associou a maiores percentagens de tecido fibrótico e menores de fibrolipídico e a uma maior estenose do vaso. A estenose associou-se ao sexo masculino e aos indivíduos com maiores concentrações de NT-proBNP. Observou-se ainda que para percentagens elevadas de cálcio no ateroma, a quantidade de lípidos em circulação diminuía.

Este estudo, sugerindo o envolvimento do VEGF na permeabilidade, adesão e proliferação celulares, permitiu confirmar a importância da determinação daquele factor na doença coronária e a sua relevância na relação com as características da placa aterosclerótica. Assim, a potencialidade do VEGF como um biomarcador da doença das artérias coronárias, deve continuar a ser aprofundada.

Palavras-chave: Aterosclerose, Doença das Artérias Coronárias, Biomarcadores, VEGF, VH IVUS

Abstract

Atherosclerosis is the main cause of cardiovascular disease. The atherosclerosis is characterized by the development of an atheroma in the arterial wall that gradually contributes to its dysfunction.

The coronary artery disease (CAD) is the most serious manifestation of atherosclerosis, and by being the cause of acute myocardial infarction, contributes significantly to the rate of mortality and morbidity associated with that disease. The activation, proliferation, cell differentiation and apoptosis, are complex and dynamic processes that occur in the vascular wall and contribute to the growth of the plaque and its instability, which leads to its rupture with subsequent coronary thrombosis, usually the first clinical manifestation of the disease.

Due to the inaccessibility of studying the coronary arteries *in vivo*, the study of the endothelial function through growth factors is an innovative approach of CAD. The main purpose of this study was to evaluate the role of VEGF as a systemic indicator of endothelial function in the disease and to establish a possible relation with the biological characteristics of the plaque obtained by VH IVUS.

Thus, were established interrelationships between the several characterization parameters of the lesions and the risk factors, leukocytes and VEGF in circulation. Despite the great variability of VEGF's concentrations in circulation, they were related to triglycerides and parameters of inflammation, such as the concentration of CRP and leukocyte. It was found that the highest levels of VEGF in serum were associated with atheromatous plaques with the percentage of fibrotic tissue over 65% and with lower percentages of calcium, suggesting their involvement in the proliferation of atheroma. It was also noted that the highest leukocyte counts were associated with lesions with higher percentages of fibrous tissue and less fibrolipidic tissue and with greater stenosis of the artery. The stenosis was also associated with male gender and individuals with higher concentrations of NT-proBNP. It was also observed that for high percentages of calcium in the atheroma, the lipid amount in circulation decreased.

This study, suggesting the involvement of VEGF on permeability, adhesion and cell proliferation, has confirmed the importance of determination of that factor in coronary artery disease and its relevance in relation with the characteristics of atherosclerotic plaque. Thus, the study of the potential of VEGF as a biomarker for coronary artery disease should be continued.

Keywords: Atherosclerosis, Coronary Arteries Disease, Biomarkers, VEGF, VH IVUS

Índice

Agradecimentos	II
Resumo	III
Abstract	IV
Índice de Abreviaturas.....	VI
Índice de Figuras, Gráficos e Quadros.....	VIII
Estado de Arte	1
1. A Aterosclerose	1
1.1. Formação e composição da placa aterosclerótica:.....	2
1.2. Doença das artérias coronárias.....	6
2. Função endotelial	7
2.1. VEGF	8
2.2. VEGF e a aterosclerose.....	10
2.3. Outros biomarcadores.....	12
2.3.1. Troponina T	12
2.3.2. NT-proBNP	12
2.3.3. CRP.....	13
3. Caracterização da placa aterosclerótica	14
Objectivos.....	16
Metodologia.....	17
1. Grupos de estudo	17
2. Recolha de sangue e medição do VEGF sérico.....	18
3. Análise estatística.....	19
Resultados	20
1. Caracterização do Grupo de estudo	20
2. Caracterização da lesão aterosclerótica	24
3. O VEGF como marcador da função endotelial.....	30
4. Relação entre a classificação da placa aterosclerótica e os indicadores sanguíneos.....	32
Discussão dos Resultados.....	35
Considerações Finais.....	39
Referências Bibliográficas:.....	40
Anexos.....	44

Índice de Abreviaturas

AC – Anti-coagulantes sanguíneos

AH – Anti-hipertensivos

AINEs – Anti-inflamatório não esteróide

AR – Anti-arrítmicos

CAD – Doença das artérias coronárias, do inglês *Coronary artery Disease*

Ca – Cálcio

CRP – Proteína C-reativa, do inglês *C-reactive protein*

DCV – Doenças Cardiovasculares

DM – *Diabetes mellitus*

EAM – Enfarte agudo do miocárdio

ELISA – do inglês *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

FIB – Componente fibrótica

FIBLIP – Componente fibrolipídica

HDL – Lipoproteínas de alta densidade, do inglês *High density lipoproteins*

ICAM-1 – Molécula de adesão intercelular -1, do inglês *Intercellular adhesion molecule-1*

IECA – Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina

IMC – Índice de Massa Corporal (kg/m²)

LAD – Artéria descendente anterior, do inglês *Left Anterior Descendent artery*

LCA – Artéria coronária esquerda, do inglês *Left Coronary Artery*

LCB – Tronco comum da artéria, do inglês *Left Coronary Branch*

LCX – Artéria circunflexa, do inglês *Left Circumflex artery*

LDL – Lipoproteínas de baixa densidade, do inglês *Low density lipoproteins*

MCP-1 – Quimiocina dos monócitos -1, do inglês *Monocyte chemoattractant protein-1*

MMPs – Metaloproteinases

NEC – Necrose

NSTEMI – Sem supranivelamento ST, do inglês *non-ST-segment elevation*

NT-proBNP – Péptido natriurético do cérebro N-terminal, do inglês *N-terminal pro Brain natriuretic peptide*

oxLDL - Lipoproteínas de baixa densidade oxidadas, do inglês *Oxidative low density lipoproteins*

RCA – Artéria coronária direita, do inglês *Right coronary artery*

st – Estenose

STEMI – Supranivelamento ST, do inglês *ST-segment elevation*

TG – Triglicéridos

TNF- α – Factor de necrose tumoral α , do inglês *Tumor necrosis factor - α*

VH IVUS – Ultra-som intravascular com Histologia Virtual, do inglês *Intravascular Ultrasound – Virtual Histology*

VCAM-1 – Molécula de adesão celular vascular -1, do inglês *Vascular cell adhesion molecule-1*

VEGF – Factor de crescimento do endotélio vascular, do inglês *Vascular Endothelial Growth Factor*

VEGFR-1 (Flt-1) – Receptor 1 do VEGF

VEGFR-2 (Flk-1) – Receptor 2 do VEGF

VEGFR-3 (Flt-4) – Receptor 3 do VEGF

β blockers - Antagonistas dos receptores β adrenérgicos

Índice de Figuras, Gráficos e Quadros

Figuras

Figura 1 – Esquemática do início da disfunção endotelial precursora da formação de uma placa aterosclerótica.....	3
Figura 2 – Esquemática da progressão de uma placa aterosclerótica.	4
Figura 3 – Esquemática de uma placa aterosclerótica instável.....	5
Figura 4 – As artérias coronárias.....	6
Figura 5 – A família dos VEGFs e os respectivos receptores a que se ligam.....	9
Figura 6 – Neovascularização de uma placa de ateroma.....	11
Figura 7 – Reprodução dos resultados obtidos por VH IVUS.....	15

Gráficos

Gráfico 1 – Curva de calibração efectuada a partir dos valores-padrão de VEGF	18
Gráfico 2 – Caracterização da população quanto à medicação prévia à angioplastia.	21
Gráfico 3 – Frequência do vaso lesado expressa por frequência.	24
Gráfico 4 – Variação percentual do comprimento da lesão consoante o vaso lesado.	25
Gráfico 5 – A – Variação de % de necrose na placa com a presença ou ausência de gordura abdominal; B – Variação da estenose com o sexo.....	28
Gráfico 6 – Distribuição das concentrações de VEGF medidas na população total, de homens e de mulheres.....	30
Gráfico 7 – Distribuição da concentração de VEGF de acordo com o tecido fibrótico..	34
Gráfico 8 – Distribuição das concentrações de VEGF de acordo com a deposição de cálcio.....	34

Quadros

Quadro 1 – Caracterização da população relativamente aos dados demográficos, antropométricos e fisiológicos.....	20
Quadro 2 – Caracterização da população quanto aos factores de risco.	21
Quadro 3 – Caracterização bioquímica da população efectuada antes da realização da angioplastia.....	22
Quadro 4 – Valores de correlação de Spearman estatisticamente significativos entre os factores de risco e os parâmetros bioquímicos.....	23
Quadro 5 – Características das lesões na população expressas em percentagem.	25

Quadro 6 – Valores médios e respectivo desvio padrão (\bar{x} +SD), medianas, mínimos e máximos das componentes identificadas por VH IVUS nas placas de aterosclerose. Indica-se também a percentagem de estenose máxima da lesão.	26
Quadro 7 – Valores de correlação de Spearman estatisticamente significativos entre os factores de risco e as características das lesões.	27
Quadro 8 – Valores de correlação de Spearman estatisticamente significativos entre os factores de risco e as componentes da placa.	27
Quadro 9 – Correlações de Spearman entre as componentes da placa e a estenose.	29
Quadro 10 – Concentrações de VEGF no soro dos doentes.	30
Quadro 11 – Correlações de Spearman significantes para o VEGF e indicadores bioquímicos.	31
Quadro 12 – Correlações de Spearman significantes para as componentes da placa de ateroma e indicadores bioquímicos sistémicos.	32
Quadro 13 – Correlações de Spearman entre o VEGF e as classes estabelecidas para as componentes da placa.	33

Estado de Arte

1. A Aterosclerose

A aterosclerose foi considerada uma doença degenerativa da vasculatura, resultante da acumulação de lípidos nas artérias. Com o aumento do conhecimento sobre os mecanismos da sua patogénese, passou a ser considerada uma doença multifactorial para a qual contribuem factores genéticos e de risco, processos oxidativos, inflamatórios e imunitários, envolvidos numa complexa interacção entre alguns componentes sanguíneos e a parede arterial.

A aterosclerose é a principal causa de enfartes do miocárdio e de outros síndromas agudos cardiovasculares, dos acidentes vasculares cerebrais e também da gangrena (Libby 2002; Pereira 2007). A sua prevalência tem vindo a alastrar-se mundialmente, sendo a maior causa de morte e morbidade nos países ocidentais e estando a aumentar nos países em desenvolvimento. É uma doença com um impacto elevado na economia de um país devido aos custos elevados dos cuidados de saúde (Libby 2002; Okrainec *et al.* 2004; Fonarow 2007; Kavurma *et al.* 2007).

Em 2005 estimou-se que, mundialmente, cerca de 17,5 milhões de pessoas morreram devido a uma doença cardiovascular (DCV), sendo que 7,6 milhões morreram com doença das artérias coronárias (CAD – do inglês *Coronary artery disease*) e 5,7 devido a trombozes. Portugal não é excepção, tendo vindo a observar-se que cerca de 40% das mortes são devidas a DCV. Num estudo realizado pela Organização Mundial de Saúde, registaram-se em Portugal, no ano de 2002, 10 mil mortes por DCV (Trigo *et al.* 2000; O.M.S. 2009).

Nos países em desenvolvimento, as alterações demográficas e os estilos de vida estão a resultar numa “transição epidemiológica” de doenças perinatais e infecciosas para doenças intransmissíveis como as cardiovasculares. A doença coronária aguda é a manifestação mais gravosa da aterosclerose e é caracterizada pela ruptura da placa de ateroma e trombose coronária (Scott 2004). Pensa-se que a mortalidade provocada pela CAD duplique no período de 1990 a 2020, com aproximadamente 82% do aumento a dever-se aos países em desenvolvimento. É esperado que, em 2020, constituam a maior causa de morte no mundo (Okrainec *et al.* 2004). A “transição epidemiológica” deve-se, em parte, ao aumento da longevidade humana, que aumenta o período de exposição aos factores de risco, à globalização dos hábitos alimentares e à urbanização. Estes dois últimos factores contribuem bastante para amplificar a prevalência de todas as DCV, pois promovem os seus principais riscos: aumento do consumo de gorduras e açúcares devido ao fácil acesso a alimentos ricos em energia (*fast-food*), aumento do sedentarismo e consumo de tabaco. Hoje em dia sabe-se que os principais factores de risco para as DCV são, a predisposição genética, a idade avançada, o sexo masculino, a hipertensão, a

hipercolesterolemia e outras dislipidemias, o tabagismo, a diabetes, a obesidade e um estilo de vida sedentário (Robbins *et al.* 2000; Scott 2004; Kavurma *et al.* 2007; Pereira 2007). Estes factores foram associados às DCV entre as décadas de 70 e 90, onde diversos estudos mostraram a sua importância na determinação do nível de risco cardiovascular, não restando espaço para dúvidas, de que aquele aumentaria sempre que existissem mais do que um factor no mesmo individuo, especialmente em idades avançadas (Silva *et al.* 2007). Actualmente, através do cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC=kg/m²), da medição do perímetro da cintura e da sua conjugação com outros factores já mencionados, é possível facilmente rastrear o nível de risco cardiovascular.

As lesões ateroscleróticas podem surgir durante a adolescência e a sua progressão fica dependente dos factores genéticos do individuo e dos factores ambientais a que está exposto (Libby *et al.* 2005; Kavurma *et al.* 2007). Até aos anos 70 pensava-se que a aterosclerose resultava da acumulação excessiva de lípidos na parede arterial o que levava à formação da placa de ateroma, sendo geralmente relacionada com a hipercolesterolemia. A progressão do conhecimento tem revelado o envolvimento complexo de células sanguíneas, do endotélio vascular, do músculo liso, entre outras, na formação e evolução da placa ateromatosa. A disfunção metabólica e fisiológica resultante manifesta-se ao nível endotelial, leucocitário, plaquetário, da matriz extracelular, do transporte de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e do sistema fibrinolítico, bem como da inflamação vascular. Embora se tenham identificado alguns indicadores da disfunção da parede arterial e mecanismos associados à sua remodelação, não se encontram completamente esclarecidas as causas que conduzem à ruptura da placa aterosclerótica (Libby *et al.* 2005).

1.1. Formação e composição da placa aterosclerótica:

A formação de uma placa de ateroma inicia-se com a acumulação de LDL, de outras moléculas e células no espaço sub-endotelial. As LDL aprisionadas tornam-se alvo das espécies reactivas de oxigénio presentes e ao serem oxidadas (oxLDL), activam a via de fagocitose macrófagica. A acumulação de oxLDL induz a activação dos macrófagos, que expressam numerosas moléculas inflamatórias, e que por sua vez induzem a expressão de moléculas de adesão, factores tecidulares, quimiocinas, entre outras, nas plaquetas, células sanguíneas, endoteliais e da parede arterial. Todos estes factores contribuem colectivamente para o recrutamento, retenção e activação de células inflamatórias na parede vascular e consequentemente para o crescimento do ateroma (Libby 2002).

Nas lesões ateroscleróticas, são produzidos muitos factores quimiotácteis de monócitos, como por exemplo a proteína MCP-1 (do inglês *monocyte chemoattractant protein-1*) que induz directamente a migração de monócitos para os tecidos, os factores M-CSF e GM-CSF (do inglês *macrophage colonystimulating factor* e *granulocyte/macrophage colonystimulating factor*, respectivamente) que promovem a expressão de receptores *scavenger* e que induzem a produção de citocinas como o factor

de necrose tumoral- α (TNF- α), os factores de crescimento celular (TGF – do inglês *transforming growth factor*) que estimulam a divisão celular, as quimiocinas CCL5 activadoras dos linfócitos T e as endotelinas. Estes factores contribuem para a activação das células circundantes e para a proliferação das células musculares lisas e dos macrófagos. Os monócitos são activados por uma variedade de moléculas pró- e anti-inflamatórias, incluindo interleucinas (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12) e TNF- α , produzidas pelas células da camada íntima arterial em resposta à infiltração de lipoproteínas para o espaço sub-endotelial. Em resposta aos factores quimiotácteis libertados a partir da parede arterial, os monócitos mobilizam-se para o endotélio, iniciando o processo de adesão aos locais do endotélio activado e a passagem para a íntima através de *tight junctions*. Nas áreas de contacto dos monócitos, as células endoteliais activadas expressam diferentes moléculas como factores de crescimento, moléculas de adesão, como a VCAM-1 e ICAM-1 e mediadores vasoactivos, como o óxido nítrico, a endotelina e angiotensina, que regulam as propriedades de adesão do endotélio (Scott 2004; Bui *et al.* 2009).

Quando na íntima arterial, os monócitos passam a expressar receptores de captura de oxLDL para as fagocitar, diferenciam-se em macrófagos e posteriormente transformam-se em células espumosas. Por sua vez, as células espumosas também produzem citocinas e factores tecidulares que induzem uma resposta inflamatória e imunitária (Figura 1) (Scott 2004).

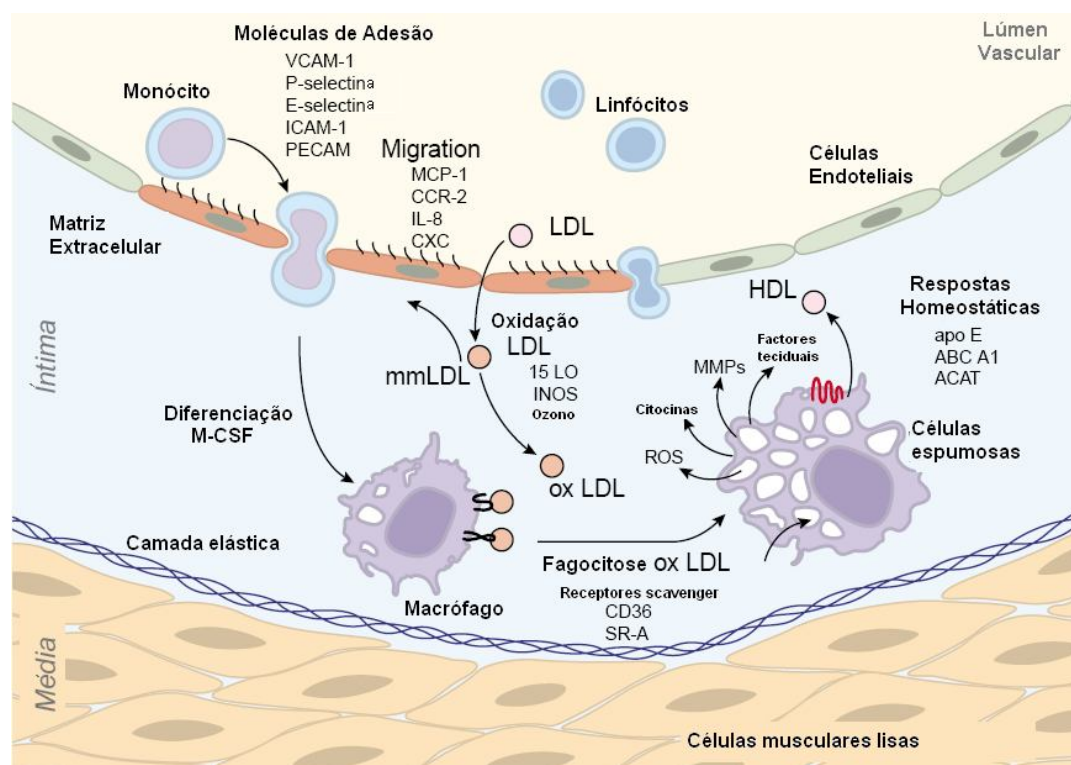


Figura 1 – Esquematização do início da disfunção endotelial precursora da formação de uma placa aterosclerótica (adaptado de Scott, 2004).

A produção de mediadores inflamatórios, como a IL-1, o interferão- γ (IFN- γ) e o factor de necrose tumoral- β (TNF- β), promove a proliferação das células musculares lisas vasculares (CMLVs) e de moléculas da matriz extracelular, como o colagénio, contribuindo para o crescimento do ateroma e para a

formação da placa fibrosa envolvente (Scott 2004; Stoll *et al.* 2006) (Figura 2) . Por outro lado, o processo continuado de oxidação das LDL e a sua fagocitose perpetua a formação de radicais livres de oxigénio pelos macrófagos e outras células activadas, assegurando a continuidade de formação de oxLDL no espaço sub-endotelial e consequentemente o aumento de células espumosas. Os macrófagos segregam ainda diversas proteases, como por exemplo as metaloproteinases (MMPs) que degradam os constituintes da matriz extracelular (Libby *et al.* 2002). Estes mecanismos e em particular as interações de ligação de ligando-receptor como por exemplo o sistema Fas-ligando/Fas-receptor, desencadeiam a apoptose das células espumosas, células do músculo liso, linfócitos e macrófagos acumulados nesta região da parede vascular. A libertação de conteúdos lisossomais e a vesiculação por morte celular, actuam quer nos constituintes extracelulares quer nas células circundantes da parede, prolongando a resposta inflamatória e imunitária e eventualmente, contribuindo para a instabilidade da lesão aterosclerótica (Figura 2) (Tabas 2005; Clarke *et al.* 2006).

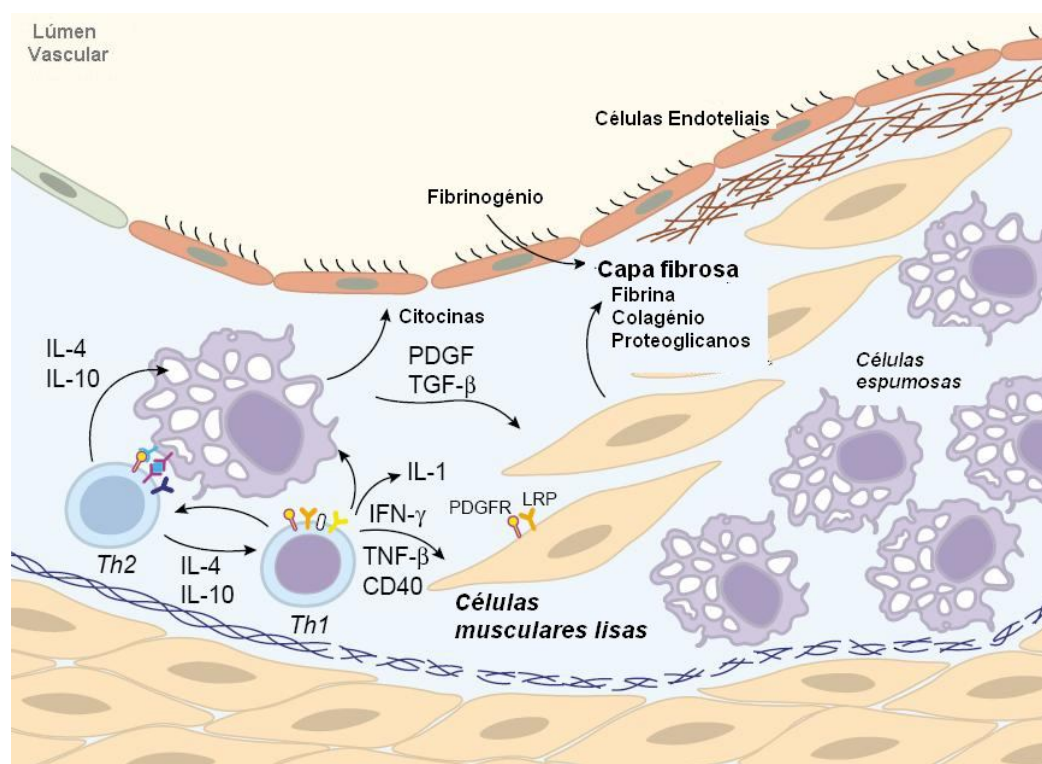


Figura 2 – Esquemática da progressão de uma placa aterosclerótica (adaptado de Scott, 2004).

Com a diminuição da capacidade de reciclagem do tecido, acumulam-se resíduos celulares, colesterol livre e lipoproteínas, e produtos de degradação da matriz extracelular (Scott 2004; Tabas 2005). Nas lesões mais evoluídas estes processos deixam de ser reversíveis. Também a capacidade fagocítica já não é tão eficiente e ocorre a necrose secundária das células espumosas com consequente coalescência lipídica e formação de um núcleo necrótico no centro da lesão aterosclerótica. Este núcleo é essencialmente constituído por células mortas e citocinas inflamatórias, que promovem o aumento da inflamação e da instabilidade da placa (Figura 3). Muitas vezes ocorre a calcificação da placa através da

deposição de cálcio proveniente da libertação de iões de cálcio de células mortas ou da diferenciação de células indiferenciadas em células do tipo osteócito (Shah 2002; Schrijvers *et al.* 2007).

Uma vez constituída a placa aterosclerótica está ultrapassado o limiar para o aparecimento das manifestações clínicas. Na circulação coronária estas manifestações incluem angina instável, enfarte agudo do miocárdio e outras complicações trombóticas, que decorrem da ruptura e/ou erosão da placa de ateroma e da exposição subsequente dos seus constituintes na corrente sanguínea, activando as vias de coagulação (Figura 3) (Libby *et al.* 2005; Schrijvers *et al.* 2007).

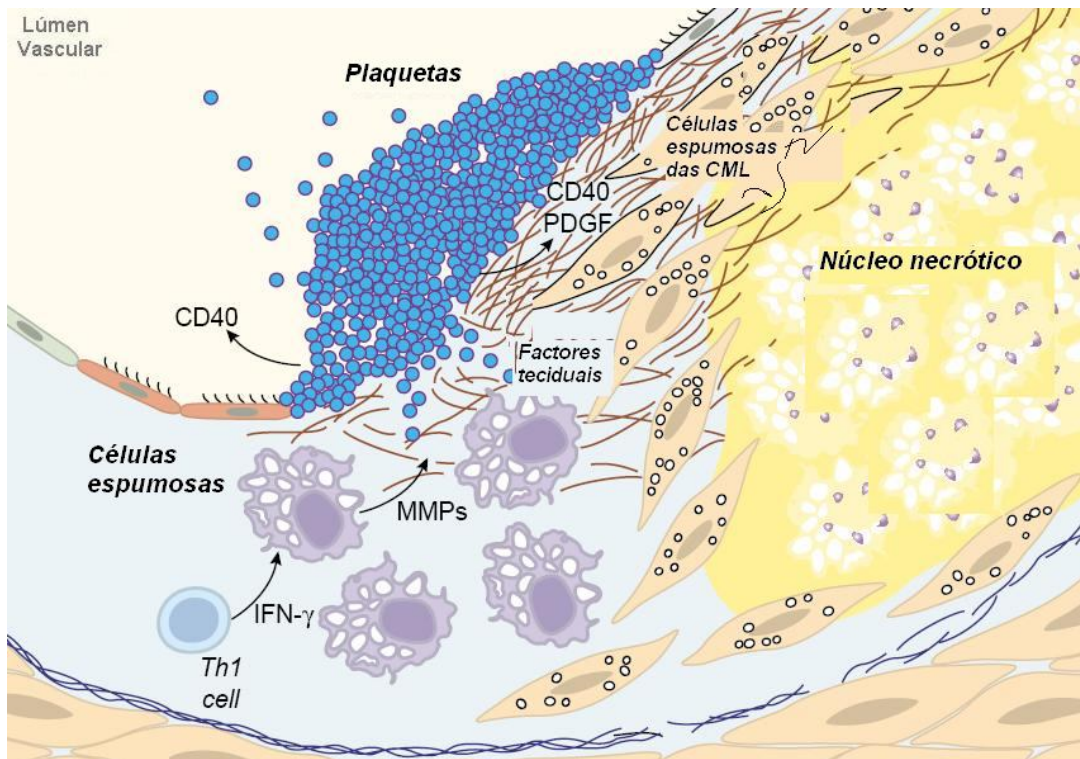


Figura 3 – Esquematização de uma placa aterosclerótica instável (adaptado de Scott, 2004).

1.2. Doença das artérias coronárias

A CAD é uma das patologias cardiovasculares resultantes do desenvolvimento de placas de aterosclerose na parede das artérias coronárias. Esta patologia é definida como um estreitamento anormal de mais de 50% de uma artéria coronária. Estas dividem-se pelo lado esquerdo e direito e conjuntamente com as suas ramificações envolvem todo o coração de forma a fornecer oxigénio e nutrientes a todas as células de forma conveniente (Figura 4). As artérias mais comumente afectadas são a artéria coronária esquerda (LCA – do inglês *Left coronary artery*), a artéria circunflexa (LCX – do inglês *left artery circumflex*), a artéria descendente anterior (LAD – do inglês *left anterior descending artery*), a artéria coronária direita (RCA – do inglês *right coronary artery*) e ainda o tronco comum (LCB – do inglês *left coronary branch*).

Um enfarte agudo do miocárdio (EAM), ou ataque cardíaco, resulta da interrupção do fornecimento de oxigénio ao músculo cardíaco provocando uma necrose parcial do mesmo. Deve-se muito provavelmente à ruptura de uma lesão aterosclerótica que se encontrava instável na parede da artéria. O EAM é a manifestação mais grave da CAD, pois muitas das vezes é a primeira manifestação da doença e se a isquémia cardíaca não for parada a tempo, pode conduzir à morte. Existem dois tipos de EAM, um designado por *non-ST-segment elevation* (NSTEMI) que corresponde a um bloqueio parcial e esporádico da artéria mas suficiente para causar danos no tecido miocárdico. E o outro por *ST-segment elevation* (STEMI) que define o bloqueio abrupto e repentino da artéria que provoca graves danos no tecido muscular cardíaco (Bassand *et al.* 2007; Thygesen *et al.* 2007).

A Angina de peito instável, é outra manifestação da CAD que pode culminar num EAM. É resultante duma oclusão parcial da artéria coronária, e provoca dores no peito mesmo em repouso, devido ao reduzido fluxo sanguíneo numa determinada área do coração (Thygesen *et al.* 2007).

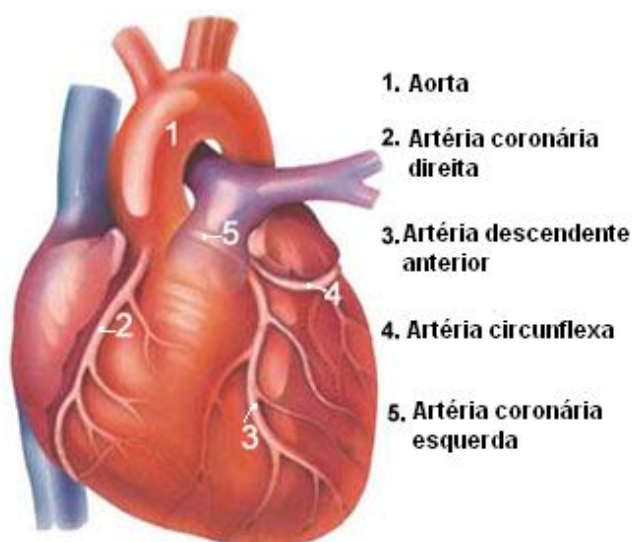


Figura 4 – As artérias coronárias (adaptado de Scott, 2004).

2. Função endotelial

Nos últimos 15 anos tem sido amplamente reconhecido o papel do endotélio na homeostasia vascular. Além de controlar a permeabilidade vascular, é capaz de influenciar veemente a hemostase, a proliferação celular, as respostas imunológicas e inflamatórias e o tônus vascular, para além de também modular a expressão fenotípica e as funções da célula muscular lisa (Zhang 2008). Tais capacidades devem-se, em grande parte, à síntese de vários factores vasoactivos dependentes do endotélio. Em diversos estudos tem-se confirmado largamente que a vasodilatação dependente do endotélio está profundamente inibida nos indivíduos dislipidémicos, com vasos morfológicamente normais, nos hipertensos e, em particular, nos doentes com aterosclerose clinicamente diagnosticada (Marques da Silva 2000).

As células endoteliais das artérias são as responsáveis pela barreira entre a circulação e o espaço extracelular. Diversos dados obtidos clínica e experimentalmente apoiam que a sua activação e interacção com os leucócitos, predispõem uma determinada região vascular à inflamação e consequentemente ao desenvolvimento da doença coronária. Desta forma, sendo a disfunção endotelial uma manifestação precoce da aterosclerose, pode servir como prevenida da CAD. Assim, algumas imunoglobulinas expressas pelas células endoteliais que promovem a adesão celular de células imunitárias têm vindo a ser estudadas como possíveis biomarcadores da CAD, entre elas a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1), a molécula de adesão a células vasculares-1 (VCAM-1) e a E-selectina (Armstrong *et al.* 2006).

Tem-se ainda vindo a estudar em vários laboratórios, a possibilidade das micropartículas endoteliais serem marcadores de perturbações da função do endotélio. Uma placa aterosclerótica activa liberta os produtos da sua actividade na corrente sanguínea muito provavelmente por vesiculação de micropartículas (Boulanger *et al.* 2006). Tais produtos são os que possuem a capacidade de activar as células e as plaquetas em circulação e estimular a sua resposta quimiotáctil, bem como a de activar as células endoteliais e assim perpetuar os processos que levam à manutenção e evolução da placa. Estas micropartículas endoteliais são heterogéneas, o que significa que é possível distinguir-se as que são de activação das que são de apoptose através das suas propriedades procoagulantes e marcadores fenotípicos (VanWijk *et al.* 2003).

A angiogénese é um processo que ocorre ao nível endotelial e consiste no desenvolvimento de novos vasos sanguíneos num tecido vivo, a partir dos já existentes. Este fenómeno tanto define uma actividade natural no organismo, como seja o crescimento dos vasos sanguíneos durante o desenvolvimento ou no adulto para manutenção do sistema vascular, como também existe em várias doenças humanas causadas por má formação da vasculatura ou alterações dramáticas no seu funcionamento (Holm *et al.* 2009).

De entre os diferentes factores de angiogénese, os factores de crescimento vascular endotelial (VEGFs) são os que se encontram mais bem caracterizados. Além de entrarem na modelação do sistema vascular, a família de VEGFs está entre os reguladores mais eficientes e abrangentes da biologia vascular. Apresentam um papel imperativo, por exemplo, na neovascularização da retina, na degeneração macular devida à idade avançada, na artrite reumatóide e na psoríase. Na angiogénese tumoral, contribuindo para o crescimento do tumor e consequentes metástases. Assim, e devido à sua forte importância para os vasos sanguíneos, os VEGFs têm vindo a ser estudados como potenciais agentes terapêuticos na medicina cardiovascular, especialmente no crescimento de vasos aquando de isquémias periféricas e miocárdicas (Yla-Herttuala *et al.* 2007; Holm *et al.* 2009). No entanto, ainda não existem estudos que comprovem a sua eficácia clínica. Não obstante, estudos recentes pró-angiogénicos com VEGF e estudos com anti-VEGF mostraram que, o desequilíbrio da homeostase vascular através do bloqueio do VEGF-A podem levar à disfunção endotelial e a efeitos vasculares adversos. Por outro lado, a produção excessiva de VEGF-A pode contribuir para a neovascularização das lesões ateroscleróticas, facilitando, desta maneira, a infiltração de mais macrófagos na placa, dando continuidade ao desenvolvimento e instabilidade desta devido à possível ocorrência de hemorragias (Takahashi *et al.* 2005; Armstrong *et al.* 2006; Doyle *et al.* 2007; Hauer *et al.* 2007).

O VEGF é um dos factores de angiogénese mais relevante, capaz de regular a proliferação, permeabilidade, migração e sobrevivência das células endoteliais. Desta maneira, tem vindo a ser estudado o seu papel principalmente na aterosclerose, onde a administração de VEGF permanece controversa (Celletti *et al.* 2001), e onde os níveis de VEGF se relacionaram com o risco de mortalidade e EAM 72 horas após a apresentação dos primeiros sintomas de CAD (Heeschen *et al.* 2003; Khurana *et al.* 2005; Armstrong *et al.* 2006).

2.1. VEGF

O primeiro membro e o principal regulador da angiogénese e permeabilidade vascular, o VEGF-A, foi descoberto há aproximadamente 15 anos. É uma glicoproteína homodimérica com 34 a 42 kDa, que se liga à heparina (R&DSystems 2009). Na família dos VEGFs, encontram-se ainda os VEGF-B, -C e -D, o placentar growth factor (PlGF) e o VEGF do veneno das cobras. Estes podem-se ligar a três receptores tirosina-cinases, chamados VEGFR-1 (Flt-1), -2 (Flk-1) e -3 (Flt-4) e às neuropilinas, os receptores das semaforinas, moléculas envolvidas no desenvolvimento neuronal (Figura 5) (Takahashi *et al.* 2005; Tammela *et al.* 2005; Yla-Herttuala *et al.* 2007).

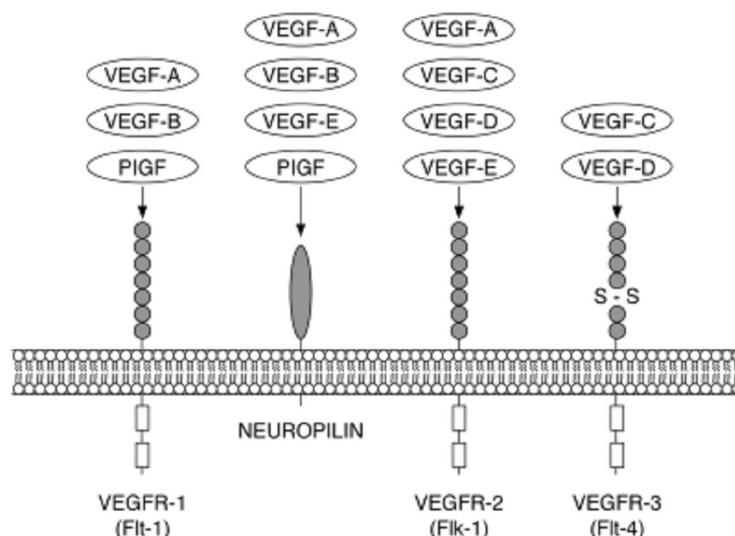


Figura 5 – A família dos VEGFs e os respectivos receptores a que se ligam (Tomanek *et al.* 2002).

Citocinas como outros factores de crescimento, nomeadamente o das plaquetas, da epiderme e fibroblastos induzem a expressão do VEGF nas células. Mas o VEGF é especialmente induzido em situações de hipoxia, através do factor de indução de hipoxia (HIF). E quando em hipoxia o VEGF é o primeiro factor angiogénico a ser induzido. Os VEGF-C e -D são primeiramente factores linfangiogénicos, sendo os indutores do crescimento de vasos linfáticos durante o desenvolvimento e também no estado adulto. Enquanto que o PlGF entra na arteriogénese, na formação de artérias colaterais a partir das existentes, podendo ser um potencial terapêutico no tratamento das artérias oclusas com aterosclerose (Bhardwaj *et al.* 2005; Takahashi *et al.* 2005).

O VEGF é capaz de se ligar a quatro receptores, ao VEGFR-1 e -2 e às neuropilinas (Nrp) -1 e -2 (Otrock *et al.* 2007). Num estudo desenvolvido por Tammela *et al.* (2005), observou-se a sua capacidade de induzir a expressão de proteínas antiapoptóticas, pensando-se que funcione assim como factor de sobrevivência nas células endoteliais durante a angiogénese fisiológica e tumoral (Tammela *et al.* 2005).

O VEGF é um factor de permeabilidade vascular, aumentando a permeabilidade do endotélio através da formação de lacunas, de organelos vesiculares e vacúolos. Este factor também provoca vasodilatação através da indução da óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS) com o conseqüente aumento da produção de óxido nítrico. É este aumento da permeabilidade vascular que, juntamente com a existência de neo-vasos, pode provocar a entrada de eritrócitos na placa, levando a uma hemorragia interna que acelera o processo da aterosclerose a manifestar-se (Holm *et al.* 2009; R&DSystems 2009).

Apesar do VEGF actuar maioritariamente nas células endoteliais, aquele também se pode ligar aos VEGFRs noutras células, como células estaminais hematopoéticas (HSCs), monócitos, osteoblastos e neurónios. Favorecendo não só a angiogénese quando necessária, mas podendo também induzir a

mobilização das HSCs da medula, a quimioatração dos monócitos, a formação de osso através dos osteoblastos e a protecção neuronal (Dai *et al.* 2007; Otrrock *et al.* 2007).

Conhecem-se pelo menos seis isoformas do VEGF, resultantes do *splicing* alternado do gene: VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉ e VEGF₂₀₆. As formas 121, 154 e 189 são as mais comuns nos diferentes tipos de células. Enquanto que a forma VEGF₁₂₁ se difunde pelos tecidos, aproximadamente metade do VEGF₁₆₅ liga-se aos proteoglicanos de sulfato-heparina (HSPGs) na superfície das células, bem como a maioria do VEGF₁₈₉, fazendo dos HSPGs um reservatório de VEGF na matriz extracelular, que está a um passo de ser mobilizado através da sua proteólise (Tammela *et al.* 2005).

Em estudos com ratinhos *knockout* homozigóticos para o VEGF observou-se que, devido a falhas no desenvolvimento endotelial, formação vascular, entre outras falhas, aqueles não sobreviviam. Até mesmo os ratinhos *knockout* heterozigóticos não sobreviviam, devido aos níveis de VEGF serem insuficientes para dar início ao desenvolvimento vascular (Ferrara 2004).

Em diversos estudos onde se pretendia ficar a conhecer quais as funções de cada isoforma do VEGF, utilizaram-se ratinhos *knockouts* para cada isoforma específica. Ficando-se assim a saber que, ratinhos *knockout* para o homólogo humano do VEGF₁₂₁ morriam logo depois do nascimento, e aqueles que sobreviviam morriam devido a cardiomiopatia isquémica e a falhas em diversos órgãos. Ratinhos que expressavam apenas o homólogo humano do VEGF₁₈₉ apresentavam um desenvolvimento arterial enfraquecido e aproximadamente metade sucumbia ao nascer. Aqueles que expressavam apenas o homólogo humano do VEGF₁₆₅ sobreviviam e eram saudáveis. Estes estudos sublinham assim a importância da isoforma VEGF₁₆₅ na acção global do VEGF (Ferrara 2004).

2.2. VEGF e a aterosclerose

A hipoxia é um factor determinante na indução da angiogénese, fenómeno que ocorre numa placa aterosclerótica desenvolvida. O aumento da íntima até cerca de 100 mm pode levar à falta de oxigénio e à activação de substâncias pró-angiogénicas, entre as quais o factor de indução de hipoxia (HIF) é um dos mais importantes. Este factor é produzido em condições de hipoxia em quase todos os tecidos, activando a transcrição de diversos genes, como os da óxido nítrico sintetase e do VEGF, principal responsável pela neovascularização da placa de ateroma (Figura 6). Este não só é secretado pelas células em hipoxia, como estas também influenciam os VEGFR por estimulação parácrina (Kumamoto *et al.* 1995; Dor *et al.* 2001).

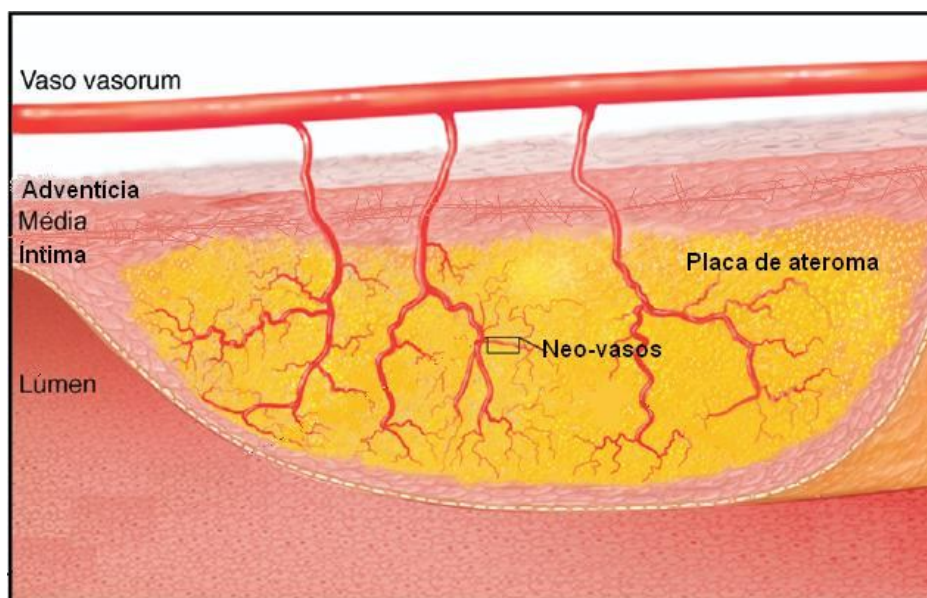


Figura 6 – Neovascularização de uma placa de ateroma (adaptado de (Doyle *et al.* 2007)).

Num estudo sobre a neovascularização de placas de aterosclerose observou-se que, quando na presença dos novos vasos nas células endoteliais havia um aumento em duas ou três vezes da expressão de várias moléculas de adesão em relação ao endotélio arterial normal, pressupondo-se assim a participação do VEGF e da angiogénese na infiltração de leucócitos na placa de aterosclerose (Holm *et al.* 2009).

Com efeito, estudos anteriores mostram que o recrutamento de monócitos ocorre no início do desenvolvimento da aterosclerose e que diminui durante o crescimento da placa, durante o qual a proliferação de macrófagos é de maior importância. A atracção de monócitos em circulação pode ser mediada pela actividade do VEGF no receptor Flt-1 dos monócitos, em adição ao aumento da permeabilidade vascular. Depois do VEGF se ligar ao Flt-1, a expressão de factores inflamatórios e citocinas muda, aumentando a expressão do factor de necrose tumoral (TNF)- α e da interleucina (IL)-1 β e diminuindo a expressão da proteína quimioatractiva dos monócitos (MCP)-1 e da IL-6. O VEGF não só é capaz de influenciar a expressão de diversos factores, como estes por sua vez induzem também a expressão do mRNA do próprio VEGF, contribuindo assim para a abundância daquele nas placas. Esta parece ser uma explicação possível para as actividades parácrinas das células endoteliais sob a influência do VEGF (Pakala *et al.* 2002; Doyle *et al.* 2007).

A seguir aos factores de inflamação, os monócitos activados também produzem factores de crescimento como o factor de crescimento fibroblástico-b (b-FGF), demonstrando que o VEGF também provoca proliferação endotelial indirectamente. Os leucócitos recrutados também produzem diferentes MMPs e apesar destas enzimas dum ponto de vista fisiológico, ajudarem a criar espaço para o crescimento de novos vasos, também contribuem para o enfraquecimento da cápsula fibrosa e consequentemente para a instabilidade da placa. Mas não é o Flt-1 o único receptor que tem lugar no processo inflamatório na neo-íntima, o VEGFR-3 (Flt-4) também entra neste processo aterosclerótico. Um

estudo recente da expressão do Flt-4 na aterosclerose mostrou que estes estão presentes nos macrófagos, aonde se ligam os VEGF-C e -D. Estes subtipos vão mediar a apoptose dos macrófagos, contribuindo para a instabilidade da placa. Uma vez que a produção da IL-1 β é amplificada indirectamente pelos monócitos, estes mecanismos vão continuar a influenciar-se uns aos outros (Takahashi *et al.* 2005). Isto enfatiza a importância do papel do VEGF na angiogénese e na permeabilidade vascular de diversos processos inflamatórios, como a aterosclerose.

No entanto, o papel do VEGF nos mecanismos do ateroma permanecem controversos, pois alguns estudos indicam que aquele factor de crescimento inibe o espessamento da túnica média ao promover a regeneração vascular das células endoteliais e melhorando a função endotelial. Outros indicam que o VEGF promove o desenvolvimento da aterosclerose através do recrutamento de monócitos e da neovascularização da placa (Kimura *et al.* 2007).

2.3. Outros biomarcadores

2.3.1. Troponina T

A troponina T (TnT) é uma das três proteínas reguladoras da contracção muscular cardíaca e esquelética do complexo troponina. A sua medição no sangue permite avaliar e distinguir diversos tipos de doenças cardiovasculares, os seus níveis são elevados desde que tenham ocorrido danos no tecido muscular cardíaco. É considerada um marcador cardíaco específico e sensível que permite a confirmação de suspeitas de diagnóstico de acidente vascular, estimar o risco de ocorrência de EAM nos casos de angina de peito instável, constatar a existência de danos mínimos do miocárdio, em qualquer altura entre as duas horas posteriores à ocorrência e até 14 dias depois (Weber *et al.* 2008; Wikipedia 2009).

2.3.2. NT-proBNP

O BNP, do inglês *brain natriuretic peptide*, é uma neurohormona sintetizada e secretada principalmente pelo miocárdio ventricular em resposta a um aumento do stress na parede ventricular esquerda, fazendo com que elevadas quantidades de NT-proBNP sejam libertadas para a corrente sanguínea. É um factor-chave no equilíbrio da água e electrólitos, bem como na manutenção da tensão arterial, tal como outros péptidos natruriéticos (Weber *et al.* 2008; Wikipedia 2009).

O NT-proBNP tem vindo também a ser utilizado na estratificação do risco de doentes coronários, permitindo avaliar quais os pacientes com maior risco de vir a sofrer um EAM, um AVC ou uma descompensação aguda da insuficiência cardíaca, mesmo quando o resultado de outros exames é

negativo. Isto significa que para além de ser um marcador de diagnóstico, o NT-proBNP também está indicado na avaliação do prognóstico dos doentes cardíacos (Ranjith *et al.* 2006; Mayer *et al.* 2009).

Por tudo isto, o NT-proBNP é actualmente considerado um marcador de falência cardíaca, sendo um dos parâmetros mais estudados no espectro da doença cardiovascular com milhares de estudos já publicados.

2.3.3. CRP

A proteína C-reativa é uma proteína de fase aguda que se encontra em níveis elevados no organismo durante um processo inflamatório. A sua produção está dependente do aumento da IL-6, produzida principalmente pelos macrófagos e adipócitos. Em conjunto com a velocidade de sedimentação, o aumento de leucócitos e o aumento da temperatura, a CRP constitui um parâmetro fiável de inflamação, reconhecido há muito na medicina. No entanto, a sua utilização como marcador de risco coronário é relativamente recente. O reconhecimento da aterosclerose como um processo inflamatório crónico do endotélio trouxe a ideia de tentar estudar qual o papel da CRP nas doenças cardiovasculares. No entanto, a sua utilização como possível indicador de acidentes vasculares está confinada ao uso conjunto com os dois marcadores acima mencionados, uma vez que por si só é apenas indicadora de uma patologia em fase aguda (Blake *et al.* 2003; Bogaty *et al.* 2008; Wikipedia 2009).

3. Caracterização da placa aterosclerótica

A progressão da aterosclerose é tradicionalmente avaliada pela técnica de angiografia que permite caracterizar clinicamente o paciente após um evento cardiovascular. A angiografia possibilita a obtenção de imagens bidimensionais da vasculatura, que sem qualquer visualização da parede da artéria apenas detecta estenoses. Desta forma, a angiografia falha na caracterização da placa aterosclerótica quando distribuídas difusamente por uma região arterial, sem aparecerem estenoses. Já o ultra-som intravascular (IVUS – do inglês *intravascular ultrasound*) fornece imagens do vaso arterial em profundidade e permite a delimitação dos ateromas com a possibilidade de posterior caracterização histológica. Esta técnica, embora não generalizada, é actualmente utilizada para guiar terapias, como a colocação de *stents*, e melhorar o diagnóstico. Assim, tem vindo a ser estudada a hipótese de tornar esta técnica um marcador substituto da angiografia (Nicholls *et al.* 2006; Böse *et al.* 2007).

O IVUS é uma técnica feita *in vivo* com um cateter e que providencia imagens transversais de elevada resolução do vaso vascular (Figura 7). De uma maneira geral, o IVUS é uma prática clínica comum de visualização do lúmen coronário, parede vascular e formação da placa aterosclerótica. A artéria coronária é selectivamente canulada com um cateter que possui um transdutor incorporado que emite ultrassons de elevada frequência, aproximadamente entre os 20 e os 50 MHz. Conforme o cateter se move na artéria, o transdutor converte os reflexos ultrasónicos em imagens transversais do vaso, obtendo-se assim mapas do tecido vascular (Böse *et al.* 2007).

O VH IVUS (*intravascular ultrasound – virtual histology*) é uma técnica que possibilita a distinção da placa em quatro componentes: uma fibrosa, constituída essencialmente por colagénio, uma fibro-lipídica com colagénio e lípidos dispersos, uma necrótica e finalmente uma componente de cálcio. Estas componentes são representadas por um código de cores, em que o verde representa a camada fibrosa, o amarelo a camada fibrolipídica, o vermelho o núcleo necrótico e o branco os agregados de cálcio.

Num estudo em que se realizaram mapas de VH IVUS de artérias ateroscleróticas foi observada uma sensibilidade, especificidade e prognóstico de 80 a 92 % na identificação dos diferentes tipos de placas quando comparados com as secções histológicas arteriais correspondentes. Num outro estudo foi também observada uma correspondência fiável entre os mapas de VH IVUS obtidos e os cortes das artérias coronárias, mais especificamente de 87% para a placa fibrosa, 87% para a fibro-lipídica, 88% para o núcleo necrótico e 97% para os micro-núcleos de cálcio (Mehta *et al.* 2007).

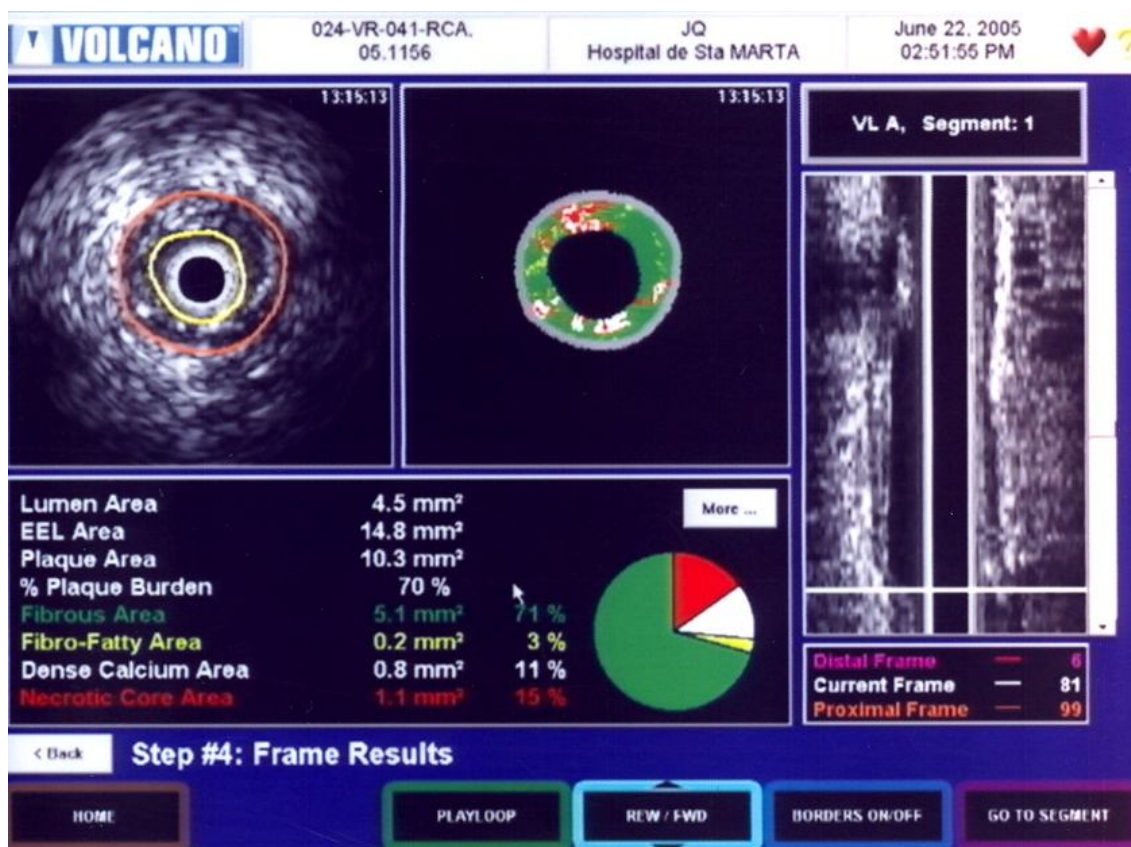


Figura 7 – Reprodução dos resultados obtidos por VH IVUS, a partir de um transepto da parede arterial identificado na imagem longitudinal à direita. Pode-se observar a área e composição da placa, esta distribuída pelas 4 componentes através de um código de cores, i.e., fibrótica, fibrolipídica, cálcio e necrose, quer na imagem bidimensional da artéria, quer por representação gráfica.

Objectivos

O objectivo principal deste trabalho foi o de avaliar o papel do VEGF a nível sistémico como indicador da função endotelial na doença coronária e estabelecer a sua possível relação com as características biológicas da placa obtidas por ultra-som intravascular com histologia virtual (VH IVUS). Adicionalmente, foram também estabelecidas possíveis associações entre o VEGF e as características da placa com os dados antropométricos, fisiológicos e bioquímicos considerados factores de risco para a doença das artérias coronárias.

A inacessibilidade das artérias torna o estudo da função endotelial com base na avaliação de factores de crescimento, inovador no âmbito das patologias associadas à doença coronária. Este trabalho, uma vez inserido num projecto mais amplo sobre o tema, pode contribuir para uma melhoria do diagnóstico clínico e conduzir, eventualmente, a um tratamento dos pacientes mais eficiente, assim como prevenir futuros eventos cardíacos.

Metodologia

1. Grupos de estudo

Para este estudo foram recrutados 26 indivíduos portugueses de ambos os sexos com idades compreendidas entre os 40 e os 75 anos, com Doença Coronária confirmada (IVUS). Foram excluídos os doentes com idade superior a 75 anos e os que possuíam co-morbilidades tais como doença arterial periférica ou da artéria carótida, com antecedentes de doenças malignas ou infecciosas e com insuficiência renal crónica.

O grupo estabelecido foi recrutado no Serviço de Cardiologia do Hospital de Stª Marta, Centro Hospitalar de Lisboa Central, entre Fevereiro de 2007 e Março de 2008. Tendo o projecto sido aprovado pela Comissão de Ética do Hospital de Stª Marta e todos os participantes foram informados dos objectivos do estudo, tendo fornecido previamente o seu consentimento.

1.1. Caracterização do grupo de estudo

Para cada paciente foram analisados vários parâmetros: a idade, o sexo, dados antropométricos como o peso, a altura, a massa corporal e o perímetro da cintura, dados fisiológicos como a pressão arterial, e dados bioquímicos como o perfil lipídico, a glicose, a creatinina, os triglicéridos (TG), o colesterol total (Ch), as LDL e as HDL, o hematócrito, a albumina, a proteína C reactiva (CRP), a troponina T e o NT-proBNP.

Uma vez que os indivíduos recrutados sofriam de doenças cardiovasculares, também se analisou para cada um a terapêutica das respectivas patologias. A terapêutica incluía 1) anti-coagulantes (AC) sanguíneos, como por exemplo a aspirina ou anti-inflamatórios não esteróides; 2) anti-hipertensivos (AH) como os inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA) ou antagonistas dos receptores β adrenérgicos (β blockers); 3) anti-arrítmicos (AR) tais como bloqueadores dos receptores β adrenérgicos e dos canais de potássio para controlo do potencial de acção do músculo cardíaco; 4) estatinas que actuam como inibidores da enzima HMG-coA reductase e consequentemente na via metabólica do colesterol; e 5) insulina no caso dos doentes com *diabetes mellitus* (DM).

1.2. Critérios de avaliação:

Os doentes foram caracterizados pela extensão da doença coronária, nº de vasos afectados, qual (ou quais) o(s) vaso(s) lesado(s) e características morfológicas da lesão.

As lesões ateromatosas foram avaliadas em tempo real por IVUS em modo de *grey-scale* e em modo de histologia virtual (VH IVUS), usando o sistema *Volcano Therapeutics Facility and IVUSLab*

software para reconstrução dos mapas bidimensionais. Assim, foi possível avaliar para regiões de interesse as medidas de volume da artéria e da lesão, obter a área de placa a partir de secções transversais, o nº de placas existentes e a sua composição determinada em percentagem para cada componente.

2. Recolha de sangue e medição do VEGF sérico

Os primeiros 10 mL de sangue foram recolhidos em tubos secos, e centrifugados a 1500 g por 10 minutos a 4°C, para obtenção do soro. As amostras foram guardadas a -80°C até terem sido analisadas.

2.1. Medição do VEGF sérico

As concentrações de VEGF no soro foram determinadas pelo método de ELISA em "sandwich", utilizando um kit comercial da R&D Systems. Neste método, a revestir o fundo duma placa existem anticorpos monoclonais específicos do VEGF, aos quais se irá ligar qualquer VEGF presente nas amostras e padrões, pipetados nos poços da placa. Depois de retirar por lavagens sucessivas o restante conteúdo dos poços, adiciona-se uma enzima ligada a um anticorpo policlonal específico do VEGF. Após uma segunda lavagem para retirar qualquer substância que não se tenha ligado, adiciona-se uma solução de substrato, com a qual deve surgir um composto corado proporcional à quantidade de VEGF existente. Em seguida, adiciona-se a solução de paragem, após a qual devem ser medidas as absorvâncias a 450 nm num espectrofotómetro, sendo o mínimo de detecção do VEGF de cerca de 9 pg/mL.

A partir dos valores-padrão do VEGF efectuou-se a curva de calibração (Gráfico 1) para se proceder à determinação das respectivas quantidades de VEGF existentes nas amostras.

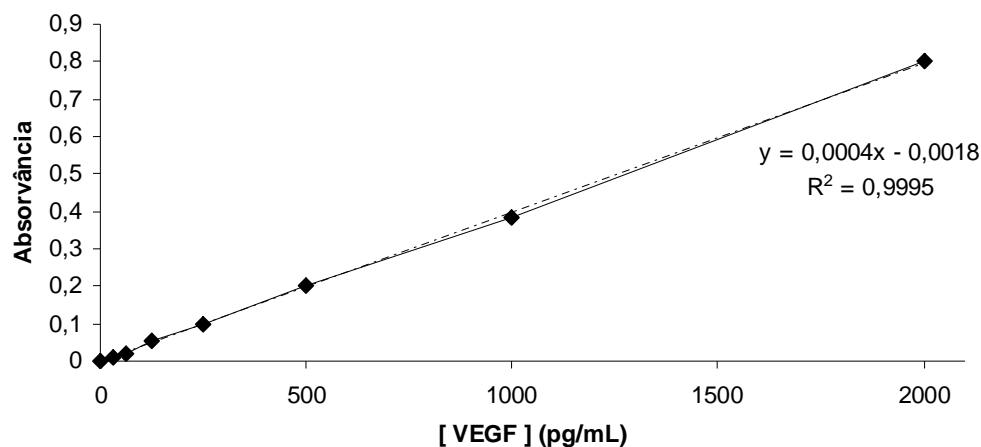


Gráfico 1 – Curva de calibração efectuada a partir dos valores-padrão de VEGF com a qual se efectuou a determinação das concentrações amostrais.

3. Análise estatística

Foi efectuada uma análise exploratória para avaliar a normalidade das variáveis e as diferenças entre os grupos estabelecidos.

Para testar se as variáveis seguiam uma distribuição normal aplicou-se o teste de Shapiro-Wilk, onde um *p-value* <0,05 corresponde a rejeitar $H_0 = X \sim N(\mu, \sigma)$.

Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para a análise univariada e o estabelecimento de diferenças entre grupos. As diferenças foram consideradas estatisticamente diferentes para $p < 0.05$.

Foram também utilizadas análises de correlação (ver tabelas nos Anexos I, II, III, IV, V). Apesar de se terem encontrado algumas variáveis com distribuição normal, optou-se por utilizar métodos não-paramétricos, como a correlação de Spearman, devido à pequena dimensão da amostra e aos diferentes tipos de variáveis existentes (nominais, ordinais e quantitativas).

A análise estatística foi realizada no SPSS 17.0.

Resultados

Este trabalho foi um dos estudos preliminares do projecto em que se encontra inserido, onde por vezes a ocorrência de dificuldades, impossibilitaram a obtenção de todos os parâmetros que se pretendiam analisar na amostra. Assim, da amostra composta por 26 doentes com síndrome coronário agudo, apenas 15 possuem o relatório de intervenção completo, i.e. com a informação completa sobre as características e componentes das lesões de atheroma.

1. Caracterização do Grupo de estudo

Com base no Quadro 1 é possível observar que a amostra, constituída por 15 homens e 11 mulheres, encontrava-se sensivelmente distribuída na faixa etária dos 64 ± 9 anos. A maioria dos indivíduos eram obesos ($IMC > 25 \text{ kg/m}^2 = 65\%$) e possuíam gordura abdominal, i.e., os homens apresentavam um perímetro da cintura $> 102 \text{ cm}$ ($106 \pm 26 \text{ cm}$) e as mulheres $> 88 \text{ cm}$ (92 ± 14).

Quadro 1 – Caracterização da população relativamente aos dados demográficos, antropométricos e fisiológicos.

	Total ($\bar{x} \pm SD$)	Homem ($\bar{x} \pm SD$)	Mulher ($\bar{x} \pm SD$)
Pacientes	26	15	11
Idade média (anos)	64 ± 9	64 ± 8	64 ± 10
Peso (kg)	72 ± 11	$77 \pm 7^{**}$	64 ± 12
Altura (m)	$1,64 \pm 0,09$	$1,69 \pm 0,06$	$1,56 \pm 0,05$
Perímetro cintura (cm)	102 ± 24	$106 \pm 26^*$	92 ± 14
Obesidade (IMC) (%)			
<18,5kg/m ²	0	0	0
18,5-24,9kg/m ²	35	19	12
25,0-29,9kg/m ²	52	27	19
$\geq 30 \text{ kg/m}^2$	13	8	4
Pressão			
sistólica	143 ± 24	139 ± 17	151 ± 31
diastólica	75 ± 10	71 ± 9	$82 \pm 7^{**}$

*.Diferença significativa ($p\text{-value} < 0,10$)

** Diferença significativa ($p\text{-value} < 0,05$)

Quase todos os doentes possuíam mais do que um factor de risco sob terapêutica. Analisando o Quadro 2 é possível observar que a combinação mais comum dos factores de risco foi a hipertensão e a dislipidémia (cerca de 54% da amostra). Ainda de entre os factores de risco mais relevantes para as DCV, cerca de 27% dos doentes tinham historial familiar, outros 27% eram fumadores e por fim, cerca de 31% eram diabéticos. É de notar que, a percentagem de homens com hipertensão e com dislipidémia era superior à percentagem de mulheres na mesma situação.

Quadro 2 – Caracterização da população quanto aos factores de risco.

	Total	Homem	Mulher
Factores de risco (%)			
Historial familiar	27	15	12
Tabagismo	27	23	4
Hipertensão	69	46**	23
Dislipidémia	69	46**	23
Hipertensão+Dislipidémia	54	38	15
Diabetes	31	19	12

** Diferença significativa (*p-value* <0,05)

Relativamente à terapêutica todos os doentes se encontravam medicados. A maior percentagem recaiu nas drogas hipertensivas e estatinas como se pode observar no Gráfico 2.

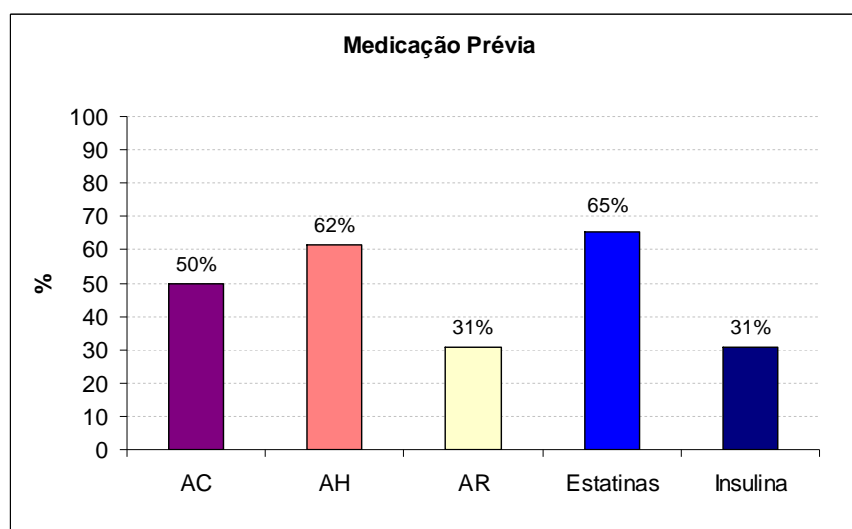


Gráfico 2 – Caracterização da população quanto à medicação prévia à angioplastia.

No Quadro 3 apresentam-se os parâmetros bioquímicos medidos no grupo de doentes em estudo. Nos doentes, os valores médios da glicose estavam acima dos valores de referência, o que poderá resultar da existência de 31% de indivíduos diabéticos. Os valores médios das HDL relativamente ao Ch total, TG e LDL apontavam para uma dislipidémia. Os valores médios dos TG, Ch total e das LDL nas mulheres eram superiores aos dos homens. Contudo, nenhuma das diferenças foram estatisticamente

significativas quer na comparação de homens e mulheres quer na comparação do total de doentes em relação ao intervalo de referência fornecido pelo laboratório do CHLC/EPE onde foram realizadas as análises.

No que concerne aos parâmetros de avaliação cardíaca, na análise da troponina T, 61,5 % dos indivíduos apresentou valores abaixo do limite de detecção (< 0,010 ng/mL). Assim, torna-se pouco relevante o estudo desta variável, mesmo tendo os restantes indivíduos apresentado valores acima do desejável. Na análise do NT-proBNP ainda não existem valores de referência para a população Portuguesa. No entanto, este só é libertado quando ocorre uma disfunção ventricular, como por exemplo nos doentes estudados, em consequência de uma diminuição de fluxo sanguíneo nas coronárias. Para a CRP, 15,4 % dos pacientes tinha valores abaixo do limite de detecção (< 0,317 ng/mL), no entanto os restantes indivíduos apresentaram valores médios acima do valor de referência. Consequentemente, dada a percentagem de valores abaixo do limite de detecção, a utilização destas três variáveis em estudos multivariados e/ou correlativos é dificultada. É ainda de referir a grande variabilidade observada, como se pode inferir pelo desvio padrão e pelos valores mínimos e máximos apresentados no Quadro 3.

Quanto ao hematócrito, os valores encontravam-se sensivelmente abaixo do valor de referência provavelmente em consequência da medicação. O número de leucócitos e das populações linfocitárias, monócitos e neutrófilos, encontravam-se dentro dos níveis esperados, bem como a contagem das plaquetas.

Quadro 3 – Caracterização bioquímica da população efectuada antes da realização da angioplastia.

Bioquímica	Homem ($\bar{x} \pm SD$)	Mulher ($\bar{x} \pm SD$)	Total ($\bar{x} \pm SD$)	Mediana (Mín – Máx)	Intervalo de Referência
Glicose (mmol/L)	7 ± 1,5	8 ± 2,4	8 ± 2	7 (5 – 13)	4 – 6
Creatinina (mg/dL)	0,8 ± 0,3	1 ± 0,6	0,9 ± 0,5	0,8 (0,5 – 3)	0.6 – 1.3
Albumina (g/dL)	3 ± 0,5	3 ± 0,4	3 ± 0,5	3,15 (2,1 – 4)	3.5 – 5.5
Triglicéridos (mg/dL)	85 ± 40	122 ± 68	101 ± 57	94 (24 – 261)	35 – 190
Colesterol total (mg/dL)	145 ± 17	159 ± 41	151 ± 31	147 (105 – 237)	100 – 200
HDL (mg/dL)	33 ± 10	36 ± 9	34 ± 10	34 (12 – 52)	35 – 80
LDL (mg/dL)	95 ± 15	98 ± 30	96 ± 23	91 (52 – 144)	<130
Troponina T (ng/mL)	0,3 ± 0,4	4 ± 1	2 ± 2	1 (0,1 – 5)	< 0.1
NT-proBNP (pg/mL)	648 ± 859	602 ± 692	627 ± 771	224 (20 – 2832)	
CRP (mg/dL)	2 ± 3	2 ± 3	2 ± 3	1 (0,06 – 11)	0 – 0.5
Hematócrito (%)	37 ± 3	36 ± 3	36 ± 3	36 (31 – 42)	40 – 52
Leucócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	7 ± 1	8 ± 3	7 ± 2	6 (3 – 13)	4 – 11
Neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	4 ± 1	5 ± 2	4 ± 2	4 (2 – 9)	2 – 7.5
Linfócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 (1 – 5)	1.5 – 4
Monócitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1 ± 0,2	1 ± 0,3	1 ± 0,3	0,5 (0,1 – 1)	0.2 – 0.8
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	194 ± 46	259 ± 90	221 ± 77	214 (114 – 467)	150 – 400

As inter-relações entre os factores de risco e os parâmetros bioquímicos foram estudadas recorrendo-se a métodos de correlação (Quadro 4).

Verificou-se que o índice de massa corporal (IMC) se correlacionava negativamente com indicadores de inflamação como a CRP (p -value= 0,003), os leucócitos (p -value= 0,018) e neutrófilos (p -value= 0,039). Verificou-se que o índice de massa corporal (IMC) se correlacionava negativamente com indicadores de inflamação como a CRP (p -value= 0,003), os leucócitos (p -value= 0,018) e neutrófilos (p -value= 0,039). Por outro lado, a hipertensão correlacionou-se positivamente com a quantidade de plaquetas (p = 0,041) e o tabagismo com o número de monócitos (p = 0,022).

Quadro 4 – Valores de correlação de Spearman estatisticamente significativos entre os factores de risco e os parâmetros bioquímicos.

	CRP	Leucócitos	Neutrófilos	Monócitos	Plaquetas
IMC	-0,65***	-0,51**	-0,45**	---	---
Hipertensão	---	---	---	---	0,41**
Tabaco	---	---	---	0,47**	---

** . Correlação significativa (p -value< 0,05)

***. Correlação significativa (p -value< 0,001)

2. Caracterização da lesão aterosclerótica

A caracterização da lesão aterosclerótica foi efectuada para 18 indivíduos. Verificou-se que os dois vasos lesados mais comuns foram a LAD e a RCA, com uma percentagem de 39% (Gráfico 3). Com uma percentagem de 17% a LCX foi a terceira mais frequente, e por último com 6%, foi o LCB.

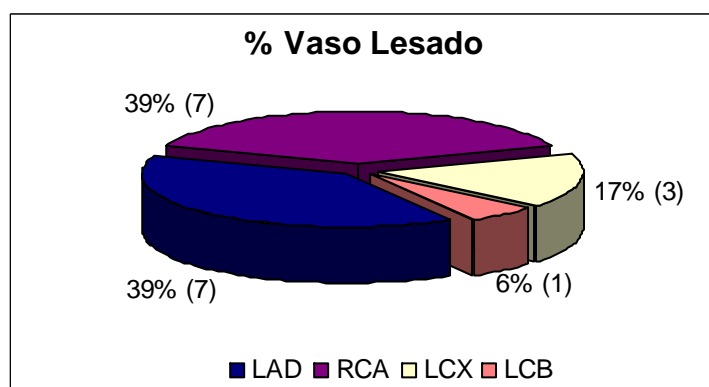


Gráfico 3 – Frequência do vaso lesado expressa por frequência.

Constatou-se que 46% dos indivíduos apresentavam lesões num único vaso, e que 23% apresentavam lesões em 2 vasos. Sempre que ocorriam lesões em dois vasos, um deles era sempre a LAD. No que respeita à percentagem de estenose medida para cada lesão, foi observada uma prevalência de maior estenose nas lesões da LCX, seguindo-se as lesões da RCA, da LAD e por fim da LCB. Para as lesões estudadas verificou-se que 83% apresentavam morfologia excêntrica. Todas as lesões da LAD eram excêntricas bem como metade das lesões da RCA. Apenas 8% dos doentes apresentaram a existência de trombo na lesão intervencionada, mas em 71% das lesões foi detectada deposição de cálcio (Quadro5).

Quanto ao comprimento da lesão, este variou uniformemente, no entanto observou-se que são mais comuns lesões curtas e longas na LAD, lesões médias na RCA e na LCX, e lesões curtas na LCB (Quadro 5 e Gráfico 4).

Quadro 5 – Características das lesões na população expressas em percentagem.

	% (N)
Nº vasos lesados	
1 vaso lesado	46 (12)
2 vasos lesados	23 (6)
Estenose	
LAD (N=9)	78 ± 11
RCA (N=9)	84 ± 11
LCX (N=4)	86 ± 14
LCB (N=2)	50
Morfologia da lesão	
Excêntrica	83 (19)
Concêntrica	17 (4)
Comprimento da lesão	
Curta	32 (6)
Média	37 (7)
Longa	32 (6)
Trombo	8 (2)
Cálcio	71 (17)

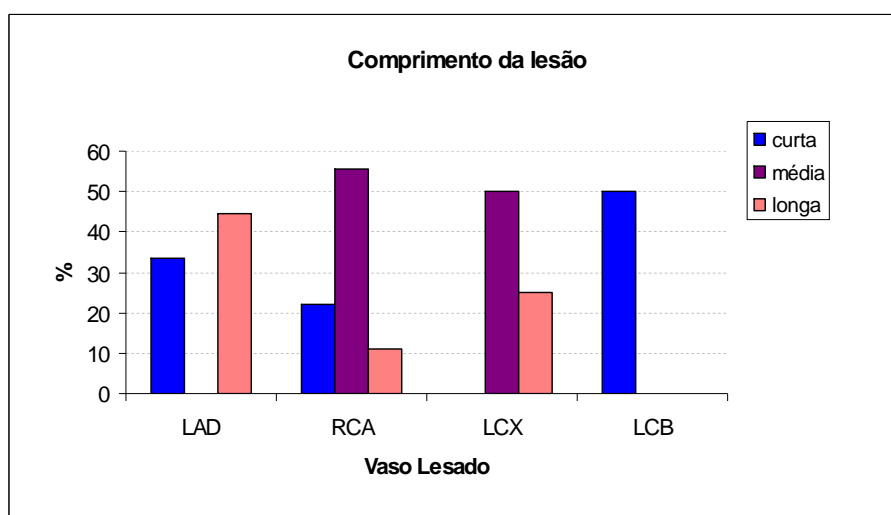


Gráfico 4 – Variação percentual do comprimento da lesão consoante o vaso lesado.

Todas as lesões avaliadas eram compostas pelas quatro componentes que caracterizam uma lesão avançada: componente fibrótica e fibrolipídica, depósitos de cálcio e necrose.

A componente fibrótica foi a prevalente nas lesões, com uma percentagem média de 66%, seguindo-se o núcleo necrótico com 14%, a componente fibrolipídica com 12% e por fim os depósitos de cálcio (ou regiões de calcificação) com 9%. A estenose média das lesões foi de 73% (Quadro 6).

Quadro 6 – Valores médios e respectivo desvio padrão ($\bar{x} \pm SD$), medianas, mínimos e máximos das componentes identificadas por VH IVUS nas placas de aterosclerose. Indica-se também a percentagem de estenose máxima da lesão.

Placa Aterosclerótica	N	$\bar{x} \pm SD$	Mediana (Mín - Máx)
Fibrótica (%)	15	66 \pm 13	61 (47 - 94)
Fibrolipídica (%)	15	12 \pm 7	9 (3 - 28)
Cálcio (%)	15	9 \pm 5	11 (0,1 - 15)
Necrose (%)	15	14 \pm 8	17 (0,3 - 26)
Estenose (%)	15	73 \pm 11	75 (56 - 87)

Relação entre as Características da lesão e os Factores de risco

O tipo de vaso lesado, o número de vasos lesados e as características da lesão, no que respeita à morfologia e comprimento, foram relacionados com os dados antropométricos e factores de risco registados. Também as componentes da placa de ateroma foram relacionadas com os dados antropométricos e factores de risco, tais como idade, sexo, hipertensão, dislipidémia, diabetes, obesidade e tabagismo. Estas inter-relações foram avaliadas com base nas correlações de Spearman, apresentando-se seguidamente os resultados significativamente estatísticos (Ver Quadros 7 e 8).

Verificou-se que o tipo de vaso lesado e o comprimento da lesão se correlacionavam negativamente com o sexo (p -value= 0,048 e p -value=0,054, respectivamente). Para o comprimento da lesão observou-se ainda uma correlação positiva com a idade (p -value= 0,06). Verificou-se ainda que o número de vasos lesados estava inversamente relacionado com a gordura abdominal (p -value= 0,058). Apesar das correlações encontradas (Quadro 7) não serem fortes e dos respectivos p -values estarem próximo de 0,05, pode-se afirmar que o comprimento da lesão, o tipo de vaso lesado e a quantidade de vasos lesados variam com a idade, o sexo e a existência de gordura abdominal.

Quadro 7 – Valores de correlação de Spearman estatisticamente significativos entre os factores de risco e as características das lesões.

	Vaso lesado	Comprimento lesão	Nº vasos lesados
Idade	---	0,48 *	---
Sexo	-0,47**	-0,49*	---
Gordura abdominal	---	---	-0,5*

*. Diferença significativa (p -value < 0,10)

** . Diferença significativa (p -value < 0,05)

Para a componente fibrótica encontrou-se apenas uma correlação positiva com a idade (p -value= 0,082) (Quadro 8). Para a fibrolipídica observou-se uma correlação positiva com o IMC (p -value= 0,058). A presença de núcleo necrótico nas lesões correlacionou-se negativamente com a gordura abdominal (p -value= 0,024) (Gráfico 5A). A estenose correlacionou-se negativamente com o sexo (p -value= 0,022) (Gráfico 5B), com a diabetes (p -value= 0,079) e com o tabagismo (p -value= 0,023).

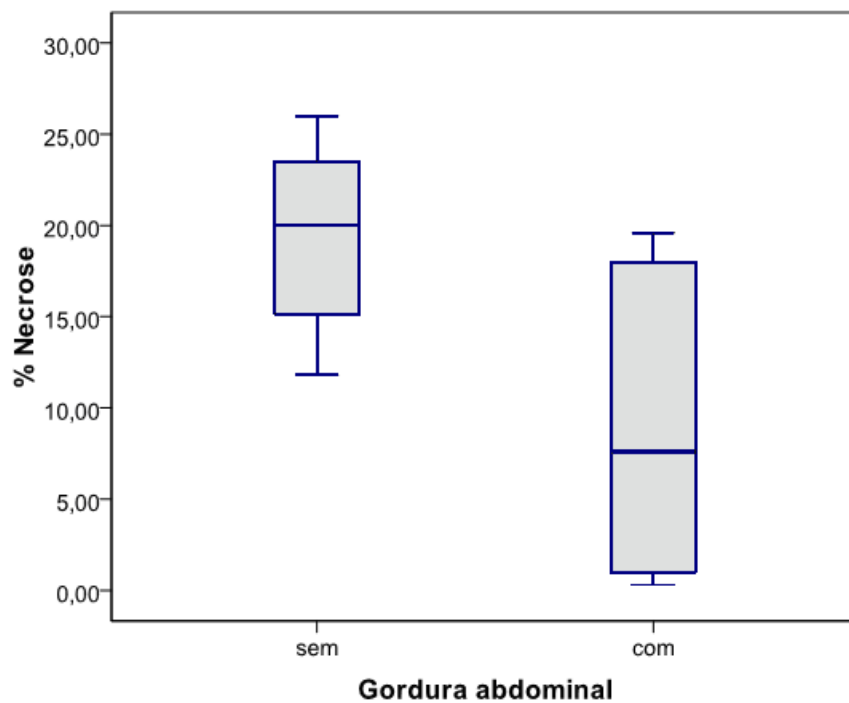
Quadro 8 – Valores de correlação de Spearman estatisticamente significativos entre os factores de risco e as componentes da placa.

	FIB	FIBLIP	Ca	NEC	st
Idade	0,46*	---	---	---	---
Sexo	---	---	---	---	-0,58**
DM	---	---	---	---	-0,47*
Tabagismo	---	---	---	---	0,58**
IMC	---	0,46*	---	---	---
Gordura abdominal	---	---	---	-0,62**	---

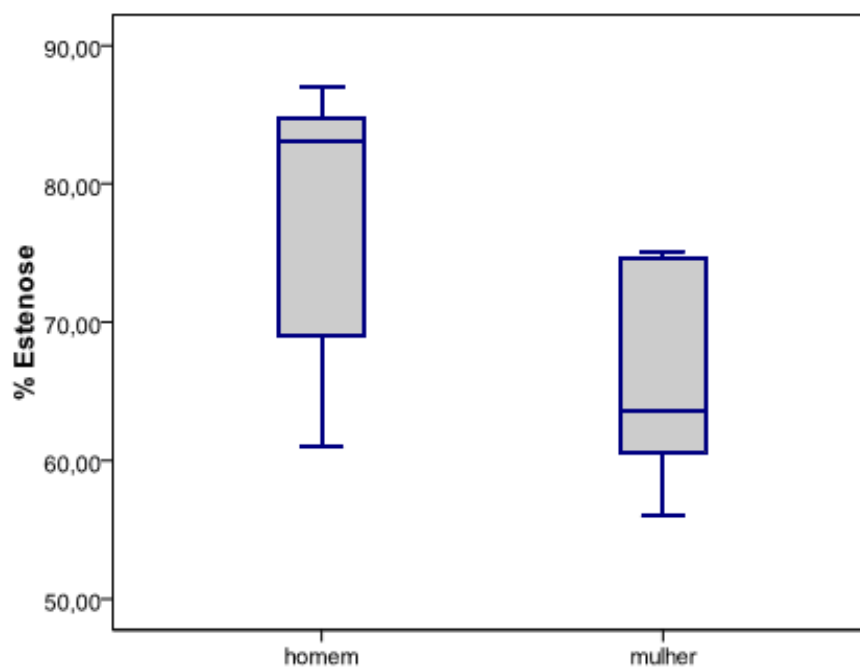
*. Diferença significativa (p -value < 0,10)

** . Diferença significativa (p -value < 0,05)

Aplicando o teste de KW, para um $\alpha = 5\%$, reforçaram-se as diferenças obtidas para a percentagem de estenose com o sexo e para a componente necrótica com a gordura abdominal.



A.



B.

Gráfico 5 – A – Variação de % de necrose na placa com a presença ou ausência de gordura abdominal;
B – Variação da estenose com o sexo

Inter-relação das Componentes da Placa Aterosclerótica

Avaliando as relações entre as componentes da placa e a percentagem de estenose, foram observadas correlações significantes entre o tecido fibrótico, fibrolipídico, necrótico e os depósitos de cálcio (Quadro 9). A componente fibrótica correlaciona-se negativamente com os depósitos de cálcio e o tecido necrótico ($p\text{-value} < 0,001$). A percentagem de tecido necrótico está directamente relacionada com a percentagem de cálcio na lesão ($p\text{-value} = 0,011$). A presença de cálcio e necrose são proporcionais e variam inversamente com a componente fibrótica. A percentagem de estenose da lesão não se correlacionou com nenhum dos tecidos constituintes da placa.

Quadro 9 – Correlações de Spearman entre as componentes da placa e a estenose.

	FIB	FIBLIP	Ca	NEC	st
FIB	1				
FIBLIP	-0,45	1			
Ca	-0,69***	0,36	1		
NEC	-0,71***	-0,23	0,56**	1	
ST	0,19	-0,31	0,02	-0,10	1

** . Correlação significante ($p\text{-value} < 0,05$)

*** . Correlação significante ($p\text{-value} < 0,001$)

No que respeita à terapêutica não foram encontradas associações significativas entre a medicação prévia e as características morfológicas e biológicas da placa determinadas por VH IVUS.

3. O VEGF como marcador da função endotelial

As concentrações de VEGF no soro de cada doente foram determinadas por ELISA (Quadro 10). Ao analisar a distribuição do VEGF observou-se uma grande dispersão e assimetria dos valores obtidos, com um número significativo de casos acima do percentil 75% (Gráfico 6). Contudo a exclusão destes valores não alterava a distribuição, realçando a distribuição assimétrica das concentrações de VEGF de valor inferior, pelo que se optou por não excluir nenhum caso da análise.

Quadro 10 – Concentrações de VEGF no soro dos doentes.

VEGF (pg/mL)	N	$\bar{x} \pm SD$	Mediana (Mín - Máx)	Percentil 25	Percentil 75
Homem	13	267	101 (92 - 1854)	94	164
Mulher	10	419	119 (91 - 1323)	93	727
Total	23	333	102 (91 - 1854)	94	405

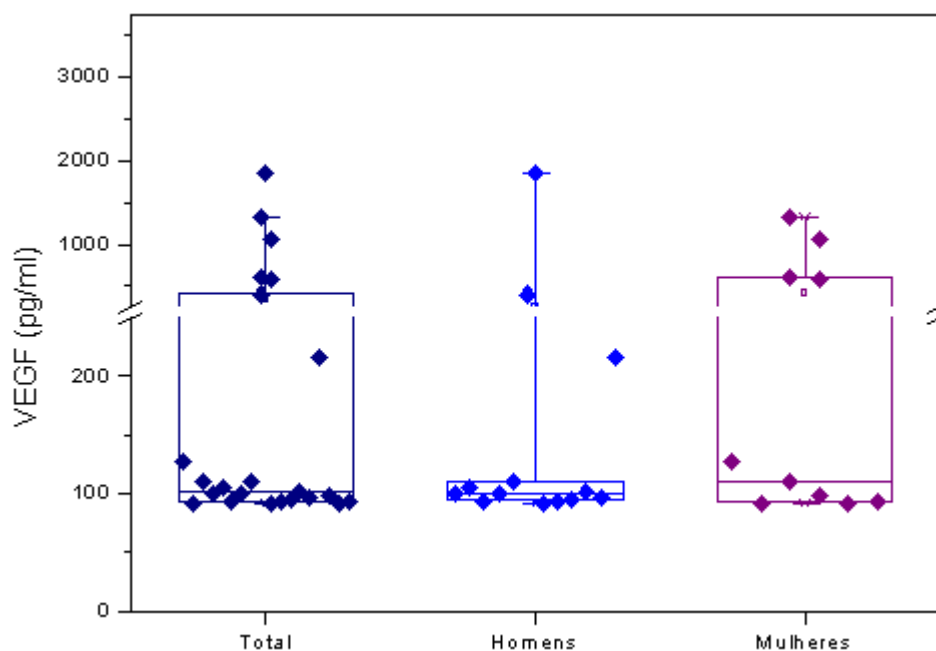


Gráfico 6 – Distribuição das concentrações de VEGF medidas na população total, de homens e de mulheres.

Relação do VEGF com os Parâmetros Bioquímicos e a Medicação

No sentido de identificar factores de influência na variabilidade observada no VEGF, estudaram-se as relações entre as concentrações de VEGF e os parâmetros bioquímicos. Desta forma, pôde-se constatar uma variação do VEGF com indicadores de inflamação, como a CRP, os leucócitos e os monócitos. Registaram-se ainda correlações positivas entre o VEGF e os lípidos circulantes, TG e Ch. No Quadro 11 apresentam-se as correlações significativas encontradas.

Quadro 11 – Correlações de Spearman significantes para o VEGF e indicadores bioquímicos.

	TG	Ch	CRP	Leucócitos	Monócitos
VEGF	0,65***	0,44**	0,43**	0,363*	0,495**

*. Correlação significativa ($p\text{-value} < 0,10$)

**. Correlação significativa ($p\text{-value} < 0,05$)

***. Correlação significativa ($p\text{-value} < 0,001$)

No que respeita à medicação, mais uma vez não foram encontradas quaisquer diferenças significativas entre as concentrações de VEGF e a terapêutica administrada aos doentes.

4. Relação entre a classificação da placa aterosclerótica e os indicadores sanguíneos

No sentido de simplificar a informação obtida para a placa, propôs-se uma classificação com base na percentagem de tecido fibrótico, fibrolipídico, calcificado e necrótico. Estabeleceram-se duas classes para cada componente com base no valor mediano obtido nos doentes estudados:

- Tecido fibrótico: classe 1 \leq 65%; classe 2 $>$ 65%;
- Tecido fibrolipídico: classe 1 \leq 10%; classe 2 $>$ 10%;
- Tecido necrótico: classe 1 \leq 15%; classe 2 $>$ 15% ;
- Cálcio: classe 1 \leq 10%; classe 2 $>$ 10%.

Avaliaram-se as correlações entre as classes estabelecidas e os dados bioquímicos e as concentrações de VEGF medidas, à semelhança do anteriormente descrito.

A simplificação da informação da constituição da placa em classes resultou na obtenção de diferenças com maior significância. Devido ao número restrito de indivíduos para os quais se obteve informação (N=15) serão apresentados valores com significância para um nível $\alpha = 10\%$.

No Quadro 12 encontram-se as correlações estatisticamente significativas entre as componentes da placa e os indicadores bioquímicos medidos a nível sistémico.

Quadro 12 – Correlações de Spearman significantes para as componentes da placa de ateroma e indicadores bioquímicos sistémicos.

	FIB	FIBLIP	Ca	NEC	st
TG	---	---	-0,53**	---	---
Ch	0,45**	---	-0,55**	---	---
HDL	---	---	---	---	-0,48*
Leucócitos	0,54**	-0,61**	---	---	0,65**
Neutrófilos	0,6**	-0,61**	---	---	0,62**
Monócitos	---	-0,47*	---	---	0,50*
Plaquetas	0,54**	-0,57**	---	---	---
NT-proBNP	---	---	---	---	0,52**

* Diferença significativa (p -value $<$ 0,10)

** Diferença significativa (p -value $<$ 0,05)

Para a componente fibrótica observaram-se correlações positivas com o Ch (p -value= 0,09), com os leucócitos (p -value= 0,039), os neutrófilos (p -value= 0,021) e com as plaquetas (p -value= 0,04). Realizando o teste de KW encontraram-se diferenças significativas que reforçam as correlações encontradas para os leucócitos (p -value= 0,072) e os neutrófilos (p -value= 0,029). Pode-se, assim, afirmar que a componente fibrótica está relacionada com o número de leucócitos e de neutrófilos.

Para a componente fibrolipídica, foram encontradas correlações com os leucócitos (p -value= 0,014), neutrófilos (p value= 0,047), monócitos (p -value= 0,081) e com as plaquetas (p -value= 0,026). Para as variáveis correlacionadas realizou-se o teste de KW, tendo-se obtido diferenças significativas para os leucócitos, neutrófilos e monócitos. Assim, constatou-se que maiores percentagens de tecido fibrolipídico estão associadas ao decréscimo do número de leucócitos, neutrófilos e monócitos.

Para a presença de cálcio nas placas foram observadas correlações negativas com os TG (p -value = 0,044) e com o Ch (p -value= 0,033) . No teste de KW reforçou-se apenas a correlação obtida com os TG (p -value= 0,049), o que nos indica que os depósitos de cálcio variam inversamente com a quantidade de TG.

A estenose correlacionou-se com as HDL (p -value=0,072), com o NT-proBNP (p -value= 0,05), com os leucócitos (p -value= 0,009), com os neutrófilos (p -value= 0,014) e com os monócitos (p -value= 0,61). No teste de KW observou-se que, as diferenças foram marginalmente significativas (α = 10%) para as HDL (p -value= 0,083) e para o NT-proBNP (p -value= 0,064). Para os leucócitos (p -value= 0,015), neutrófilos (p -value= 0,021) e monócitos (p -value= 0,064) as diferenças apresentam maior significância podendo-se afirmar que o aumento da % de estenose foi proporcional ao número de leucócitos, neutrófilos e monócitos.

Verificou-se que as concentrações de VEGF se relacionam com as componentes da placa. Como se pode inferir pelos valores de correlação apresentados no Quadro 13 a concentração de VEGF associa-se a duas das quatro componentes da placa: correlação positiva com a o tecido fibrótico (p -value= 0,059) e negativa com o cálcio (p -value= 0,031).

Quadro 13 – Correlações de Spearman entre o VEGF e as classes estabelecidas para as componentes da placa.

	FIB	FIBLIP	Ca	NEC	st
VEGF	0,516*	-0,180	-0,575**	-0,093	0,303

*. Correlação significativa (p -value< 0,1)

**. Correlação significativa (p -value< 0,05)

As diferenças foram significativas para o teste de KW, obtendo-se um p -value= 0,038 para a presença de cálcio e um p -value= 0,063 para a componente fibrótica.

Nos gráficos 7 e 8 estão representadas as concentrações de VEGF para cada uma das classes estabelecidas em cada componente. As caixas representam os valores compreendidos entre os quartis 25% e 75%, a linha intermédia a mediana e as barras os valores máximos e mínimos. Por conseguinte, valores mais elevados de VEGF estão relacionados com percentagens de tecido fibrótico superiores a 65% (Gráfico 7) e a percentagens de cálcio inferiores a 15% (Gráfico 8).

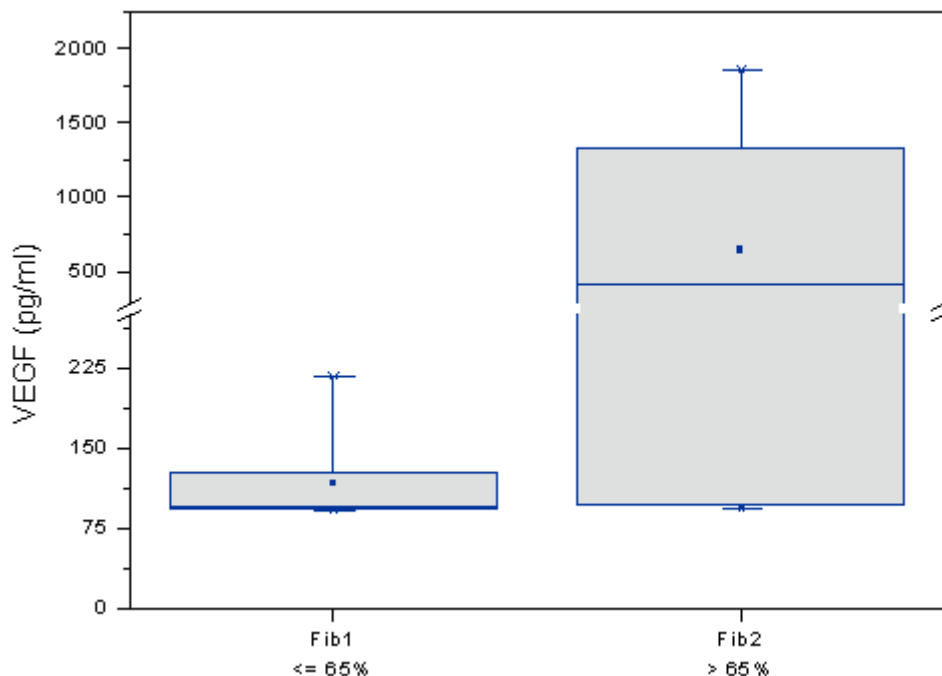


Gráfico 7 – Distribuição da concentração de VEGF de acordo com o tecido fibrótico (Fib 1 - % Fibrose ≤ 65; Fib 2 - % Fibrose > 65).

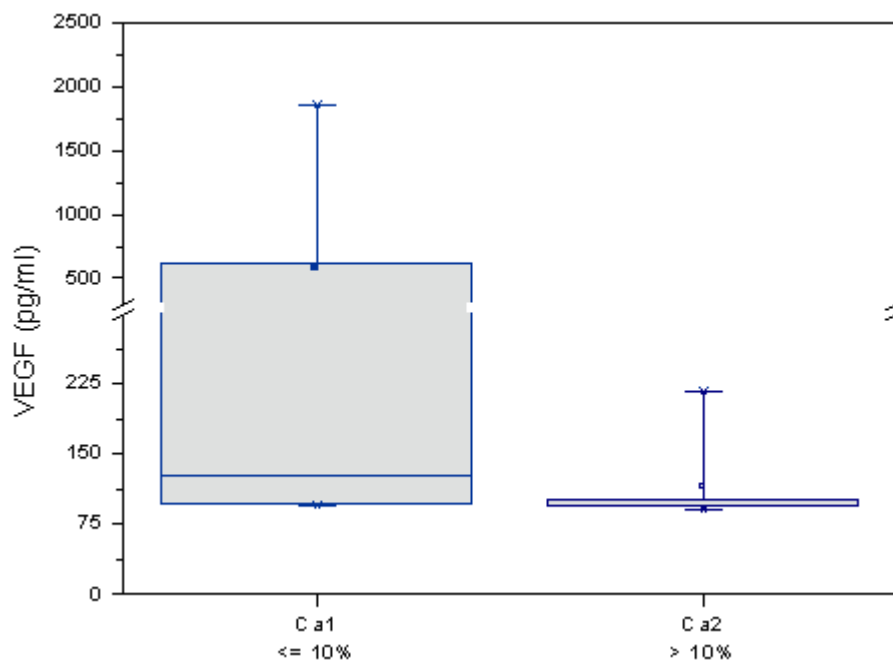


Gráfico 8 – Distribuição das concentrações de VEGF de acordo com a deposição de cálcio (Ca 1 - % Cálcio ≤ 10; Ca 2 - % Cálcio > 10).

Discussão dos Resultados

Este trabalho consistiu num estudo preliminar da avaliação conjunta de indicadores sistémicos bioquímicos e da função endotelial com as características da placa aterosclerótica obtidas por VH IVUS, na doença coronária aguda.

A tecnologia de VH IVUS é uma técnica recente e pouco vulgarizada que permite, *in vivo* e em tempo real, observar a constituição histológica do ateroma, a sua morfologia e extensão e ainda se houve a ocorrência de um trombo. Esta é uma perspectiva inovadora de avaliar a placa, com a qual se tem procurado estudar novos indicadores sistémicos que se associem àquela, de forma a melhorar o diagnóstico e o tratamento da doença coronária.

Neste trabalho de tese estudou-se a relevância do VEGF como indicador da função endotelial e das lesões ateroscleróticas das artérias coronárias.

Para o efeito, as concentrações de VEGF plasmáticas foram relacionadas com as características da placa obtidas por VH IVUS, tendo-se estabelecido uma classificação das mesmas com base no conteúdo de tecido fibrótico, fibrolipídico, calcificado e necrótico. Relativamente aos valores de VEGF circulantes, estes apresentaram uma grande variabilidade, não se relacionando com os factores de risco considerados, tais como a idade, o sexo, a obesidade e hábitos tabágicos. No entanto, foi observado que este parâmetro se relacionou com as concentrações de CRP, com o número de leucócitos e monócitos e com os triglicéridos serológicos, o que sugere a sua importância na função endotelial.

Estes resultados vão de encontro ao que se observou no estudo SAPHYR (Sandhofer *et al.* 2009), onde também se encontraram correlações positivas entre o VEGF, a CRP e a quantidade de leucócitos. Na aterosclerose, a disfunção endotelial provoca uma inflamação do tecido, havendo o recrutamento de células leucocitárias, como os monócitos. O VEGF pode ser, assim, considerado uma molécula pró-inflamatória, uma vez que conduz à produção de moléculas de adesão de monócitos e estes, por sua vez, continuam a cascata de indução da expressão de factores inflamatórios e citocinas (Pakala *et al.* 2002).

O aumento dos níveis de VEGF no soro associou-se às placas com percentagem de tecido fibrótico superior a 65%. Inversamente, o aumento de VEGF reflectia percentagens menores de cálcio na placa de ateroma. A relação positiva do VEGF com a componente fibrótica do ateroma, pode-se traduzir na proliferação celular que ocorre naquele local. A fibrose resulta da proliferação das CMLVs e do colagénio que envolvem as células espumosas, que se vão acumulando na parede vascular. É este processo que conduz ao crescimento da lesão e que impede que o oxigénio chegue a todas células naquela região. Esta, ao entrar em hipoxia, liberta um factor que conduz à indução da expressão do VEGF para promover a neovascularização da placa (Otrock *et al.* 2007). Assim, o VEGF tem vindo a ser considerado um factor de instabilidade para a placa porque, com a formação de novos vasos, juntamente com o aumento da permeabilidade vascular, favorece a entrada de oxigénio, nutrientes, de monócitos e linfócitos, cooperando na perpetuação dos fenómenos que conduzem ao desenvolvimento do ateroma

(Doyle *et al.* 2007). A disfunção endotelial decorrente destes processos poderá estar associada a uma disfunção lipídica e a uma maior mobilização de triglicéridos e colesterol, e neste sentido, poderá ser entendida a relação de proporcionalidade encontrada entre os níveis de VEGF e os TG. Para além desse aspecto, Penumathsa *et al.* (2008) demonstraram que o colesterol e triglicéridos plasmáticos tinham a capacidade de induzir o VEGF em animais sujeitos a uma dieta hipercolesterolémica (Penumathsa *et al.* 2008). Os resultados obtidos podem ser apoiados pelos diversos estudos onde se observou que, o VEGF funciona como um promotor da aterosclerose através da neovascularização da placa e do recrutamento de monócitos (Pakala *et al.* 2002; Takahashi *et al.* 2005; Zittermann *et al.* 2006; Doyle *et al.* 2007; Kimura *et al.* 2007). No entanto, existem outros estudos que apontam para uma acção protectora do VEGF. Moulton *et al.* e Walshe *et al.* demonstraram que esta molécula inibe o espessamento da túnica média ao promover a regeneração vascular das células endoteliais e ao neutralizar a inflamação local, diminuindo ainda a adesão de leucócitos (Moulton *et al.* 2003; Walshe *et al.* 2009). Adicionalmente, o VEGF pode induzir a síntese da eNOS que tem, como é sabido, uma acção preponderante no controlo do tónus vascular (Das *et al.* 2005).

No entanto, o conjunto dos resultados obtidos neste trabalho, sugerem o envolvimento do VEGF na permeabilidade, adesão e proliferação celulares, podendo estar as suas variações associadas à disfunção endotelial das artérias coronárias.

Entre as próprias componentes da placa de ateroma, observaram-se correlações congruentes com a progressão da lesão, como por exemplo, a variação inversa da componente fibrótica, característica de uma placa activa e relativamente recente, com a presença de cálcio e necrose, componentes de uma placa desenvolvida que se encontra em degeneração e, ainda, a correlação positiva entre estas duas últimas componentes.

Para a quantidade de leucócitos, neutrófilos e monócitos em circulação observaram-se duas correlações, uma inversa com a componente fibrolipídica e uma proporcional com a componente fibrótica. Estas correlações encontram-se em consonância com o que se conhece sobre o papel dos leucócitos no desenvolvimento e maturação de uma placa de ateroma (Scott 2004). Aquando da disfunção endotelial provocada pela acumulação de oxLDL no espaço sub-endotelial, ocorre a activação da via de fagocitose macrofágica, que é conduzida pelas células leucocitárias, como os monócitos e linfócitos. Estes, através da expressão de moléculas de adesão, são atraídos para o endotélio, onde a sua afluência com consequente diminuição em circulação, estabelece a inflamação celular (Libby *et al.* 2005; Bui *et al.* 2009). Assim, uma vez que a componente fibrolipídica resulta do processo continuado de fagocitose de oxLDL, as razões acima mencionadas parecem apoiar a associação entre o decréscimo do número de leucócitos, neutrófilos e monócitos circulantes com as percentagens elevadas de tecido fibrolipídico. Deste modo, e tal como a componente fibrótica se caracteriza pela proliferação de CMLVs e células espumosas, e não pela constante migração de leucócitos, observou-se a sua relação inversa com a quantidade de leucócitos em circulação.

Para a quantidade de colesterol no sangue, observou-se que a sua concentração se encontrava aumentada para maiores percentagens de tecido fibrótico e que diminuía quanto maior a percentagem de cálcio nas lesões. Devido à existência de pouca bibliografia nesta temática, deve-se procurar realizar mais estudos para melhor entender as relações aqui encontradas.

As percentagens de tecido necrótico foram superiores nos indivíduos que não apresentavam gordura abdominal. No entanto, esta relação pode não ser representativa devido à pequena dimensão da amostra, o que não deixa de ser interessante de estudar a partir de um estudo de maior amplitude.

Para algumas das características das lesões avaliadas, como o seu comprimento, a localização da lesão e a quantidade de vasos afectados, observaram-se relações, embora fracas, com os factores idade, sexo e gordura abdominal. No entanto, estas relações apenas podem ser tidas em conta se confirmadas num outro estudo para uma população maior e com um grupo de controlo com coronárias saudáveis.

De acordo com os resultados obtidos, a estenose varia consoante o sexo, sendo mais elevada nos homens do que nas mulheres. Tendo em conta que o género masculino tem vindo a ser associado como um factor de risco independente da CAD, a relação encontrada está em concordância com os diversos estudos que apoiam aquela associação (Stephen *et al.* 2006; Robinson *et al.* 2009).

Por outro lado, as HDL variam ao invés da percentagem de estenose. Este resultado está de acordo com o facto destas lipoproteínas, consideradas protectoras do sistema cardiovascular, serem as responsáveis pelo transporte reverso do colesterol e ainda possuírem uma actividade antioxidante, pelo que a sua baixa concentração no organismo favorece a progressão da placa e, como tal, esta evolui causando elevadas estenoses arteriais (Assmann *et al.* 2004).

Ao contrário das HDL, observou-se que a percentagem de estenose relaciona-se positivamente com o NT-proBNP e a contagem de leucócitos, neutrófilos e monócitos. O NT-proBNP é libertado por falência ventricular. A circulação nas coronárias é dificultada aquando da existência de estenose nas artérias e, desta forma, a libertação de NT-proBNP é favorecida quanto maior for a estenose. Quanto à relação de proporcionalidade entre a estenose e a contagem dos leucócitos, os resultados deste trabalho parecem ir ao encontro do que se tem concluído em diversos estudos mencionados em Madjid *et al.* (2004), como por exemplo, que os leucócitos parecem estar correlacionados com a progressão da CAD, tendo os diversos estudos citados, o objectivo de verificar a potencialidade da contagem de leucócitos como um indicador das doenças cardiovasculares (Madjid *et al.* 2004).

Apesar da pequena amostragem, ao analisar as relações entre os demais factores de risco e os parâmetros medidos no sangue, foi possível encontrar relações que se encontram também descritas na literatura. Entre o IMC, e respectivamente os níveis da CRP e a quantidade de leucócitos no sangue, obtiveram-se correlações negativas. Estes resultados contrariam o que Madjid *et al.* (2004) citam, que nalguns estudos se observou uma variação proporcional entre o número de leucócitos e o IMC e os níveis de CRP. Com este mesmo artigo, foi possível apoiar o facto de se ter observado uma maior contagem de monócitos em fumadores. Uma vez que o fumo poderá desencadear um processo inflamatório crónico e sendo os monócitos as principais células envolvidas, o seu aumento parece estar conivente com a

resposta imuno-tóxica desenvolvida nos indivíduos fumadores (van der Vaart *et al.* 2004). No caso do factor de risco hipertensão, encontrou-se uma correlação positiva com a quantidade de plaquetas em circulação, que se traduz por estas se encontrarem em maior quantidade nos indivíduos não hipertensos. Uma vez que, a maioria dos indivíduos hipertensos também se encontra medicada com anti-coagulantes, encontrou-se o que seria de esperar, uma menor quantidade de plaquetas em circulação naquele grupo de indivíduos.

Relativamente à medicação, não foram encontrados quaisquer diferenças nos parâmetros medidos, muito possivelmente devido a todos os doentes se encontrarem medicados antes da angioplastia e assim continuarem durante a intervenção. Partindo do princípio que a medicação é utilizada devido ao facto de ajudar a controlar a doença, seria importante aprofundar a sua influência num estudo em que, com um grupo de controlo, se pudesse observar as possíveis diferenças.

Das várias assunções efectuadas, é necessário ter em conta que se baseiam em resultados obtidos a partir de uma população de doentes das artérias coronárias. Assim, e porque a informação disponível, sobre a CAD e a sua relação com os factores de risco e demais parâmetros biológicos, nomeadamente os constituintes da placa, é pouco esclarecedora, as hipóteses apresentadas devem ser abordadas com prudência. Desta maneira, sugere-se que os factos aqui apontados devam ser confirmados com base num estudo que envolva não só um grupo de controlo de indivíduos com coronárias saudáveis, como também de um grupo de referência com indivíduos saudáveis não fumadores, para melhor compreender a influência da patologia. Uma vez que a probabilidade de progressão da doença com a eventual ocorrência de futuros eventos cardíacos, varia consoante a gravidade dos sintomas, seria também interessante avaliar a existência de diferenças entre os grupos de pacientes diagnosticados com angina estável *versus* instável.

Apesar das limitações existentes, pode-se concluir que o objectivo do estudo foi cumprido, pois através das correlações encontradas, contribuiu-se para o aumento dos conhecimentos acerca do relacionamento do VEGF com as características biológicas da placa de ateroma. Neste trabalho propôs-se uma classificação para as componentes da placa baseada nos valores medianos obtidos para cada tipo de tecido. Esta classificação teve o mérito de permitir simplificar a informação obtida por VH IVUS, o que se reflectiu na clarificação das associações encontradas entre as componentes da placa, e indicadores bioquímicos da doença e as concentrações de VEGF. Embora o número de pacientes seja reduzido, este trabalho preliminar permitiu ainda estabelecer inter-relações do tecido fibrótico, fibrolipídico e cálcio da placa com factores de risco, lípidos e leucócitos na circulação, além do VEGF já referido. Estas associações são muito interessantes, sugerindo que a actividade da placa poderá ser monitorizada sistemicamente. A continuidade dos estudos será determinante para confirmar a relevância do VEGF como um biomarcador da doença e da placa de ateroma, em conjunto com o VH IVUS.

Considerações Finais

Este estudo proporcionou a avaliação da relação de indicadores sistêmicos da função endotelial, com as características da placa aterosclerótica adquiridas através da técnica de VH IVUS. Foi encontrada uma relação significativa entre a concentração de VEGF e a existência de depósitos de cálcio na placa de ateroma, e com um nível inferior de significância (10%) do VEGF com a percentagem de tecido fibrótico. Encontrou-se uma relação significativa entre o VEGF e o número de monócitos, que se encontram associados à disfunção endotelial e ao crescimento e evolução da lesão. O VEGF relacionou-se também com indicadores de inflamação, como a CRP.

No que respeita às características da placa aumentos da percentagem de tecido lipídico são acompanhados pelo aumento do número de leucócitos, neutrófilos e plaquetas. Inversamente, elevadas percentagens de tecido fibrolipídico associaram-se a um decréscimo de células mononucleadas e plaquetas em circulação.

A estenose causada pela lesão foi relacionada com os leucócitos e com os níveis de NT-proBNP, o que sugere a importância da lesão na mobilização das células e na irrigação ventricular quando ocorrem alterações do fluxo sanguíneo.

Apesar das limitações do estudo, este permitiu confirmar a importância da determinação do VEGF na doença coronária e também a sua relevância na relação com as características da placa e da lesão. Assim, a potencialidade do VEGF como um biomarcador da doença das artérias coronárias, deve continuar a ser aprofundada.

O desenvolvimento de uma placa de aterosclerose é um fenómeno complexo e diversificado, para o qual contribuem diversas células e moléculas. Actualmente, sabe-se que durante aquele se formam micropartículas endoteliais características dos diferentes processos que ocorrem, como sejam a activação, proliferação e apoptose celulares. Assim, têm surgido alguns estudos que visam o estabelecimento destas micropartículas como possíveis marcadores do estado da doença. Desta maneira, tal como se pretendeu com este estudo, relacionar o VEGF sistémico com a função endotelial e a placa, poder-se-ia caracterizar as micropartículas endoteliais na doença das artérias coronárias, com vista à sua relação com as características da lesão aterosclerótica obtidas por VH IVUS.

Referências Bibliográficas:

- Armstrong, E. J., D. A. Morrow, et al. (2006). "Inflammatory Biomarkers in Acute Coronary Syndromes: Part II: Acute-Phase Reactants and biomarkers of endothelial cell activation." *American Heart Association* **113**: 152-155.
- Armstrong, E. J., D. A. Morrow, et al. (2006). "Inflammatory Biomarkers in Acute Coronary Syndromes: Part III: biomarkers of oxidative stress and angiogenic growth factors." *American Heart Association* **113**: 289-292.
- Assmann, G. and A. M. Gotto, Jr. (2004). "HDL Cholesterol and Protective Factors in Atherosclerosis." *Circulation* **109**(23_suppl_1): III-8-14.
- Bassand, J.-P., C. W. Hamm, et al. (2007). "Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndromes of the European Society of Cardiology." *Eur. Heart J.* **28**(13): 1598-1660.
- Bhardwaj, S., H. Roy, et al. (2005). "VEGF-A, VEGF-D and VEGF-D-Delta N Delta C induced intimal hyperplasia in carotid arteries." *European Journal of Clinical Investigation* **35**(11): 669-676.
- Blake, G. J. and P. M. Ridker (2003). "C-reactive protein and other inflammatory risk markers in acute coronary syndromes." *J. Am. Coll. Cardiol.* **41**(4_Suppl_S): 37S-42.
- Bogaty, P., L. Boyer, et al. (2008). "Clinical Utility of C-Reactive Protein Measured at Admission, Hospital Discharge, and 1 Month Later to Predict Outcome in Patients With Acute Coronary Disease: The RISCA (Recurrence and Inflammation in the Acute Coronary Syndromes) Study." *J. Am. Coll. Cardiol.* **51**(24): 2339-2346.
- Böse, D., C. v. Birgelen, et al. (2007). "Intravascular ultrasound for the evaluation of therapies targeting coronary atherosclerosis." *American College of Cardiology Foundation* **49**: 925-32.
- Boulanger, C. M., N. Amabile, et al. (2006). "Circulating Microparticles: A potential prognostic Marker for atherosclerotic Vascular Disease." *American Heart Association* **48**: 180-186.
- Bui, Q. T., M. Prempeh, et al. (2009). "Atherosclerotic plaque development." *Int J Biochem Cell Biol* **41**(11): 2109-13.
- Celletti, F., J. Waugh, et al. (2001). "Vascular endothelial growth factor enhances atherosclerotic plaque progression." *Nat Med* **7**: 425-429.
- Clarke, M., M. Bennett, et al. (2006). "Cell death in the cardiovascular system." *Heart* **93**: 659-664.
- Dai, J. and A. B. M. Rabie (2007). "VEGF: an essential mediator of both angiogenesis and endochondral ossification." *Journal of Dental Research* **86**: 937-950.
- Das, S., V. K. Alagappan, et al. (2005). "Coordinated induction of iNOS-VEGF-KDR-eNOS after resveratrol consumption: a potential mechanism for resveratrol preconditioning of the heart." *Vascul Pharmacol* **42**(5-6): 281-9.

- Dor, Y., R. Porat, et al. (2001). "Vascular endothelial growth factor and vascular adjustments to perturbations in oxygen homeostasis." *Am J Physiol Cell Physiol* **280**: C1367-74.
- Doyle, B. and N. Caplice (2007). "Plaque Neovascularization and Antiangiogenic Therapy for Atherosclerosis." *J. Am. Coll. Cardiol.* **49**(21): 2073-2080.
- Ferrara, N. (2004). "Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress." *Endocr Rev* **25**: 581-611.
- Fonarow, G. C. (2007). "The global burden of atherosclerotic vascular disease." *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine* **4**: 530-531.
- Hauer, A. D., G. H. M. van Puijvelde, et al. (2007). "Vaccination Against VEGFR2 Attenuates Initiation and Progression of Atherosclerosis." *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **27**(9): 2050-2057.
- Heeschen, C., S. Dimmeler, et al. (2003). "Prognostic significance of angiogenic growth factor serum levels in patients with acute coronary syndromes." *Circulation* **107**: 524-530.
- Holm, P. W., R. Slart, et al. (2009). "Atherosclerotic plaque development and instability: A dual role for VEGF." *Annals of Medicine* **41**(4): 257-264.
- Kavurma, M. M. and M. R. Bennett (2007). "Expression, regulation and function of trail in atherosclerosis." *Biochemical Pharmacology* **75**: 1441-1450.
- Khurana, R., M. Simons, et al. (2005). "Role of angiogenesis in cardiovascular disease - A critical appraisal." *Circulation* **112**(12): 1813-1824.
- Kimura, K., T. Hashiguchi, et al. (2007). "Serum VEGF--as a prognostic factor of atherosclerosis." *atherosclerosis* **194**(1): 182-8.
- Kumamoto, M., Y. Nakashima, et al. (1995). "Intimal neovascularization in human coronary atherosclerosis: its origin and pathophysiological significance." *Hum Pathol* **26**: 450-6.
- Libby, P. (2002). "Inflammation in atherosclerosis." *Nature* **420**: 868-874.
- Libby, P., P. Ridker, et al. (2002). "Inflammation and atherosclerosis." *Circulation* **105**: 1135-1143.
- Libby, P. and P. Theroux (2005). "Pathophysiology of coronary artery disease." *Circulation* **111**: 3481-3488.
- Madjid, M., I. Awan, et al. (2004). "Leukocyte count and coronary heart disease: Implications for risk assessment." *J. Am. Coll. Cardiol.* **44**(10): 1945-1956.
- Marques da Silva, P. (2000). "Modulação da função endotelial: um objectivo a prosseguir na terapêutica cardiovascular." *Rev Port Clin Geral* **16**: 293-311.
- Mayer, O., J. Simon, et al. (2009). "N-terminal pro B-type natriuretic peptide as prognostic marker for mortality in coronary patients without clinically manifest heart failure." *European Journal of Epidemiology* **24**(7): 363-368.
- Mehta, S. K., J. R. McCrary, et al. (2007). "Intravascular ultrasound radiofrequency analysis of coronary atherosclerosis: an emerging technology for the assessment of vulnerable plaque." *European Heart Journal* **28**: 1283-1288.

- Moulton, K. S., K. Vakili, et al. (2003). "Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis." *PNAS* **100**(8): 4736-4741.
- Nicholls, S. J., I. Sipahi, et al. (2006). "Assessment of progression and regression of coronary atherosclerosis by intravascular ultrasound. A new paradigm Shift?" *Rev Esp Cardiology* **59**(1): 57-66.
- O.M.S. (2009).
- Okraine, K., D. K. Banerjee, et al. (2004). "Coronary artery disease in the developing world." *Am Heart Journal* **148**: 7-15.
- Otrock, Z. K., J. A. Makarem, et al. (2007). "Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors: Review." *Blood Cells Molecules and Diseases* **38**(3): 258-268.
- Pakala, R., T. Watanabe, et al. (2002). "Induction of endothelial cell proliferation by angiogenic factors released by activated monocytes." *Cardiovasc Radiat Med* **3**: 95-101.
- Penumathsa, S. V., S. Koneru, et al. (2008). "Secoisolaricresinol diglucoside induces neovascularization-mediated cardioprotection against ischemia-reperfusion injury in hypercholesterolemic myocardium." *J Mol Cell Cardiol* **44**(1): 170-9.
- Pereira, P. M. D. (2007). "Estudo de Polimorfismos do Gene CD40LG e a sua Associação com a Ocorrência de Enfarte do Miocárdio." *Dissertação*.
- R&DSystems (2009). "Human VEGF Immunoassay."
- Ranjith, N., R. J. Pegoraro, et al. (2006). "Prognostic value of N-terminal-pro-brain natriuretic peptide measurements in patients with acute coronary syndromes." *Cardiovasc J S Afr* **17**(2): 60-6.
- Robbins, Cotran, et al. (2000). "Patologia Estrutural e Funcional." *Guanabara Koogan S.A. 6ª Edição*: 445-456;496-499.
- Robinson, J., K. Fox, et al. (2009). "Atherosclerosis profile and incidence of cardiovascular events: a population-based survey." *BMC Cardiovascular Disorders* **9**(1): 46.
- Sandhofer, A., T. Tatarczyk, et al. (2009). "Are plasma VEGF and its soluble receptor sFlt-1 atherogenic risk factors? Cross-sectional data from the SAPHIR study." *atherosclerosis* **206**(1): 265-9.
- Schrijvers, D. M., G. d. Meyer, et al. (2007). "Phagocytosis in atherosclerosis: Molecular mechanisms and implications for plaque progression and stability." *Cardiovascular Research* **73**: 470-480.
- Scott, J. (2004). "Pathophysiology and biochemistry of cardiovascular disease." *Genetics and Development* **14**: 271-279.
- Shah, P. K. (2002). "Pathophysiology of coronary thrombosis: role of plaque rupture and plaque erosion." *Prog Cardiovasc Dis* **44**(5): 357-68.
- Silva, J. M. and C. Saldanha (2007). "Factores de Risco Cardiovascular: Componentes Hemorreológicos e Hemostasiológicos." *Rev Port Cardiol* **26**(2): 161-182.
- Stephen, J. N., E. M. Tuzcu, et al. (2006). "Relationship Between Cardiovascular Risk Factors and Atherosclerotic Disease Burden Measured by Intravascular Ultrasound." *Journal of the American College of Cardiology* **47**(10): 1967-1975.

- Stoll, G. and M. Bendszus (2006). "Inflammation and Atherosclerosis: Novel insights into plaque formation and destabilization." *Stroke* **37**: 1923-1932.
- Tabas, I. (2005). "Consequences and Therapeutic implications of macrophage apoptosis in atherosclerosis: the importance of lesion stage and phagocytic efficiency." *American Heart Association* **25**: 2255-2264.
- Tabas, I. (2005). "Consequences and Therapeutic Implications of Macrophage Apoptosis in Atherosclerosis: The Importance of Lesion Stage and Phagocytic Efficiency." *Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology* **25**: 2255-2264.
- Takahashi, H. and M. Shibuya (2005). "The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions." *Clinical Science* **109**(3): 227-241.
- Tammela, T., B. Enholm, et al. (2005). "The biology of vascular endothelial growth factors." *Cardiovascular Research* **65**: 550-563.
- Thygesen, K., J. S. Alpert, et al. (2007). "Universal Definition of Myocardial Infarction." *Circulation* **116**(22): 2634-2653.
- Tomanek, R. J., J. S. Holifield, et al. (2002). "Role of VEGF family members and receptors in coronary vessel formation." *Dev Dyn* **225**(3): 233-40.
- Trigo, M., E. C. Rocha, et al. (2000). "Factores psicossociais de risco na doença das artérias coronárias: revisão crítica da literatura." *Revista Portuguesa de Psicossomática* **2**(2): 149-199.
- van der Vaart, H., D. S. Postma, et al. (2004). "Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review." *Thorax* **59**(8): 713-721.
- VanWijk, M. J., E. Vanbavel, et al. (2003). "Microparticles in cardiovascular diseases." *Cardiovascular Research* **59**: 277-287.
- Walshe, T. E., V. S. Dole, et al. (2009). "Inhibition of VEGF or TGF- β Signaling Activates Endothelium and Increases Leukocyte Rolling." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **29**(8): 1185-1192.
- Weber, M., O. Bazzino, et al. (2008). "N-Terminal B-Type Natriuretic Peptide Assessment Provides Incremental Prognostic Information in Patients With Acute Coronary Syndromes and Normal Troponin T Values Upon Admission." *J. Am. Coll. Cardiol.* **51**(12): 1188-1195.
- Wikipedia (2009).
- Yla-Herttuala, S., T. T. Rissanen, et al. (2007). "Vascular Endothelial Growth Factors: Biology and Current Status of Clinical Applications in Cardiovascular Medicine." *J. Am. Coll. Cardiol.* **49**(10): 1015-1026.
- Zhang, C. H. (2008). "The role of inflammatory cytokines in endothelial dysfunction." *Basic Research in Cardiology* **103**(5): 398-406.
- Zittermann, S. I. and A. C. Issekutz (2006). "Endothelial growth factors VEGF and bFGF differentially enhance monocyte and neutrophil recruitment to inflammation." *J. Leukoc. Biol.* **80**(2): 247-257.

Anexos

Índice de Abreviaturas

Alb – Albumina

Ca – Cálcio

Ch – Colesterol

Creat – Creatinina

CRP – Proteína C-reativa, do inglês *C-reactive protein*

Dislip – Dislipidémia

DM – *Diabetes mellitus*

FIB – Componente fibrótica

FIBLIP – Componente fibrolipídica

G. abd – Gordura abdominal

Gli – Glicose

HDL – Lipoproteínas de alta densidade, do inglês *High density lipoproteins*

Hipt – Hipertensão

HMT – Hematócrito

IMC – Índice de Massa Corporal (kg/m²)

Leu – Leucócitos

Linf – Linfócitos

Mono – Monócitos

NEC – Necrose

Neu – Neutrófilos

Plaq - Plaquetas

st – Estenose

Tab – Tabaco

TG – Triglicéridos

TnT – Troponina T

Correlações de Spearman entre Factores de risco e Indicadores bioquímicos

		Idade	Hipt	Dislip	DM	G. abd	IMC	Tab	gli	creat	alb	TG	Ch	HDL	LDL	TnT	NT-proBNP	CRP	HMT	Leu	Neut	Linf	Mono	Plaq	sexo
Idade	R	1,000	-,095	,412*	,295	,283	,027	-,283	-,152	,418*	-,234	-,096	,008	,118	,039	-,199	,341	,211	,091	,039	,093	-,167	-,171	-,373	,021
	Sig.	.	,646	,037	,144	,201	,901	,161	,458	,038	,320	,642	,969	,565	,849	,376	,103	,302	,660	,856	,665	,435	,424	,072	,920
Hipt	R	-,095	1,000	,278	,264	-,039	-,413*	,029	,061	,225	,046	,244	,050	-,106	,028	-,147	-,026	,223	-,117	,153	,038	,255	,077	,409*	,272
	Sig.	,646	.	,169	,193	,865	,050	,890	,767	,279	,848	,229	,808	,607	,893	,514	,906	,274	,570	,475	,859	,228	,722	,047	,178
Dislip	R	,412*	,278	1,000	,444*	,041	-,124	-,400*	,294	,408*	-,283	-,144	-,156	-,278	,039	-,245	,026	,317	-,133	-,026	-,026	-,051	-,192	,134	,272
	Sig.	,037	,169	.	,023	,856	,573	,043	,144	,043	,226	,481	,448	,169	,850	,272	,906	,114	,516	,906	,906	,813	,369	,532	,178
DM	R	,295	,264	,444*	1,000	-,092	-,079	-,143	-,306	,057	-,272	-,256	-,189	-,206	-,006	-,359	,111	,134	,189	,000	,160	-,236	-,132	,195	,065
	Sig.	,144	,193	,023	.	,683	,721	,487	,129	,787	,246	,208	,355	,313	,978	,100	,605	,515	,355	1,000	,455	,266	,538	,362	,753
G. abd	R	,283	-,039	,041	-,092	1,000	,266	-,100	,238	,348	-,077	,089	,030	-,015	-,067	,000	,053	,269	-,127	,173	,000	,045	,045	,082	,498*
	Sig.	,201	,865	,856	,683	.	,244	,659	,285	,122	,760	,692	,895	,947	,767	1,000	,824	,226	,574	,467	1,000	,849	,849	,731	,018
IMC	R	,027	-,413*	-,124	-,079	,266	1,000	,060	,230	-,493*	,212	-,060	-,105	-,060	-,070	-,274	-,236	-,436*	,260	-,513*	-,454*	-,314	-,272	-,318	,000
	Sig.	,901	,050	,573	,721	,244	.	,784	,291	,020	,383	,785	,632	,785	,751	,257	,290	,037	,231	,018	,039	,165	,234	,161	1,000
Tab	R	-,283	,029	-,400*	-,143	-,100	,060	1,000	,056	-,291	-,235	,253	-,016	-,070	-,151	,322	,366	-,080	-,234	,152	,015	,324	,465*	,030	-,313
	Sig.	,161	,890	,043	,487	,659	,784	.	,787	,157	,319	,213	,937	,734	,461	,143	,078	,699	,251	,477	,944	,123	,022	,888	,119
gli	R	-,152	,061	,294	-,306	,238	,230	,056	1,000	-,050	,064	,341	,171	-,256	,141	-,055	-,083	,103	-,445*	-,192	-,304	,060	,021	,027	,109
	Sig.	,458	,767	,144	,129	,285	,291	,787	.	,814	,788	,088	,403	,208	,492	,807	,700	,616	,023	,368	,148	,781	,921	,902	,596
creat	R	,418*	,225	,408*	,057	,348	-,493*	-,291	-,050	1,000	-,499*	-,087	,092	-,122	,111	,248	,507*	,586**	-,004	,502*	,496*	,055	,319	,204	,183
	Sig.	,038	,279	,043	,787	,122	,020	,157	,814	.	,030	,678	,660	,562	,597	,265	,014	,002	,986	,012	,014	,799	,129	,339	,381
alb	R	-,234	,046	-,283	-,272	-,077	,212	-,235	,064	-,499*	1,000	-,187	,092	,316	,092	-,481	-,719**	,669**	,338	-,484*	-,686**	-,116	-,432	-,163	-,205
	Sig.	,320	,848	,226	,246	,760	,383	,319	,788	,030	.	,430	,701	,175	,698	,051	,000	,001	,146	,042	,002	,645	,074	,518	,387
TG	R	-,096	,244	-,144	-,256	,089	-,060	,253	,341	-,087	-,187	1,000	,510**	-,142	,274	,311	,343	,390*	-,294	,237	,126	,176	,298	-,020	,254
	Sig.	,642	,229	,481	,208	,692	,785	,213	,088	,678	,430	.	,008	,490	,176	,159	,101	,049	,145	,264	,557	,410	,157	,928	,210
Ch	R	,008	,050	-,156	-,189	,030	-,105	-,016	,171	,092	,092	,510**	1,000	,160	,886**	-,104	,154	,118	,044	,027	-,141	,161	,074	,072	,088
	Sig.	,969	,808	,448	,355	,895	,632	,937	,403	,660	,701	,008	.	,434	,000	,646	,474	,564	,830	,902	,513	,451	,731	,740	,668
HDL	R	,118	-,106	-,278	-,206	-,015	-,060	-,070	-,256	-,122	,316	-,142	,160	1,000	-,076	-,119	-,129	-,259	,011	-,017	-,189	,331	-,103	-,059	,146
	Sig.	,565	,607	,169	,313	,947	,785	,734	,208	,562	,175	,490	,434	.	,713	,598	,548	,201	,956	,936	,377	,114	,633	,786	,478

*. Diferença significativa (p-value< 0,05); **.Diferença significante (p-value< 0,001)

Correlações de Spearman entre Factores de risco e Indicadores bioquímicos

		Idade	Hipt	Dislip	DM	G. abd	IMC	Tab	gli	creat	alb	TG	Ch	HDL	LDL	TnT	NT-proBNP	CRP	HMT	Leu	Neut	Linf	Mono	Plaq	sexo
LDL	R	,039	,028	,039	-,006	-,067	-,070	-,151	,141	,111	,092	,274	,886**	-,076	1,000	-,340	,029	,147	,172	-,041	-,155	,032	-,076	,091	-,010
	Sig.	,849	,893	,850	,978	,767	,751	,461	,492	,597	,698	,176	,000	,713	.	,122	,892	,474	,401	,849	,471	,883	,725	,674	,960
TnT	R	-,199	-,147	-,245	-,359	,000	-,274	,322	-,055	,248	-,481	,311	-,104	-,119	-,340	1,000	,502*	,444*	-,471*	,465*	,405	,250	,710**	,001	-,019
	Sig.	,376	,514	,272	,100	1,000	,257	,143	,807	,265	,051	,159	,646	,598	,122	.	,024	,038	,027	,029	,062	,261	,000	,996	,935
NT-proBNP	R	,341	-,026	,026	,111	,053	-,236	,366	-,083	,507*	-,719**	,343	,154	-,129	,029	,502*	1,000	,561**	-,189	,578**	,640**	,050	,625**	,093	-,042
	Sig.	,103	,906	,906	,605	,824	,290	,078	,700	,014	,000	,101	,474	,548	,892	,024	.	,004	,377	,005	,001	,824	,002	,682	,844
CRP	R	,211	,223	,317	,134	,269	-,436*	-,080	,103	,586**	-,669**	,390*	,118	-,259	,147	,444*	,561**	1,000	-,297	,620**	,570**	,174	,452*	,237	,385
	Sig.	,302	,274	,114	,515	,226	,037	,699	,616	,002	,001	,049	,564	,201	,474	,038	,004	.	,141	,001	,004	,417	,027	,265	,052
HMT	R	,091	-,117	-,133	,189	-,127	,260	-,234	,445*	-,004	,338	-,294	,044	,011	,172	,471*	-,189	-,297	1,000	-,190	-,056	-,246	-,313	-,175	-,171
	Sig.	,660	,570	,516	,355	,574	,231	,251	,023	,986	,146	,145	,830	,956	,401	,027	,377	,141	.	,374	,797	,246	,136	,414	,402
Leu	R	,039	,153	-,026	,000	,173	-,513*	,152	-,192	,502*	-,484*	,237	,027	-,017	-,041	,465*	,578**	,620**	-,190	1,000	,878**	,449*	,717**	,397	,147
	Sig.	,856	,475	,906	1,000	,467	,018	,477	,368	,012	,042	,264	,902	,936	,849	,029	,005	,001	,374	.	,000	,028	,000	,055	,495
Neut	R	,093	,038	-,026	,160	,000	-,454*	,015	-,304	,496*	-,686**	,126	-,141	-,189	-,155	,405	,640**	,570**	-,056	,878**	1,000	,047	,606**	,230	-,018
	Sig.	,665	,859	,906	,455	1,000	,039	,944	,148	,014	,002	,557	,513	,377	,471	,062	,001	,004	,797	,000	.	,827	,002	,279	,932
Linf	R	-,167	,255	-,051	-,236	,045	-,314	,324	,060	,055	-,116	,176	,161	,331	,032	,250	,050	,174	-,246	,449*	,047	1,000	,304	,336	,378
	Sig.	,435	,228	,813	,266	,849	,165	,123	,781	,799	,645	,410	,451	,114	,883	,261	,824	,417	,246	,028	,827	.	,148	,109	,068
Mono	R	-,171	,077	-,192	-,132	,045	-,272	,465*	,021	,319	-,432	,298	,074	-,103	-,076	,710**	,625**	,452*	-,313	,717**	,606**	,304	1,000	,365	-,110
	Sig.	,424	,722	,369	,538	,849	,234	,022	,921	,129	,074	,157	,731	,633	,725	,000	,002	,027	,136	,000	,002	,148	.	,080	,609
Plaq	R	-,373	,409*	,134	,195	,082	-,318	,030	,027	,204	-,163	-,020	,072	-,059	,091	,001	,093	,237	-,175	,397	,230	,336	,365	1,000	,354
	Sig.	,072	,047	,532	,362	,731	,161	,888	,902	,339	,518	,928	,740	,786	,674	,996	,682	,265	,414	,055	,279	,109	,080	.	,089

*. Diferença significativa (p-value< 0,05); **.Diferença significante (p-value< 0,001)

Correlações de Spearman entre VEGF, Indicadores bioquímicos e Factores de risco

		VEGF	idade	peso	altura	p. cintura	p. sistólica	p. diastólica	gli	creat	alb	TG	Ch	HDL	LDL	TnT	BNP	CRP	HMT	Leu	Neut	Linf	Mono	Plaq
VEGF	R	1,000	-,030	,082	-,086	,167	-,247	,058	,193	,134	-,431	,647**	,445*	-,303	,270	,318	,341	,426*	-,328	,363	,333	,098	,495*	,156
	Sig.	.	,891	,724	,712	,482	,323	,820	,378	,542	,074	,001	,033	,159	,213	,172	,131	,043	,126	,097	,130	,665	,019	,487

*. Diferença significativa (p-value< 0,05); **.Diferença significante (p-value< 0,001)

Correlações de Spearman entre VEGF e Constituição da placa

		VEGF	FIB	FIB classe	FIBLIP	FIBLIP classe	Ca	Ca classe	NEC	NEC classe	st	st classe
VEGF	R	1,000	,419	,516	-,206	-,180	-,529	-,575*	-,236	-,093	,272	,303
	Sig.	.	,136	,059	,480	,538	,052	,031	,416	,752	,347	,293
FIB	R	,419	1,000	,868**	-,448	-,221	-,694**	-,651**	-,714**	-,656**	,193	,279
	Sig.	,136	.	,000	,094	,428	,004	,009	,003	,008	,492	,314
FIB classe	R	,516	,868**	1,000	-,434	-,218	-,806**	-,875**	-,588*	-,472	,217	,339
	Sig.	,059	,000	.	,106	,435	,000	,000	,021	,075	,438	,216
FIBLIP	R	-,206	-,448	-,434	1,000	,852**	,125	,217	-,225	-,213	-,305	-,573*
	Sig.	,480	,094	,106	.	,000	,658	,437	,419	,446	,269	,025
FIBLIP classe	R	-,180	-,221	-,218	,852**	1,000	-,142	,055	-,409	-,289	-,079	-,327
	Sig.	,538	,428	,435	,000	.	,614	,847	,130	,297	,780	,234
Ca	R	-,529	-,694**	-,806**	,125	-,142	1,000	,868**	,635*	,459	,017	-,108
	Sig.	,052	,004	,000	,658	,614	.	,000	,011	,085	,952	,700
Ca classe	R	-,575*	-,651**	-,875**	,217	,055	,868**	1,000	,526*	,378	,000	-,196
	Sig.	,031	,009	,000	,437	,847	,000	.	,044	,165	1,000	,483
NEC	R	-,236	-,714**	-,588*	-,225	-,409	,635*	,526*	1,000	,818**	-,102	-,031
	Sig.	,416	,003	,021	,419	,130	,011	,044	.	,000	,718	,913
NEC classe	R	-,093	-,656**	-,472	-,213	-,289	,459	,378	,818**	1,000	,147	,189
	Sig.	,752	,008	,075	,446	,297	,085	,165	,000	.	,600	,500
st	R	,272	,193	,217	-,305	-,079	,017	,000	-,102	,147	1,000	,867**
	Sig.	,347	,492	,438	,269	,780	,952	1,000	,718	,600	.	,000
st classe	R	,303	,279	,339	-,573*	-,327	-,108	-,196	-,031	,189	,867**	1,000
	Sig.	,293	,314	,216	,025	,234	,700	,483	,913	,500	,000	.

*. Diferença significativa (p-value< 0,05); **.Diferença significante (p-value< 0,001)

Correlações de Spearman entre Constituição da placa e Indicadores sanguíneos

		FIB	FIB classe	FIBLIP	FIBLIP classe	Ca	Ca classe	NEC	NEC classe	st	st classe	gli	creat	alb	TG	Ch	HDL	LDL
FIB	R	1	,868**	-0,448	-0,221	-,694**	-,651**	-,714**	-,656**	0,193	0,279	-0,161	0,192	-0,365	0,371	0,453	-0,043	0,355
	Sig.	.	0	0,094	0,428	0,004	0,009	0,003	0,008	0,492	0,314	0,566	0,494	0,199	0,174	0,09	0,879	0,194
FIB classe	R	,868**	1	-0,434	-0,218	-,806**	-,875**	-,588*	-0,472	0,217	0,339	-0,34	0,129	-0,418	0,371	0,294	-0,217	0,186
	Sig.	0	.	0,106	0,435	0	0	0,021	0,075	0,438	0,216	0,215	0,646	0,137	0,173	0,287	0,438	0,507
FIBLIP	R	-0,448	-0,434	1	,852**	0,125	0,217	-0,225	-0,213	-0,305	-,573*	0,125	-0,296	0,332	-0,29	-0,085	0,122	-0,077
	Sig.	0,094	0,106	.	0	0,658	0,437	0,419	0,446	0,269	0,025	0,657	0,284	0,246	0,295	0,763	0,666	0,785
FIBLIP classe	R	-0,221	-0,218	,852**	1	-0,142	0,055	-0,409	-0,289	-0,079	-0,327	0,126	-0,345	0,15	-0,22	-0,063	-0,094	-0,047
	Sig.	0,428	0,435	0	.	0,614	0,847	0,13	0,297	0,78	0,234	0,655	0,208	0,609	0,43	0,823	0,738	0,867
Ca	R	-,694**	-,806**	0,125	-0,142	1	,868**	,635*	0,459	0,017	-0,108	0,218	-0,121	0,298	-0,46	-,551*	0,148	-0,395
	Sig.	0,004	0	0,658	0,614	.	0	0,011	0,085	0,952	0,7	0,435	0,667	0,3	0,085	0,033	0,597	0,145
Ca classe	R	-,651**	-,875**	0,217	0,055	,868**	1	,526*	0,378	0	-0,196	0,124	-0,145	0,449	-,526*	-0,356	0,34	-0,248
	Sig.	0,009	0	0,437	0,847	0	.	0,044	0,165	1	0,483	0,66	0,605	0,107	0,044	0,193	0,215	0,373
NEC	R	-,714**	-,588*	-0,225	-0,409	,635*	,526*	1	,818**	-0,102	-0,031	-0,025	0,095	0,147	-0,214	-0,424	0,007	-0,411
	Sig.	0,003	0,021	0,419	0,13	0,011	0,044	.	0	0,718	0,913	0,93	0,736	0,616	0,443	0,116	0,98	0,128
NEC classe	R	-,656**	-0,472	-0,213	-0,289	0,459	0,378	,818**	1	0,147	0,189	-0,033	0,205	-0,139	-0,196	-0,262	0	-0,18
	Sig.	0,008	0,075	0,446	0,297	0,085	0,165	0	.	0,6	0,5	0,908	0,464	0,635	0,483	0,345	1	0,52
st	R	0,193	0,217	-0,305	-0,079	0,017	0	-0,102	0,147	1	,867**	-0,004	-0,057	-0,156	0,13	0,025	-0,477	0,105
	Sig.	0,492	0,438	0,269	0,78	0,952	1	0,718	0,6	.	0	0,99	0,84	0,594	0,643	0,929	0,072	0,71
st classe	R	0,279	0,339	-,573*	-0,327	-0,108	-0,196	-0,031	0,189	,867**	1	0,062	0,032	-0,288	0,34	0,062	-0,464	0,108
	Sig.	0,314	0,216	0,025	0,234	0,7	0,483	0,913	0,5	0	.	0,827	0,909	0,319	0,215	0,826	0,082	0,7

*. Diferença significativa (p-value< 0,05); **.Diferença significante (p-value< 0,001)

Correlações de Spearman entre Constituição da placa e Indicadores sanguíneos										
	TnT	NT-proBNP	CRP	HMT	Leu	Neut	Linf	Mono	Plaq	VEGF
FIB	0,163	0,414	0,298	-0,237	,537*	0,51	0,068	0,204	,535*	0,419
	0,578	0,125	0,28	0,396	0,039	0,052	0,81	0,466	0,04	0,136
FIB classe	0,179	0,402	0,124	-0,17	0,495	,588*	-0,062	0,124	0,279	0,516
	0,539	0,137	0,659	0,544	0,061	0,021	0,827	0,66	0,314	0,059
FIBLIP	-0,47	-0,381	-0,355	0,301	-,619*	-,614*	-0,141	-0,465	-,573*	-0,206
	0,09	0,161	0,194	0,276	0,014	0,015	0,615	0,081	0,026	0,48
FIBLIP classe	-,538*	-0,22	-0,316	0,11	-0,504	-0,504	-0,157	-0,472	-0,268	-0,18
	0,047	0,43	0,251	0,695	0,055	0,055	0,575	0,075	0,334	0,538
Ca	0,07	-0,188	-0,038	0,149	-0,236	-0,245	0,029	0,05	-0,253	-0,529
	0,811	0,503	0,894	0,597	0,397	0,379	0,919	0,859	0,364	0,052
Ca classe	-0,089	-0,217	-0,155	0,186	-0,34	-0,464	0,093	-0,031	-0,062	-,575*
	0,763	0,438	0,581	0,507	0,215	0,082	0,742	0,913	0,826	0,031
NEC	0,306	-0,054	-0,068	0,052	-0,132	-0,046	-0,021	0,221	-0,174	-0,236
	0,288	0,85	0,809	0,854	0,639	0,869	0,94	0,428	0,536	0,416
NEC classe	0,116	0,098	-0,066	-0,049	0	0,065	0,065	0,229	-0,082	-0,093
	0,693	0,728	0,816	0,862	1	0,817	0,817	0,411	0,771	0,752
st	0,11	,515*	0,048	0,097	0,433	0,436	-0,045	0,365	0,139	0,272
	0,708	0,05	0,864	0,732	0,107	0,104	0,874	0,181	0,622	0,347
st classe	0,289	0,495	0,248	-0,108	,650**	,619*	0,124	0,495	0,232	0,303
	0,317	0,061	0,372	0,701	0,009	0,014	0,66	0,061	0,405	0,293

*. Diferença significativa (p-value < 0,05); **.Diferença significante (p-value < 0,001)

Correlações de Spearman entre Características da placa e Indicadores sanguíneos

		Vaso lesado	Nº vasos lesados	Morfo. lesão	Comp. lesão	gli	creat	alb	TG	Ch	HDL	LDL	TnT	NT-proBNP	CRP	HMT	Leu	Neut	Linf	Mono	Plaq	VEGF
Vaso lesado	R	1,000	,424	,214	,072	,023	-,091	-,123	-,265	,369	-,031	,565*	-,100	,044	-,273	,024	-,127	-,088	-,132	-,234	-,315	-,015
	Sig.	.	,079	,394	,790	,929	,730	,676	,288	,132	,904	,015	,722	,871	,273	,926	,628	,736	,614	,367	,217	,957
Nº vasos lesados	R	,424	1,000	,219	,000	-,091	,000	-,316	-,284	-,011	-,228	,273	,040	-,073	-,080	,182	-,025	,075	-,151	,063	-,289	-,056
	Sig.	,079	.	,382	1,000	,720	1,000	,272	,253	,964	,363	,273	,886	,788	,753	,470	,924	,774	,564	,811	,260	,836
Morfo. lesão	R	,214	,219	1,000	-,203	,251	-,097	,260	-,165	-,046	,008	,089	-,295	-,142	-,147	-,342	-,417	-,352	-,118	-,172	-,007	-,101
	Sig.	,394	,382	.	,452	,315	,710	,369	,513	,858	,975	,725	,285	,601	,561	,164	,096	,165	,652	,510	,978	,711
Comp. lesão	R	,072	,000	-,203	1,000	-,249	,254	,129	-,060	,163	,060	,129	-,075	,340	-,232	,180	,208	,132	-,094	,331	,057	-,014
	Sig.	,790	1,000	,452	.	,353	,361	,690	,825	,546	,825	,634	,808	,234	,386	,504	,457	,638	,738	,228	,841	,962

*. Diferença significativa (p-value< 0,05); **.Diferença significante (p-value< 0,001)

Correlações de Spearman entre Constituição da placa e Factores de risco																			
		FIB	FIB classe	FIBLIP	FIBLIP classe	Ca	Ca classe	NEC	NEC classe	st	st classe	Idade	sexo	Hipt	Dislip	DM	IMC	G. abd	Tab
FIB	R	1,000	,868**	-,448	-,221	-,694**	-,651**	-,714**	-,656**	,193	,279	,023	,142	-,171	-,227	,019	-,435	,414	,032
	Sig.	.	,000	,094	,428	,004	,009	,003	,008	,492	,314	,934	,613	,543	,415	,945	,120	,160	,909
FIB classe	R	,868**	1,000	-,434	-,218	-,806**	-,875**	-,588*	-,472	,217	,339	,031	,055	-,071	-,262	,134	-,350	,238	,000
	Sig.	,000	.	,106	,435	,000	,000	,021	,075	,438	,216	,913	,847	,800	,346	,635	,220	,433	1,000
FIBLIP	R	-,448	-,434	1,000	,852**	,125	,217	-,225	-,213	-,305	-,573*	,464	,063	-,046	,280	,328	,518	,413	-,055
	Sig.	,094	,106	.	,000	,658	,437	,419	,446	,269	,025	,082	,823	,869	,313	,232	,058	,161	,844
FIBLIP classe	R	-,221	-,218	,852**	1,000	-,142	,055	-,409	-,289	-,079	-,327	,410	,167	,055	,431	,408	,487	,386	,081
	Sig.	,428	,435	,000	.	,614	,847	,130	,297	,780	,234	,129	,553	,847	,109	,131	,077	,193	,773
Ca	R	-,694**	-,806**	,125	-,142	1,000	,868**	,635*	,459	,017	-,108	-,064	-,268	-,155	,017	-,213	,221	-,393	,000
	Sig.	,004	,000	,658	,614	.	,000	,011	,085	,952	,700	,819	,334	,581	,951	,447	,447	,184	1,000
Ca classe	R	-,651**	-,875**	,217	,055	,868**	1,000	,526*	,378	,000	-,196	-,015	-,218	-,071	,040	-,200	,350	-,238	,080
	Sig.	,009	,000	,437	,847	,000	.	,044	,165	1,000	,483	,956	,435	,800	,887	,474	,220	,433	,777
NEC	R	-,714**	-,588*	-,225	-,409	,635*	,526*	1,000	,818**	-,102	-,031	-,272	-,220	,093	-,035	-,116	,065	-,619*	,046
	Sig.	,003	,021	,419	,130	,011	,044	.	,000	,718	,913	,327	,430	,742	,902	,681	,825	,024	,870
NEC classe	R	-,656**	-,472	-,213	-,289	,459	,378	,818**	1,000	,147	,189	-,131	-,289	,378	,107	,000	,000	-,720**	,169
	Sig.	,008	,075	,446	,297	,085	,165	,000	.	,600	,500	,642	,297	,165	,705	1,000	1,000	,006	,547
st	R	,193	,217	-,305	-,079	,017	,000	-,102	,147	1,000	,867**	-,021	-,583*	,015	-,262	-,270	,138	-,247	,581*
	Sig.	,492	,438	,269	,780	,952	1,000	,718	,600	.	,000	,939	,022	,956	,346	,330	,639	,415	,023
st classe	R	,279	,339	-,573*	-,327	-,108	-,196	-,031	,189	,867**	1,000	-,356	-,327	,071	-,342	-,468	-,059	-,220	,559*
	Sig.	,314	,216	,025	,234	,700	,483	,913	,500	,000	.	,193	,234	,800	,211	,079	,841	,471	,030

*. Diferença significativa (p-value < 0,05); **.Diferença significante (p-value < 0,001)

Correlações de Spearman entre Características da placa e Factores de risco													
		Vaso lesado	Nº vasos lesados	Morfo. lesão	Comp. lesão	Idade	sexo	Hipt	Dislip	DM	IMC	G. abd	Tab
Vaso lesado	R	1,000	,424	,214	,072	,103	-,472*	-,354	-,012	-,024	,157	-,269	-,210
	Sig.	.	,079	,394	,790	,684	,048	,150	,963	,926	,560	,333	,404
Nº vasos lesados	R	,424	1,000	,219	,000	-,125	-,250	-,250	,250	,250	-,105	-,500	-,055
	Sig.	,079	.	,382	1,000	,621	,317	,317	,317	,317	,698	,058	,830
Morfo. lesão	R	,214	,219	1,000	-,203	-,115	,157	,157	,157	,110	,076	-,023	-,082
	Sig.	,394	,382	.	,452	,649	,535	,535	,535	,665	,779	,934	,746
Comp. lesão	R	,072	,000	-,203	1,000	,480	-,490	,000	,000	,000	-,378	-,143	-,105
	Sig.	,790	1,000	,452	.	,060	,054	1,000	1,000	1,000	,183	,642	,699

*. Diferença significativa (p-value < 0,05); **.Diferença significante (p-value < 0,001)