JULIANO RASQUIN SLHESSARENKO

**Efeito da dose elevada de ataque de Rosuvastatina
na concentração sérica de marcadores inflamatórios
na fase aguda da intervenção coronária percutânea
com implante de stents metálicos**

Tese apresentada ao Instituto Dante
Pazzanese de Cardiologia, Entidade
Associada da Universidade de São
Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Ciências.

Programa de Medicina, Tecnologia e
Intervenção em Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. José Ribamar
Costa Júnior

Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 01 de novembro de
2011. A versão original está disponível na Biblioteca do IDPC.

São Paulo
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

©reprodução autorizada pelo autor

Slhessarenko, Juliano Rasquin

Efeito da dose elevada de ataque de Rosuvastatina na concentração sérica de marcadores inflamatórios na fase aguda da intervenção coronária percutânea com implante de *stents* metálicos / Juliano Rasquin Slhessarenko. São Paulo, 2017.

Tese (doutorado)--Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia
Universidade de São Paulo
Área de Concentração: Medicina, Tecnologia e Intervenção em
Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. José Ribamar Costa Júnior

Descritores: 1. Rosuvastatina Cálcica. 2. *Stents*. 3. Mediadores de
Inflamação. 4. Interleucinas. 5. Expressão Gênica.

USP/IDPC/Biblioteca/075/17

DEDICATÓRIA

*Ao DEUS em que sempre acreditei e busquei forças
nos momentos de dificuldades. Nos momentos em que estava
desacreditado ou desanimado era em Deus que buscava minha
garra e persistência para continuar.*

*Aos pacientes, pela confiança e colaboração com a pesquisa e
aceitarem fazer parte deste estudo.*

*Aos meus pais, Miguel e Maria Jussara, que sempre me
ensinaram a ser ético, honesto, ter força para vencer não
importando o obstáculo, o importante é que tudo na vida tem
um jeito e devemos lutar sempre e nunca desistir.*

*A minha amada filha, Julia, que DEUS me presenteou e me fez
entender o sentido da vida.*

À minha AMADA esposa Renata.

Ela é a mulher da minha vida, amo ela mais que tudo.

*Ao meu AMIGO e Orientador Dr. José Ribamar Costa Júnior.
Ele foi o enviado por DEUS para que o propósito fosse realizado.*

AGRADECIMENTOS

Ao Amigo e Orientador Prof. Dr. José Ribamar Costa Júnior, pela orientação, competência e dedicação a este estudo, bem como revisão minuciosa desta tese. Meus agradecimentos eternos e, minha admiração e respeito.

À Prof^a Dra. Amanda Guerra de Moraes Rego Souza, meus agradecimentos pela dedicação e pelas orientações na Pós-Graduação e por ser grande incentivadora das pesquisas.

Ao Prof. Dr. Alexandre Abizaid, atual Diretor do Setor de Hemodinâmica do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, pela cordialidade, pelo estímulo a esta pesquisa, por receber-me no Programa de Pós-Graduação e por ser um líder que engrandece e honra o nome do país na comunidade científica mundial na área da cardiologia.

Ao Dr. Mario Hirata, que sempre me atendia com gentileza e sabedoria nas minhas dúvidas, demonstrando respeito e grande conhecimento científico. Obrigado por toda colaboração do Laboratório Biomol. Sem ele meu sonho não seria possível.

À Nídia Barbosa, Edna Valéria da Silva, Renata da Silva Lima, Maria Helena Almeida, foram colaboradoras diretas e enviadas por Deus. Sem vocês, o sonho seria mais distante.

À Dra Gisele Medeiros Bastos, coordenadora do Laboratório Biomol, também enviada por Deus para ter participação direta na pesquisa e ajudou a entender um pouco a metodologia.

Aos Doutores Dimitry Siqueira, Fausto Feres, Rodolfo Staico, Ricardo Costa e Daniel Chamié, e, também, aos Doutores Sérgio Braga e Galo Maldonado, pelos momentos agradáveis de convivência e, ao mesmo tempo, orientadores e incentivadores da pesquisa.

À Dra. Elisa Mieko Suemitsu Higa, professora da Unifesp e Margareth Gori Mouro, Técnica Unifesp, agradeço a confiança por permitirem o acesso ao Setor do Laboratório de Dosagem de Óxido Nítrico, ao mesmo tempo, por concederem a oportunidade de aprender durante o convívio.

À minha esposa Renata Dezengrini Shessarenko, amor da minha vida, que com o seu conhecimento me ajudou a desenvolver a ideia para concretizar este trabalho.

Ao Guilherme Carvalho Sobrera mestrando do Laboratório do Prof. Dr. Mario Hirata, que me auxiliou brilhantemente na dosagem dos marcadores inflamatórios, pela grande colaboração para a pesquisa e os incentivos nesta jornada.

Aos amigos da Pós-Graduação, pelo companheirismo e pelos bons momentos que ficarão marcados.

À FAPESP pelo auxílio financeiro que propiciou o desenvolvimento desta tese de doutorado. Ao Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, por toda minha formação, em Cardiologia, Hemodinâmica e, nesta jornada o Doutorado. Ao Programa de Pós-Graduação em Cardiologia da USP por conceder a oportunidade de cursar o Doutorado tão sonhado.

“Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo”.
(Martin Luther King)

NORMALIZAÇÃO ADOPTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

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

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

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	2
1.1.	Evolução da intervenção coronária percutânea.....	3
1.2.	Resposta inflamatória da parede vascular o implante de stent coronariano.....	6
1.3.	Expressão gênica.....	7
1.4.	As interleucinas e citocinas na doença aterosclerótica coronária e após intervenção coronariana percutânea.....	8
1.4.1.	Interleucina 1 (IL-1).....	10
1.4.2.	Interleucina 6 (IL6).....	11
1.4.3.	Interleucina 8 (IL-8).....	11
1.4.4.	Fator de necrose tumoral α (TNF- α).....	12
1.4.5.	Fator de crescimento tumoral (TGF- β).....	14
1.4.6.	Inibidor do ativador de plasminogênio 1 (PAI-1).....	15
1.4.7.	Proteína quimioatratativa de monócitos-1 (MCP-1/CCR2).....	16
1.5.	Proteína C reativa (PCR).....	17
1.6.	Óxido nítrico (NO).....	18
1.7.	As estatinas.....	19
1.7.1.	A rosuvastatina.....	20
1.7.2.	Contra-indicação a rosuvatina e interações medicamentosas.....	23
2.	HIPÓTESE CIENTÍFICA.....	26
3.	OBJETIVOS.....	28
3.1.	Objetivo primário.....	28
3.2.	Objetivos secundários.....	28
4.	METODOLOGIA.....	30
4.1.	Desenho do estudo e população avaliada.....	30
4.2.	Casuística.....	31
4.2.1.	CrITÉRIOS de inclusão.....	31
4.2.2.	CrITÉRIOS de exclusão.....	32

4.3.	Preparo do paciente, aspectos técnicos do procedimento e protocolo medicamentoso adjunto.....	33
4.4.	Definições.....	35
4.5.	Análise da expressão de genes relacionados à resposta inflamatória aguda.....	38
4.5.1.	Extração de RNA total.....	38
4.5.2.	Transcrição reversa e reação da polimerase em cadeia (RT PCR).....	39
4.5.3.	Escolha do gene de referência (normalizador).....	39
4.5.4.	Análise da expressão gênica pela reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR).....	39
4.6.	Multiplex Luminex para dosagem de marcadores inflamatórios.....	41
4.7.	Dosagem de óxido nítrico.....	42
4.8.	Hemograma completo e dosagem de proteína C reativa (PCR).....	43
4.9.	Análise estatística.....	43
4.10.	Cálculo amostral.....	44
5.	RESULTADOS.....	46
5.1.	Caracterização dos pacientes incluídos no estudo.....	46
5.2.	Comparações entre os Grupos Tratado e Controle quanto aos níveis de CK-MB e características clínicas no acompanhamento pré e pós-IC.....	51
6.	DISCUSSÃO.....	64
7.	LIMITAÇÕES.....	73
8.	CONCLUSÕES.....	75
8.1.	Implicações clínicas.....	76
9.	ANEXOS.....	78
10.	REFERÊNCIAS.....	86

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS	ácido acetil salicílico
ACCF	<i>American College of Cardiology Foundation</i>
AHA	<i>American Heart Association</i>
ARC	<i>Academic Research Consortium</i>
ATC	angioplastia transluminal percutânea
CCL2	MCP-1 = proteína quimioatrativa de monócitos - 1
CK-MB	creatino-cinase isoenzima MB
ClCr	clearance da creatinina
CML	células da musculatura lisa
C _{max}	concentração máxima
cTn	troponina cardíaca
DAC	doença arterial coronária
DES	stents farmacológicos
DCV	doenças cardiovasculares
ECM	matrix extracelular
ECAM	eventos cardíacos maiores adversos
<i>et al.</i>	e outros
HDL	colesterol de alta densidade
IAM	infarto agudo do miocárdio
ICP	intervenção coronária percutânea
IFN	interferon
IL	interleucina
IMC	índice de massa corpórea
IMP	infarto do miocárdio periprocedimento
LDL	colesterol de baixa densidade
MCP-1	proteína quimioatrativa de monócitos - 1
n	número
nmol/L	nanomol por litro
NO	óxido nítrico
NOS	óxido nítrico sintase

NS	não significativo
PAI-1	inibidor do ativador do plasminogénio-1
PCR	proteína C reativa
RM	revascularização miocárdica
RNA	ácido ribonucleico
SF	stent farmacológico
SCA	síndrome coronariana aguda
TGF	fator decrescimento tumoral
TIMI	<i>Thrombolysis in Myocardial Infarction</i>
TNF	fator de necrose tumoral
vs	<i>versus</i>
VSMC	células do músculo liso vascular

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades farmacocinéticas das estatinas.	21
Tabela 2 - Relação dos genes e especificações dos ensaios utilizados na determinação de expressão gênica pela RT-qPCR.....	40
Tabela 3 - Variáveis e características clínicas de pacientes incluídos nos Grupos Tratado e Controle.	47
Tabela 4 - Comparações entre os grupos quanto ao tratamento médico ambulatorial.	48
Tabela 5 - Características bioquímicas dos Grupos Tratado e Controle pré-procedimento.	49
Tabela 6 - Características angiográficas dos Grupos Tratado e Controle.....	49
Tabela 7 - Comparações entre os Grupos Tratado e Controle quanto às características do procedimento de ICP.	50
Tabela 8 - Intercorrências angiográficas observadas durante o procedimento de ICP nos Grupos Tratado e Controle.....	51
Tabela 9 - Desfecho intra-hospitalar nos grupos tratado com rosuvastatina e controle pré-procedimento de Intervenção coronariana percutânea (ICP).....	51
Tabela 10 - Eventos clínicos adversos entre os pacientes incluídos nos Grupos Tratado com rosuvastatina e Controle durante o período de acompanhamento clínico pós-ICP.	52
Tabela 11 - Estatísticas descritivas para diferenças relativas para a expressão gênica de mediadores de inflamação aguda no Grupo Tratado com Rosuvastatina entre os tempos B (pré-intervenção coronariana percutânea) e A (pré administração da rosuvastatina) $[(B - A)/A]$	53
Tabela 12 - Comparação pareada entre os momentos A (pré-medicação) e B (pré intervenção coronariana percutânea) para os níveis séricos das citocinas para o Grupo Tratado com dose de ataque de rosuvastatina.....	54

Tabela 13- Estatísticas descritivas das diferenças relativas para a expressão gênica de marcadores inflamatórios agudos para os Grupos Controle e Tratado com rosuvastatina nos tempos A (3 horas pré intervenção coronariana percutânea) e C (3 horas pós-ICP).....	56
Tabela 14 - Comparações dos valores médios de mediadores inflamatórios séricos de acordo com o momento de coleta da amostra A (administração da dose de rosuvastatina 3 horas pré-ICP) e C (3 horas após ICP) entre os Grupos Tratado e Controle.....	57
Tabela 15 - Comparações das diferenças relativas entre A e C para os para as interleucinas e expressão gênica em pacientes com IAM periprocedimento apresentados por mediana e intervalo interquartilico ou frequências absolutas e relativas.	59
Tabela 16 - Médias e desvios padrão das interleucinas segundo eventos em 12 meses para o tempo C (3 horas após intervenção coronariana percutânea) em pacientes que receberam dose de ataque de rosuvastatina em comparação ao controle não tratado.	60
Tabela 17- <i>Hazard Ratios</i> estimados a partir do modelo de riscos proporcionais de Cox para o aumento de ao menos 30% no marcador inflamatório agudo entre pacientes tratados com rosuvastatina 3 horas pré intervenção coronariana percutânea e Grupo Controle	60
Tabela 18- Comparação entre os momentos A e B do Grupo Tratado com rosuvastatina 3 horas pré-intervenção coronariana percutânea para os níveis de óxido nítrico (NO) e proteína de C reativa (PCR).....	61
Tabela 19- Comparação entre os tempos A (pré medicação) e C (3 horas após intervenção coronariana percutânea) do Grupo Controle versus Tratado com rosuvastatina para os valores de óxido nítrico (NO) e proteína C reativa (PCR).	61

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ilustração esquemática de uma cascata inflamatória vascular em resposta a implante de stent coronário resultando em reestenose.....	7
Figura 2 - Descrição de potenciais estratégias para a modificação da atividade de interleucina como uma terapia para aterosclerose ..	8
Figura 3 - Fluxograma do Estudo.....	31

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - Curva de *Kaplan-Meier* para eventos combinados (Reestenose e infarto) por grupo. Teste *log-rank*.....51
- Gráfico 2** - Boxplots para os valores séricos de interleucina 6 conforme o momento de medida, nos Grupos Controle e Tratado e entre pacientes que apresentaram infarto agudo de miocárdio (IAM) periprocedimento.....57

RESUMO

Slhessarenko JR. *Efeito da dose elevada de ataque de Rosuvastatina na concentração sérica de marcadores inflamatórios na fase aguda da intervenção coronária percutânea com implante de stents coronarianos* [tese]. São Paulo: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, Entidade Associada da Universidade de São Paulo; 2017.

Introdução: Nas últimas décadas, a reestenose tem sido o “calcanhar de Aquiles” da intervenção coronária percutânea (ICP), limitando seus resultados no médio e longo prazo. Estudos preliminares demonstraram que após a injúria inicial com catéter balão e/ou com stents coronarianos, há desnudação endotelial, dissecação, deposição plaquetária e atração de leucócitos como resposta imediata, podendo levar à reestenose no seguimento mais tardio. A injúria local na parede arterial após implante de stent pode promover a expressão genética e liberação de mediadores inflamatórios, interleucinas, proteínas de fase aguda e fatores de coagulação, deposição de plaquetas e formação de trombos. Estes processos podem estar diretamente relacionados ao prognóstico da doença cardiovascular, porém são escassos os estudos que caracterizem a resposta inflamatória aguda pós-implante de stent coronariano e à ocorrência de eventos adversos. **Objetivos:** Neste estudo, pretendeu-se avaliar os efeitos de dose de ataque de Rosuvastatina (40mg) sobre a resposta inflamatória aguda após implante de stent coronariano, bem como correlacionar as variações das concentrações de citocinas e a respectiva expressão gênica. **Métodos:** Pacientes portadores de doença coronária estável sem uso de estatina (há mais de 7 dias), submetidos à intervenção coronária percutânea eletiva em artéria coronária nativa foram randomizados para receberem dose única de ataque de rosuvastatina (40 mg via oral, 3 horas prévias ao procedimento; Grupo Tratado (GT); n=63) versus Grupo Controle (GC) (Ausência da administração de rosuvastatina); n=61. Foram obtidas amostras do sangue periférico antes da administração via oral da medicação

(A), 3 horas após medicação (B) e 3 horas após implante do stent coronariano (C). Avaliou-se hemograma completo, dosagem de proteína C reativa (PCR), óxido nítrico (NO) e análise da expressão dos genes e das proteínas, por meio de RT-qPCR e multiplex luminex, dos mediadores IL-1 β , IL-6, IL-8, PAI-1, MCP- 1, TNF- α e TGF- β . Os pacientes foram acompanhados clinicamente por doze meses após o procedimento. **Resultados:** Os grupos não apresentaram diferenças significantes em relação às características clínicas, angiográficas e técnicas, com exceção da ICP para lesões em bifurcação, mais comum no GC (19,7% versus 6,2%; $p=0,032$). Para a expressão gênica, observou-se redução para IL-6 ($p<0,001$), da IL-1 β ($p=0,016$) e PAI-1 ($p=0,002$) no Grupo Tratado. Para as interleucinas analisadas, observou-se uma diminuição progressiva nas concentrações de IL-6 0,209 pg/ml (IC 0,156;0,28 $p<0,001$), IL-1 β 0,491 pg/ml (IC 0,349;0,692; $p<0,001$) e PAI-1 0,986 pg/ml com $p_{\text{interação}}<0,001$) no Grupo Tratado. Houve redução da concentração de PCR no tempo C no GT ($p=0,04$). Para o NO, ocorreu elevação dos valores do tempo A para C no Grupo Tratado ($p=0,004$). Na fase intra-hospitalar, ocorreu mais infarto periprocedimento entre os pacientes do Grupo Controle (23% vs 4,7%; $p=0,004$). No acompanhamento clínico de 12 meses ocorreram mais eventos combinados no Grupo Controle GC (9,8% vs 1,6%; $p=0,058$). **Conclusão:** Os resultados deste estudo demonstraram que a rosuvastatina em sua dose de ataque máxima preconizada (40mg), reduz os níveis séricos de marcadores inflamatórios agudos (IL-1 β , IL-6, PAI-1 e PCR), com incremento dos valores de NO após ICP.

Descritores: Rosuvastatina, stent, inflamação aguda, interleucinas, expressão gênica

SUMMARY

Slhessarenko JR. Effect of high dose of Rosuvastatin on the serum concentration of inflammatory markers in the acute phase of percutaneous coronary intervention with coronary stent implantation [thesis]. São Paulo: Dante Pazzanese Institute of Cardiology, Associated Entity of the University of São Paulo; 2017.

Background: Restenosis remains as the “Achilles’ heel” of interventional cardiology, limiting the mid to long term efficacy of percutaneous coronary interventions (PCI). Preliminary studies have shown that after initial injury with balloon catheter and/or metallic stents, there is endothelial denudation, dissection, platelet deposition and leukocyte attraction as an immediate response, which might limit the late benefits of PCI. Local injury to the arterial wall after stent implantation may promote the gene expression and release of inflammatory mediators, interleukins, acute phase proteins and coagulation factors, platelet deposition and thrombus formation, which are directly related to the prognosis of cardiovascular disease. Despite their importance, there are few studies that characterize the acute inflammatory response after coronary stent implantation and correlate it to the occurrence of adverse events. **Objectives:** We sought to evaluate the effects of the loading dose of Rosuvastatin (40mg) on the acute inflammatory response after PCI with metallic stents, as well as to correlate the variations in cytokine levels and their respective gene expression. **Methods:** Patients with stable coronary disease without statin (≥ 7 days) undergoing elective PCI to *de novo* lesions in the native coronary artery were randomized to receive a loading dose of 40 mg of rosuvastatin [N = 63] versus a control group (CG) (absence of loading dose); [N = 61]. Blood samples were obtained prior to oral administration of the statin (A), 3 hours after medication (B) and 3 hours after PCI (C). The following laboratory tests were conducted: complete blood count, C-reactive protein (CRP), nitric oxide (NO) and analysis of gene and protein expression by means of RT-qPCR and multiplex luminex, IL-1 mediators, IL-6, IL-8, PAI-

1, MCP-1, TNF- α and TGF- β . Clinical follow up was achieved up to 12 months after the procedure. **Results:** The groups did not significantly differ regarding clinical, angiographic and procedure characteristics, except for the higher amount of bifurcation lesions in the CG (19.7% versus 6.2%, $p = 0.032$). Among patients pre treated with the statin, there was a reduction in gene expression for IL-6 ($p < 0.001$), IL-1 β ($p = 0.016$) and PAI-1 ($p = 0.002$). For the IL analyses, a progressive decrease in the concentrations of IL-6 0.209 pg / ml (IC 0.156; 0.28 $p < 0.001$), IL-1 β 0.491 pg / ml (IC 0.349; 0.692, $p < 0.001$) and PAI-1 0.986 pg / ml with paving < 0.001) were observed among patients treated with the statin. Furthermore, a progressive reduction in the concentration of CRP was observed in the three timepoints among patients of the rosuvastatin cohort ($p = 0.04$). An increase in NO concentration was observed from timepoint A to C in the statin group ($p = 0.004$). During the in hospital period, more periprocedural MI occurred among patients in the control group (23% vs 4.7%, $p = 0.004$). Also, 12-month MACE rate was higher in the control group (9.8% vs 1.6%, $p = 0.058$). **Conclusion:** Pre loading with high dose of rosuvastatin resulted in a marked reduction in the expression of the main inflammatory markers (IL-1 β , IL-6, PAI-1 and CRP) associated with restenosis after PCI with stents. Additionally, an increase in the NO blood concentration and expression was noticed among these patients.

Key Words: Rosuvastatin, stent, acute inflammation, interleukins, gene expression

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) ocorrem com frequência na população e os índices elevam-se de acordo com a idade no Brasil.¹ Ademais, constituem a principal causa de óbito na população mundial, relacionadas a mais de 17 milhões de mortes em 2013, o que representa 31% de todos os óbitos registrados naquele ano.² No Brasil, pelo menos 20% das mortes em indivíduos com mais de 30 anos são atribuídas a este grupo de doenças.^{3,4}

Entre estas afecções, destaca-se a doença arterial coronária (DAC), responsável por mais da metade dos eventos cardiovasculares em homens e mulheres acima dos 75 anos. Para exemplificar, estima-se que, nos EUA, ocorra um infarto do miocárdio a cada 42 segundos.⁵

Sobretudo no mundo ocidental, as inúmeras medidas implementadas com o intuito de conter este grande impacto negativo da DAC reduziram as taxas de eventos relacionados à DAC, porém, ainda de maneira insatisfatória e com grande variação regional.⁵ No Brasil, a tendência à redução da taxa de mortalidade por DAC cessou a partir de 2007.⁶

A DAC, além de estar relacionada a um grande número de mortes, também exerce um impacto econômico-financeiro mundial muito negativo. O aumento expressivo nos custos dos tratamentos médicos, inclusive naqueles devidos às internações hospitalares, é motivo de grande preocupação, sobretudo para a saúde pública.⁷ Se considerarmos apenas os procedimentos cardiovasculares, entre 2000 e 2010 houve um incremento de 28% no número dos mesmos nos Estados Unidos, que alcançaram 7.588.000 intervenções percutâneas e cirúrgicas ao final da década.⁸ Particularmente com relação à DAC, os custos diretos e indiretos foram estimados em 207,3 bilhões de dólares naquele país entre 2011 e 2012, sendo que esta representa cerca de dois terços dos gastos, em relação às demais DCV combinadas.⁵ Esse mesmo fenômeno é verificado no Brasil, nos anos recentes.^{1,8}

Assim sendo, além do aumento no número dos procedimentos, entre eles os de revascularização miocárdica, destacam-se também os elevados investimentos necessários às constantes inovações tecnológicas, em especial no campo das intervenções coronárias percutâneas (ICP).

1.1 Evolução da intervenção coronária percutânea

Em 1977, Andreas Grüentzig realizou, de forma pioneira em humanos, o procedimento que viria a revolucionar a cardiologia contemporânea, a angioplastia transluminal coronária (ATC).⁹

Utilizando um cateter-balão de confecção própria, Grüentzig procedeu com êxito à dilatação de uma lesão localizada no terço proximal da artéria descendente anterior, no Hospital Universitário de Zurique, na Suíça. A partir daquele momento, um novo método para tratamento das obstruções no leito coronário surgia, como alternativa menos invasiva à cirurgia de revascularização miocárdica (RM).¹⁰

A despeito de seu aspecto revolucionário, logo observou-se que a ATC possuía algumas importantes limitações, sobretudo nos casos de obstruções mais complexas. Essas limitações ocorriam tanto precocemente (periprocedimento), como também mais tardiamente, nos primeiros meses após a intervenção. Dentre aquelas da fase hospitalar destacamos:

- Resultados imediatos nem sempre previsíveis e muitas vezes resultando em extensas dissecções do leito arterial e oclusão aguda, exigindo cirurgia de emergência (5 a 10% dos casos);¹¹⁻¹³

- Lesões residuais, que não raro obstruíam ainda 30 a 40% da área luminal;¹⁴

- Incapacidade do balão em dilatar lesões complexas, como: oclusões crônicas, bifurcações, lesões muito calcificadas, ostiais etc.¹⁵

No médio prazo (quatro a seis meses pós-ATC), 30 a 50% dos pacientes tratados com o balão apresentavam recorrência da obstrução, como resultado do remodelamento negativo do segmento tratado, e da

proliferação celular, devido ao dano causado pelo instrumental (reestenose coronária).^{16,17}

Assim, o balão só beneficiava a minoria de pacientes candidatos à RM, ou seja, aqueles com lesões não complexas, localizadas e não excessivamente fibróticas ou calcificadas.

Inúmeros instrumentais foram então desenvolvidos, sendo os métodos de remoção os mais frequentemente investigados. Destacam-se entre eles: as aterectomias direcional, extracional, rotacional e o laser. Todos estes foram testados, sem demonstrarem benefícios adicionais em relação ao balão e, em várias situações, acompanhavam-se de sérias complicações, como perfurações e tamponamento cardíaco.¹⁸

Finalmente, uma década após o advento do balão e dos novos instrumentais, a idéia de um dispositivo para sustentar a parede arterial foi desenvolvida e os stents coronários viriam a revolucionar o campo das intervenções coronárias percutâneas (ICP).¹⁹

De destaque nesse período foi o implante do primeiro stent metálico balão-expansível de Palmaz-Schatz em humanos, praticado no serviço do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia por Sousa *et al.*, em dezembro de 1987, que evidenciou bons resultados nas experiências iniciais, e depois nos estudos randomizados, superando as principais limitações do balão.^{20,21}

Com os stents coronários, o procedimento percutâneo tornou-se mais previsível, com elevadas taxas de sucesso imediato, mesmo frente ao maior grau de complexidade das obstruções abordadas. Além disso, e em função da força radial exercida, foi eliminado o remodelamento vascular, principal mecanismo responsável pela reestenose pós-balão.^{22,23}

A combinação destes benefícios resultou numa significativa expansão das indicações dos procedimentos percutâneos de RM, consolidando sua aplicação nos múltiplos cenários da prática rotineira. Além disso, os stents eliminaram a necessidade de cirurgia de emergência e, por consequência, a obrigatoriedade de retaguarda cirúrgica durante a realização da intervenção.²⁴

Contudo, as endopróteses constituem-se num corpo estranho metálico, durável, que em associação ao barotrauma decorrente da pressão empregada para liberá-las e expandi-las otimamente, exacerbam a resposta inflamatória local, dando início a uma cascata reparativa, que em alguns casos pode resultar em excessiva proliferação da neoíntima.

O recrutamento de células inflamatórias no local tratado com stent é associado à deposição maciça de plaquetas, e mediada por substâncias adesivas, quimiotáticas e pró-inflamatórias, como as interleucinas (IL).¹¹ Neste processo, ocorre inicialmente uma transativação da expressão de genes de mediadores inflamatórios e moléculas de adesão no endotélio e leucócitos, estas conseqüentemente permitem o extravasamento de monócitos circulantes à parede do vaso inflamado.¹²

A tradução clínica mais comum deste cenário é a reestenose intra-stent, cujo principal mecanismo é o excessivo crescimento de tecido reparativo.^{25,26}

Essa hiperproliferação neointimal compreende uma sequência temporal de eventos da cascata cicatricial, que simplificada envolvem a agregação plaquetária, infiltrado de células inflamatórias, deposição de proteoglicanos, entre outros, agrupadas em um modelo com base celular e molecular, proposto por Welt e Rogers, em 2002.^{27,28}

Evidentemente, o controle desse excessivo crescimento de tecido cicatricial tornou-se o foco de pesquisa na área ao longo da década seguinte. Várias iniciativas para sobrepujar estes problemas merecem destaque:

- Estratégias envolvendo administração sistêmica de fármacos antiproliferativos/anti-inflamatórios;²⁹
- Aperfeiçoamento do desenho da plataforma metálica, com a introdução de novas ligas metálicas e sobretudo com a diminuição da espessura das hastes, reduzindo o barotrauma e o processo inflamatório;³⁰
- Aplicação local de energia não ionizante (ultrassom, frio, calor) ³¹ e ionizante (radiações beta e gama). ^{32,33}

Paralelamente, desenvolvia-se uma nova biotecnologia: o stent farmacológico (SF).³⁴ Esse dispositivo, envolve a combinação de três componentes: plataforma, revestimento polimérico e fármaco antiproliferativo, com intuito de modificar os determinantes do processo reestenótico.

Os stents farmacológicos foram testados em humanos primeiramente pelo nosso grupo, em 1999.³⁴ A partir daí o novo instrumental teve sua eficácia e segurança demonstradas nos mais variados e complexos cenários clínicos, ao longo da década seguinte, e seu desempenho clínico, superior às tecnologias que o antecederam, fez com sua penetração aumentasse progressivamente, até tornar-se a opção mais frequente para a intervenção coronária percutânea (ICP) contemporânea.^{35,36}

1.2 Resposta inflamatória da parede vascular ao implante de stent coronariano

Estudos recentes têm demonstrado que a aterosclerose na microvasculatura apresenta características inflamatórias peculiares, relacionadas com a expressão gênica. O recrutamento e acúmulo de leucócitos, comuns nas reações inflamatórias e na aterosclerose, requerem um gradiente de fatores quimiotáticos e genéticos, como as IL.^{37,38,39}

A concentração sérica de diversas IL após ICP com stent, por exemplo, têm demonstrado correlação com o risco de reestenose, visto que a expressão destas moléculas por leucócitos e células endoteliais indica a existência de processo inflamatório.⁴³ Assim, a magnitude da ativação e aderência dos monócitos na parede do vaso poderia ser considerada como preditora de perda luminal tardia.⁴³

O recrutamento e proliferação de miofibroblastos e síntese de matrix extracelular são fatores importantes para a formação da hipertrofia neointimal e reestenose (Figura 1).⁴⁰⁻⁴³ Esta fase inflamatória aguda é marcada pela interação entre monócitos/macrófagos e células T e liberação de mediadores inflamatórios (citocinas), que exacerbam a resposta. O

recrutamento de leucócitos após implante de stents coronarianos pode ser detectado no segmento tratado entre 10 e 15 minutos após o implante.³⁸

Figura 1 - Ilustração esquemática de uma cascata inflamatória vascular em resposta a implante de stent coronário resultando em reestenose (Adaptado de Costa *et al.*⁴²)

1.3 Expressão gênica

O DNA contém a informação necessária para a produção de proteínas e está localizado quase que totalmente no núcleo das células. Entretanto, a síntese proteica ocorre no citoplasma, razão pela qual a informação genética precisa ser copiada do DNA e levada ao citoplasma através de moléculas denominadas de RNA mensageiros (mRNA).^{44,45,76}

Os genes são as sequências de nucleotídeos do DNA a partir das quais os mRNA são produzidos. Um determinado gene se expressa quando o sistema orgânico necessita da proteína codificada por um mRNA que confere um fenótipo que resulte da ação desta proteína.^{85,98}

A expressão gênica tem, portanto, duas etapas bem distintas: a transcrição do mRNA no núcleo celular e a tradução da proteína no citoplasma.^{123,203}

1.4 As interleucinas e citocinas na doença aterosclerótica coronária e após intervenção coronariana percutânea

Por definição, as IL são produzidas principalmente pelos leucócitos e exercem os seus efeitos no citoplasma. As células endoteliais e células musculares lisas também expressam uma variedade de citocinas. Existem mais de 30 membros principais da família das interleucinas, e a maioria desempenham papel na aterogênese. As IL podem ter atividade pró-inflamatória ou anti-inflamatória. O equilíbrio entre o efeito pró e anti-inflamatório é que determina a inflamação na aterosclerose.⁴⁵

As Interleucinas são consideradas elementos fundamentais na resposta inflamatória vascular crônica que é encontrada na aterosclerose (Figura 2).^{43,44}

Figura 2 - Descrição de potenciais estratégias para a modificação da atividade de interleucina como uma terapia para aterosclerose (Adaptado de Bendtzen *et al.*, 1994⁴⁴)

As interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL-6) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α) são potentes mediadores inflamatórios agudos, estimulando a liberação de proteínas de fase aguda no fígado, como a proteína C reativa (PCR). A interleucina 8 (IL-8) é produzida por macrófagos, células epiteliais e endoteliais, sendo considerada um potente fator angiogênico. Sua principal função é a quimiotaxia de neutrófilos, sendo produzida via sinalização de receptores semelhantes na imunidade inata.⁴⁷ O inibidor do ativador do

plasminogênio (PAI-1) é um inibidor da fibrinólise produzido principalmente por células endoteliais, porém secretado por outras células como as do tecido adiposo; encontra-se aumentado em obesos e em uma série de doenças, como desordens metabólicas e trombose. Em condições inflamatórias que cursam com a deposição de fibrina em tecidos, PAI-1 parece estar envolvido na progressão da fibrose. A angiotensina II aumenta a síntese de PAI-1, acelerando o desenvolvimento da aterosclerose.⁴⁶

A proteína quimiotática MCP-1, também conhecida como CCL2, recruta células inflamatórias como monócitos, linfócitos T e células dendríticas ao sítio de inflamação, estando envolvida em patologias como a aterosclerose, resistência à insulina em obesos e distúrbios vasculares da diabetes tipo 2.⁴⁹ O fator de crescimento TGF- β é uma proteína secretada por várias células, incluindo macrófagos, e existe em três isoformas (TGF- β 1, TGF- β 2 e TGF- β 3), controlando a proliferação e diferenciação celular e, envolvida em doenças cardíacas e diabetes. Neste sentido, foi demonstrado que o colesterol diminui a responsividade das células cardiovasculares à atividade protetora do TGF- β sobre a aorta e outros vasos mediante a hipertensão, permitindo o desenvolvimento da aterosclerose e doença cardíaca. A ativação de macrófagos durante a inflamação aumenta a liberação de TGF- β via ativação da plasmina.^{50,51}

Marcadores séricos podem ser medidos com o intuito de caracterizar a atividade inflamatória local e, desta forma, correlacioná-los com o prognóstico do paciente.⁴⁸ Estudos científicos demonstraram consistentemente que alguns parâmetros inflamatórios elevados pré e pós-procedimento, como a PCR, estão relacionados com maior risco de reestenose de stents coronarianos.^{48,50} A elevada concentração de PCR pré-procedimento é preditora de maior atividade da doença arteriosclerótica, aumentando a ocorrência de remodelamento por hipertrofia vascular e excessiva formação neointimal após angioplastia percutânea.^{52,53}

1.4.1 Interleucina 1 (IL-1)

A família da proteína IL-1 consiste em IL-1 α e IL-1 β , citocinas pró-inflamatórias, que atuam sobre função endotelial vascular das células do músculo liso.

Após a síntese, a IL-1 α é predominantemente ligada à membrana plasmática das células produtoras e atua localmente. Em contraste, a IL-1 β é secretada para o plasma, predominantemente pelos monócitos e macrófagos, e atua sistemicamente.⁵⁴

A IL-1 β desempenha função importante na regulação das moléculas de adesão dos leucócitos e células endoteliais, além de ativar a produção de outras citocinas,⁵⁵ que têm sido implicadas no desenvolvimento da aterosclerose.⁵⁶ A IL-1 β foi encontrada em níveis elevados em estudos com suínos imediatamente após angioplastia e foi sugerida em desempenhar um papel na inflamação após lesão arterial.⁵⁸

A administração intracoronária direta de IL-1 provocou aumento da espessura da neointima e vasoespasma arterial em estudo com suínos.⁵⁸ A inibição da ação da IL-1 β demonstrou atenuação no crescimento da placa em modelos animais.⁵⁷ Redução do espessamento intimal foi notado após lesão da artéria carótida em camundongos deficientes em IL-1 β .⁵⁹

Em adição ao seu papel na aterosclerose, a IL-1 pode afetar o remodelamento miocárdico pós-IAM.⁶⁰ Nos seres humanos, artérias com lesões ateroscleróticas têm maiores níveis de IL-1 β quando comparadas a artérias coronárias normais.⁶¹

As elevações séricas de IL-1 β ocorrem precocemente, podendo ser detectadas após angioplastia coronariana com stent metálicos em pacientes com angina estável em 20 minutos³⁸ com pico em 2-3 horas.⁴⁹

Contudo, a associação entre a administração de estatinas, ICP e a concentração sérica de IL-1 β nunca foi analisada.

1.4.2 Interleucina 6 (IL6)

Também envolvida na iniciação e progressão da aterosclerose, a Interleucina 6 (IL-6) desempenha papel importante no desenvolvimento das placas ateroscleróticas, bem como a sua ruptura. A IL-6 apresenta valores séricos baixos em indivíduos saudáveis, e está aumentada em resposta a inflamação, na aterosclerose e ICP.⁶⁵

Esta IL-6 é produzida por macrófagos das placas ateroscleróticas e também em células endoteliais, fibroblastos e tecido adiposo.^{62,63} A IL-6 está também envolvida na resposta de fase aguda da inflamação, incluindo a regulação de proteína C reativa (PCR).

O aumento sérico da IL-6 pós-ICP foi associado com maiores taxas de reestenose⁶⁴ e trombose do stent.⁶⁶ Sardella *et al.*,³⁸ estudaram a elevação de marcadores inflamatórios em 59 pacientes com angina estável após implante de stent coronariano, demonstrando uma liberação local de citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-1 e IL-6, entre 10 e 20 minutos após o implante de stents eluídos com fármacos (DES), possivelmente pela ruptura da placa e/ou trauma no endotélio, com pico sérico estimado em 3 horas.⁴⁹

O uso crônico prévio de estatinas a ICP reduz a concentração sérica da IL-6.⁶⁷ Entretanto, o impacto do pré-tratamento com estes fármacos em doses elevadas pré-ICP ainda não foi investigado.

1.4.3 Interleucina 8 (IL-8)

A IL-8 apresenta função estabelecida como um fator pró-aterogênico.⁶⁸ Produzida por monócitos e macrófagos, a IL-8 acelera a aterogênese através do aumento da adesividade endotelial para monócitos, por suas ações quimioatrativas sobre as células do músculo liso e por mediar a angiogênese na placa aterosclerótica.⁶⁹ Com base na sua atividade quimioatrativa para os leucócitos, a IL-8 foi classificada como quimiocina.⁷⁰

Além disso, a IL-8 pode causar instabilização das placas ateroscleróticas em estágio avançado.⁷¹ As concentrações séricas da IL-8

foram encontradas elevadas em monócitos do sangue periférico de pacientes com hipercolesterolemia,⁷² e valores elevados da IL-8 foram associados com a angina instável e infarto agudo do miocárdio,⁷³ refletindo sua relevância clínica.

A concentração sérica da IL-8 está associada com maior desenvolvimento de reestenose após implante de stent coronário.⁷⁷ Quanto maior a concentração da IL-8, maiores são as taxas de reestenose e de eventos cardíacos adversos após-ICP em pacientes com angina instável e IAM.⁷³ Em pacientes com angina estável ocorre uma elevação da IL-8 sérica, após ICP.^{74,76} Essa elevação da IL-8 sérica após ICP ocorre nas primeiras horas, com pico estimado entre 6-12 horas.⁷⁵ Estes estudos demonstraram que a ocorrência de complicações precoces e tardias se correlacionam com a elevação de IL-8.

1.4.4 Fator de necrose tumoral α (TNF- α)

O fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) é uma citocina pró-inflamatória que tem sido implicada na patogênese de condições inflamatórias sistêmicas, e parece agir em vários estágios do processo inflamatório.⁷⁷ O papel do TNF- α tem sido bem documentado no desenvolvimento de aterogênese e inflamação vascular.⁷⁸

No coração, os macrófagos e monócitos são as principais fontes de TNF- α .^{79,80} O TNF- α promove a aterosclerose por aumento da expressão vascular das moléculas de adesão endotelial e recrutamento de macrófagos da microvasculatura.⁸¹ Além disso, o TNF- α promove disfunção endotelial por meio da regulação de óxido nítrico e síntese de produtos reativos de oxigênio.⁸² Em aorta de ratos, as células endoteliais sensibilizadas com TNF- α exacerbam a inflamação.⁸³ Nas células endoteliais humanas, o TNF- α tem sido associado com o aumento da expressão e síntese de citocinas pró-inflamatórias, tais como MCP-1 e IL-6.⁸⁴

Em ratos com supressão de receptores de TNF- α , o desenvolvimento de placas ateroscleróticas na aorta diminuiu > 40% quando comparados aos controles.⁸⁵ Camundongos com deficiência para o gene do TNF- α também

apresentaram redução na expressão de moléculas de adesão celular (ICAM-1, VCAM-1) e MCP-1.⁸⁶

Os camundongos que expressaram formas atípicas de TNF- α , tipicamente associadas com alteração da resposta inflamatória, também apresentaram diminuição do tamanho da placa aterosclerótica.⁸⁷ Surpreendentemente, os ratos com deficiência de receptor do TNF- α (TNFR1-p55) apresentaram um aumento do tamanho da lesão aterosclerótica em comparação com os controles, sugerindo potenciais propriedades anti-aterogênicas associados com TNF- α .⁸⁸ No que diz respeito à disfunção endotelial, a administração do TNF- α prejudicou a vasodilatação no endotélio das artérias coronárias e arteríolas de ratos.⁸⁹ Concorrente à administração de anticorpos anti-TNF- α , ocorreu o retorno do potencial da vasodilatação.⁹⁰

Macrófagos de tecidos da carótida apresentaram aumento na síntese do TNF- α quando comparados com monócitos sanguíneos.⁹¹ Os valores do TNF- α em amostras de sangue aspirados dos enxertos de veia safena correlacionaram-se com a reestenose seis meses após a ICP em pacientes.⁹²

Os efeitos de terapias sobre o TNF- α em pacientes com doenças inflamatórias sistêmicas tem sido estudado. Após um ano de bloqueio do TNF- α em pacientes com artropatias inflamatórias, os marcadores inflamatórios de doenças coronarianas aterosclerótica tais como a rigidez da aorta e espessura médio intimal da carótida foram reduzidos em comparação com pacientes não tratados.⁹³ O bloqueio do TNF- α em pacientes com artrite reumatóide também mostrou redução da incidência de SCA ou ICP.⁹⁴

Em pacientes submetidos à ICP com stents metálicos, observa-se elevação progressiva do TNF- α nas primeiras horas após o procedimento, com pico sérico em seis horas.⁹⁵ Em pacientes com reestenose, os valores séricos encontram-se mais elevados pré ICP e aumentam duas vezes pós ICP.⁹⁵

1.4.5 Fator de crescimento tumoral (TGF- β)

O fator de crescimento tumoral- β (TGF- β 1) é uma citocina implicada no desenvolvimento da nefropatia diabética, fibrose hepática, isquemia miocárdica, cardiomiopatia dilatada, arritmia e doença valvular.^{96,97}

Recentemente, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, demonstrou-se que o TGF- β 1 desempenha um importante papel no aumento do espessamento da camada íntima coronariana.^{98,99}

Após a lesão arterial, o TGF- β 1 é responsável por estimular a matrix extracelular (ECM) e a proliferação, migração e expressão de proteínas das células do músculo liso vascular (VSMC), o que conduz a um eventual estreitamento luminal.^{100,101} Concordantemente, a atenuação da atividade do TGF- β 1 com o seu antagonista o TGF- β 3, ou inibidores diretos do TGF- β 1 foi eficaz em diminuir o espessamento da íntima e a reestenose do stent.^{102,103}

Embora o TGF- β 1 atue diretamente para regular a ECM, também estimula a síntese de proteínas que amplificam seus efeitos patogênicos, como o inibidor do ativador do plasminogênio 1 (PAI-1) em células endoteliais através de fosforilação.¹⁰⁴⁻¹⁰⁶ Ao examinar a relevância entre TGF- β 1 e PAI-1 na lesão vascular, Otsuka *et al.*, utilizando modelos de ratos, descobriram que a injúria vascular mediada por TGF- β 1 resultou em espessamento da ECM mediada pela indução de PAI-1.¹⁰⁴ Neste estudo, o aumento da expressão arterial de TGF- β 1 em 6-10 vezes em ratos deficientes de PAI-1 foi incapaz de causar espessamento intimal.¹⁰⁴

Em artérias coronarianas de coelhos, a lesão resultante da angioplastia com balão resultou em aumento significativo dos níveis de TGF- β 1 entre 2 horas e 7 dias após a ICP, retornando aos valores basais em até 28 dias.¹⁰⁶ Kanzaki *et al.*, descobriram que a administração de TGF- β 1 antes da angioplastia com balão da carótida de coelhos resultou em um maior espessamento da íntima após o procedimento.¹⁰⁷ Em amostras humanas, Nikol *et al.*, observaram valores séricos mais elevados de TGF- β 1 em VSMCs de artérias coronárias e periféricas nas lesões reestenóticas após ICP em comparação com as lesões primárias.¹⁰⁸

Chung *et al.*, examinaram lesões reestenóticas em humanos após implante de stent, constataram que amostras dos vasos obtidas via aterectomia apresentavam valores elevados de TGF- β 1.¹⁰⁹ Da mesma forma, Yutani *et al.*, analisaram amostras de vasos coronários após stent, notaram que a íntima em 80% dos casos demonstrava aumento dos valores séricos de TGF- β 1.¹¹⁰

1.4.6 Inibidor do ativador de plasminogênio 1 (PAI-1)

O Inibidor do ativador de plasminogênio 1 (PAI-1) é um membro de inibidores de proteases de serina.¹¹¹ PAI-1 é o inibidor mais importante fisiológico direto e regulador principal do sistema fibrinolítico.¹¹² Gravidade e resultados desfavoráveis foram relatados num certo número de doenças devido aos níveis elevados de PAI-1.¹¹³ Como resultado, o PAI-1 é considerado um biomarcador e potencial alvo molecular para terapêutica e prognóstico. O PAI-1 também promove a migração de linfócitos e neutrófilos para locais inflamatórios.¹²³

O PAI-1 pode ser sintetizado em diversos tecidos e tipos de células, tais como os adipócitos, hepatócitos, megacariócitos, macrófagos, as plaquetas, células do músculo liso, células endoteliais, em células da placenta e do baço.¹¹⁴

O PAI-1 tem um papel significativo nos eventos de trombose aguda como trombose venosa profunda e infarto do miocárdio, diabetes tipo 2, câncer e desordens fibróticas, incluindo aterosclerose e doença renal e fibrose pulmonar.¹¹⁵ Esse mediador influencia diretamente a formação de trombos e sua degradação e, assim, o risco de trombose arterial. É um pró-coagulante, pró-inflamatório e atua na fibrose molecular.¹¹⁶

A aterosclerose é um processo inflamatório que resulta no acúmulo de lipídios na parede arterial. A imunidade adaptativa e inata têm papéis ativos no processo de aterosclerose. Os mastócitos, plaquetas e células T e B também desempenham papel na aterogênese.¹¹⁷⁻¹¹⁸ A inibição da fibrinólise devido ao aumento do inibidor do PAI-1, leva a um aumento da formação de trombos¹¹⁹ e faz com que a placa fique instável.

Alta taxas de concentração de glicose (nos diabéticos) também tem sido associadas com elevados valores do PAI-1, que são relatados ainda em doenças como síndrome metabólica e obesidade.¹²⁰ Estudos recentes mostram que o PAI-1 tem também um papel no desenvolvimento do tecido adiposo e no controle da sinalização da insulina em adipócitos.¹²¹

Estudos mostram uma forte correlação entre os valores séricos de PAI-1 e o risco cardiovascular em diferentes contextos clínicos.¹²⁴ Por exemplo, a concentração sérica elevada de PAI-1 está associada com o risco de infarto do miocárdio (IM), IM recorrente, angina de peito e aterosclerose.¹²⁵

Evidências experimentais e clínicas sugerem que PAI-1 não só é um biomarcador mas também é um fator mediador da doença vascular, câncer, asma, resistência à insulina e obesidade.^{122,126} PAI-1 possui uma meia-vida de 3-4 horas, seguido por conversão espontânea numa forma latente.¹²⁷ O uso crônico de estatinas previamente a ICP ocasiona redução basal sérica do PAI-1, dependente da dose e tipo da estatina.¹²⁷

Estudos com alterações de polimorfismos genéticos no PAI-1 mostram que determinados genótipos (PAI-1 4G/5G) estão relacionados a oclusão da coronária em pacientes com IAM que foram submetidos a ICP.¹²⁸

Pacientes com IAM com supra de ST que foram submetidos a ICP, apresentaram elevação dos valores de PAI-1 24 horas após a ICP, que foram preditores independentes de mortalidade em 30 dias.¹³⁰

Estudos demonstram que valores séricos de PAI-1 aumentam significativamente após ICP nas primeiras 3-6 horas, com pico estimado em 24 horas, em pacientes que apresentaram reestenose de stent.^{129,131}

1.4.7 Proteína quimioatratativa de monócitos-1 (MCP-1/CCR2)

A MCP-1 recruta leucócitos mononucleares para a camada íntima da artéria.¹³² A MCP-1 está envolvida em mudanças inflamatórias na parede arterial, prejudicando a vasodilatação endotélio-dependente. Portanto, medidas dos valores circulantes da MCP-1 podem ser úteis em prever o risco da aterogênese. De fato, MCP-1 e seu receptor têm sido importantes

alvos terapêuticos para prevenir a aterogênese. Autores têm sugerido esta citocina como marcador precoce em potencial para a aterogênese.¹³³

A MCP-1 é produzida por uma variedade de células, incluindo células musculares lisas,¹³³ leucócitos, células endoteliais e fibroblastos, em resposta a LDL oxidada e citocinas pró-inflamatórias,¹³⁴ sendo, desse modo, também um produto da reação da inflamação.¹³⁵

A concentração plasmática aumentada da MCP-1 foi relatada em pacientes hiperlipidêmicos. O aumento da sua expressão tem sido encontrado em pacientes com doença arterial coronária e seus valores encontram-se elevados em pacientes admitidos por infarto do miocárdio.¹³⁵

Estudos experimentais demonstram uma relação causal entre inflamação e reestenose. O bloqueio da MCP-1 reduziu o espessamento da neointimal intra-stent.¹³⁶ A MCP-1 apresenta elevação após intervenção coronária percutânea em seres humanos e parece se correlacionar com a ocorrência de reestenose.^{135,136}

Importante, os mecanismos celulares e moleculares após lesão arterial são altamente dependentes do tipo específico da lesão e instrumental utilizados. A implantação de stent experimental em artérias de animais provoca elevação sustentada da MCP-1 após a lesão (14 dias), em comparação com as artérias lesionadas por balão (24 horas).¹³³

Estudos clínicos em pacientes demonstraram um aumento significativo da MCP-1 nas primeiras horas após ICP, com pico em 24 horas, mais evidente e prolongado naqueles que evoluíram com reestenose. Após a ICP, nota-se elevação progressiva de MCP-1.¹³⁴

1.5 Proteína C reativa (PCR)

A concentração sérica da proteína C reativa (PCR) se constitui em um marcador da fase aguda inflamatória.¹³⁷ Valores elevados da PCR são um indicador do aumento do risco cardiovascular em indivíduos saudáveis, bem como em pacientes com aterosclerose.¹³⁸

Os valores mais elevados da PCR peri-procedimento podem indicar uma maior atividade da doença e um aumento da susceptibilidade vascular a

formação e remodelamento excessivo da íntima após angioplastia percutânea.¹⁴⁴

No entanto, permanece indeterminado se proteínas de fase aguda são apenas indicadores de um aumento do risco de reestenose ou se contribuem causalmente para a sua ocorrência. Um mecanismo causal envolveria a ativação do sistema complemento e outras moléculas inflamatórias, levando a danos subsequentes nos tecidos.¹³⁹

O implante percutâneo de stent coronário induz uma reação inflamatória precoce. A intensidade de tal reação, tal como aumento da PCR, tem sido correlacionada com a recorrência de eventos isquêmicos e a restenose via proliferação neointimal.^{140,144,145}

Na membrana íntima, citocinas inflamatórias e PCR são expressas por células da musculatura lisa (CML). Estas estimulam a proliferação e migração de CML, que são cruciais para a formação e hiperplasia neointimal após implante de stent. Tem sido demonstrado que os stents eluídos com rapamicina têm reduzida formação neointimal em artérias coronárias humanas. Estes dados demonstram que a rapamicina diminui a liberação de citocinas e PCR por CML estimuladas pela injúria vascular.^{142,143} Gibson *et al.*,¹² testaram a hipótese de que os stents eluídos com fármacos (DES) poderiam estar associados com redução precoce na liberação dos biomarcadores inflamatórios após ICP. Da mesma forma, o uso crônico de estatinas parece minimizar o aumento da PCR após ICP.¹⁴¹

1.6 Óxido nítrico (NO)

O óxido nítrico (NO) é um radical livre reativo formado como um subproduto durante a conversão do aminoácido L-arginina em citrulina pela enzima óxido nítrico sintase (NOS).¹⁴⁶

Células eucariotas sintetizam óxido nítrico, uma molécula intercelular que em valores basais regula processos vitais como o fluxo sanguíneo e a atividade neural.¹⁴⁷ Essa molécula ativa a guanilato ciclase solúvel, que forma o GMP cíclico (cGMP), um segundo mensageiro em células como

neurônios, células da musculatura lisa, monócitos e plaquetas, promovendo o relaxamento muscular e a vasodilatação.¹⁴⁸

Existem três isoformas da enzima NOS, que diferem em propriedades bioquímicas, estruturais, quantidade de NO produzida, distribuição, regulação e função.¹⁴⁹ A eNOS é encontrada em células endoteliais e o NO produzido por ela regula o tônus vascular e a adesão de células sanguíneas circulantes. A nNOS é encontrada em neurônios. A iNOS não é detectada em condições fisiológicas, sendo expressa por macrófagos e neutrófilos em inflamações por estímulo de citocinas, como o TNF α , IFN- α , IFN- β , IFN- γ e a IL-1 β , levando à síntese de quantidade de NO 10 a 100 vezes superior à produzida pelas isoformas constitutivas da NOS (eNOS e nNOS).¹⁵⁰

Na vasculatura, o NO é responsável por uma variedade de funções, incluindo a inibição da adesão de plaquetas e sua agregação, quimiotaxia de leucócitos, crescimento da célula muscular lisa e sua migração, vasodilatação, e reendotelização.¹⁵¹

O óxido nítrico tem um papel fundamental na função endotelial, atuando na regulação do tônus vascular e protegendo a parede arterial do desenvolvimento de lesões ateroscleróticas. Esta molécula tem sido implicada na redução da expressão de moléculas de adesão endotelial, como as selectinas e inflamatórias, como as citocinas, determinantes para o desencadeamento de aterogênese,¹⁵² podendo regular as reações trombóticas e inflamatórias e limitando a resposta à lesão vascular neointimal após implante de stent. Em lesões arterioscleróticas humanas, os níveis de NO estão marcadamente reduzidos em comparação com artérias não arterioscleróticas.¹⁵³ Redução do NO também tem sido implicada na ocorrência de trombose e reestenose nos locais de angioplastia com balão e após colocação de stent coronariano.^{154,156}

Pacientes que têm menor liberação de NO após implante de stent apresentaram pior evolução e maior risco de reestenose.¹⁵⁵ Devido ao efeito pleiotrópico do NO no lúmen arterial, um número de sistemas de liberação de NO, incluindo drogas e stents com polímeros eluídos com NO, têm sido exploradas para aplicação clínica. No entanto, a curta meia-vida “*in vivo*” de

NO (2 a 5 horas) e o seus potenciais efeitos secundários cardiovasculares distais ao local de reestenose têm limitado estes agentes.¹⁵⁶

A ICP com implantação de stent induz ao estresse oxidativo,¹⁵⁷ levando a alterações patológicas pós-procedimento, incluindo a restenose, trombose e disfunção endotelial. O uso prévio de estatinas tende a aumentar a liberação de NO.¹⁵⁸

1.7 As estatinas

Vários ensaios clínicos randomizados têm demonstrado que a redução de LDL, particularmente com estatinas, reduz o risco de eventos cardiovasculares e mortalidade.¹⁶¹

Estudos epidemiológicos associaram a correlação entre a incidência de doenças cardiovasculares e valores do colesterol. A morbidade e mortalidade correlacionam-se positivamente com baixa concentração plasmática do colesterol de baixa densidade lipoproteica (LDL) e inversamente com os valores do colesterol de alta densidade lipoproteica (HDL).^{162,164} Os inibidores da HMG CoA têm demonstrado a prevenção dos eventos cardiovasculares iniciais e eventos subsequentes em pacientes com doença cardiovascular isquêmica prévia, independente dos valores do colesterol.^{163,165} Além da diminuição do colesterol, as estatinas melhoram a função endotelial e a estabilidade das placas ateroscleróticas, inibindo a inflamação e a resposta trombogênica na parede arterial.¹⁶⁶

Dentre as estatinas, há diferenças na eficácia de redução do LDL plasmática, sendo que a rosuvastatina reduz LDL em maior escala e a fluvastatina apresenta os piores resultados. Apresentam também variações em seu metabolismo e lipofilidade, que afetam sua penetração extra-hepática e a interação com outros medicamentos.¹⁶⁷ A Tabela 1 compara as diferenças farmacocinéticas das estatinas.

Tabela 1- Propriedades farmacocinéticas das estatinas

Parâmetros	Rosuvastatina	Atorvastatina	Sinvastatina	Pitavastatina	Pravastatina	Fluvastatina	Lovastatina
T _{max} ^(h)	3	2-3	1.3 – 2.4	0.6-0.8	0.9-1.6	0.4-2.1	2-4
Biovaibilidade,%	20	12	<5	80	18	24	5
Ligação, Proteína,%	88	>98	>95	>99	50	>98	>98
Meia-vida, horas	19	15	2-3	10-11	1-3	1.2	2.9
Metabolismo	+	+++	+++	++	+	+++	+++
	CYP2C9	CYP3A4	CYP3A4	CYP2C8	Biliar	CYP2C9	CYP3A4
	CYP2C19			CYP2C9			
	Biliar						

T_{max}(h) = tempo da concentração máxima em hora

(Adaptado de Soran et al. ¹⁷³)

1.7.1 A rosuvastatina

A rosuvastatina é uma estatina de nova geração inibidora seletiva e reversível da 3-hidroxi-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase hepática, que limita a taxa de biossíntese hepática de colesterol de baixa densidade lipoprotéica (LDL) e reduz a produção de ApoB, levando a menor liberação hepática de lipoproteína de muito baixo peso (VLDL) e triglicerídeos.^{159,160} Possui propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas únicas.

A rosuvastatina possui baixa penetração extra-hepática, lipofilidade e interage com a isoenzima CYP2C9, características que aumentam sua capacidade de redução do LDL e diminuem sua interação com outros medicamentos. Estudos demonstram que a rosuvastatina produz maior elevação de colesterol de alta densidade (HDL) que outras estatinas, entre 8-12%, sem clara relação com a dose ou resposta, embora esta elevação seja maior entre os pacientes com os menores valores de HDL. Os valores de HDL têm relação com a atividade anti-inflamatória.^{168,169}

Como observado com outras estatinas, a rosuvastatina apresenta efeitos independentes da inibição da HMG-CoA redutase. Estes incluem melhora da função endotelial, efeito anti-inflamatório, anti-trombogênico e anti-oxidante.¹⁶⁹ A rosuvastatina pode melhorar a função endotelial possivelmente pelo aumento do óxido nítrico – um potente vasodilatador fisiológico - e pela redução da síntese de radicais livres derivados do

oxigênio potencialmente nocivos. Estes fatores reduzem a disfunção endotelial envolvida na aterosclerose.¹⁷⁴

A rosuvastatina pode reduzir a PCR sérica,¹⁷⁰ e inibe a agregação plaquetária e a atração de leucócitos, inibindo a formação de coágulos na injúria endotelial.¹⁷¹

A biodisponibilidade da rosuvastatina via oral é de 20%, comparável a atorvastatina, pravastatina e fluvastatina, sendo quantitativamente maior que a sinvastatina e lovastatina. Após uma dose única de rosuvastatina, a concentração plasmática atinge seu pico entre 2 e 3 horas. A administração conjunta a alimentos diminui a taxa de absorção intestinal da rosuvastatina em 20%, porém não reduz a sua potência na redução do colesterol plasmático.¹⁶⁷ A meia-vida plasmática é de 19 horas, primariamente é eliminada nas fezes (90%), em menor proporção pela via renal (10%), 72% do fármaco absorvido é eliminado via bile e 28% pela via renal.^{172, 173}

Ensaio clínico demonstram os efeitos pleiotrópicos, mesmo independente da redução do LDL-colesterol. O estudo JUPITER mostrou que as estatinas podem ser benéficas na prevenção primária da doença cardiovascular em pacientes com elevadas taxas de PCR e com valores relativamente baixos de colesterol.¹⁷³⁻¹⁷⁵ Esse estudo avaliou o efeito da rosuvastatina (20mg/dia) em reduzir a taxa de eventos cardiovasculares entre indivíduos aparentemente saudáveis com valores de colesterol LDL < 130 mg/dL (3,4 mmol/L) e valores da PCR > 2 mg/L.¹⁷⁶ Subanálises deste estudo mostram que indivíduos assintomáticos aleatoriamente alocados para o grupo da rosuvastatina foram os que alcançaram as mais baixas concentrações de LDL-colesterol e PCR.¹⁷⁷

Esses resultados indicam importância de componentes inflamatórios na mediação de doenças cardiovasculares, mas também sugerem um efeito colesterol independente das estatinas, porque a redução da PCR pela rosuvastatina não estava relacionada com a redução do LDL-colesterol. É interessante notar que os resultados do estudo *Multicenter Coronary Atherosclerosis Study Measuring Effects of Rosuvastatin Using Intravascular Ultrasound in Japanese Subjects* (COSMOS) confirmam estes dados.¹⁷⁶

Usando ultrassom intravascular para verificar o efeito da rosuvastatina sobre a aterosclerose coronária em pacientes japoneses com doenças isquêmicas do coração, os autores demonstraram que o tratamento com rosuvastatina reduziu significativamente o volume da placa intracoronária e aumentou o volume do lúmen vascular. No entanto, não houve correlação significativa entre a redução no volume da placa e a redução da LDL do plasma, apoiando a idéia de efeitos pleiotrópicos além da redução do colesterol.¹⁷⁷

1.7.2 Contra-indicação a rosuvatina e interações medicamentosas

A rosuvastatina possui várias contra-indicações, incluindo hipersensibilidade à rosuvastatina ou componentes da fórmula, doença hepática ativa, elevação de transaminases séricas, gravidez ou amamentação. Na amamentação, não se sabe se a rosuvastatina é transmitida pelo leite materno, contudo pelo potencial de prejudicar o metabolismo lipídico do bebê não é recomendado seu uso.¹⁷⁸

Interações medicamentosas clinicamente significantes são frequentemente de origem farmacocinética, associadas a indução ou inibição de enzimas metabolizadoras, como o sistema CYP. Muitas estatinas são metabolizadas pelo CYP3A4.¹⁷⁹ Por não ser metabolizada por esta via, a farmacocinética da rosuvastatina não foi alterada pela coadministração com inibidores da CYP3A4, como eritromicina, cetoconazol ou itraconazol.¹⁸⁰

A coadministração com o fluconazol (inibidor da CYP2C19) ou coma varfarina (substrato da CYP2C9), não afetou a farmacocinética da rosuvastatina.^{181,182} Assim como os agentes hipolipemiantes fenofibrato ou ezetimiba.¹⁸³ No entanto, com a administração concomitante com genfibrozil, ocorre maior duração da ação da rosuvastatina por mais de 2 vezes.¹⁸⁴

A C_{max} da rosuvastatina foi aumentada em até 7 vezes quando coadministrada com antirretrovirais atazanavir, ritonavir ou lopinavir¹⁸⁵ e por 11 vezes com ciclosporina.¹⁸⁶

A administração simultânea da rosuvastatina com antiácidos hidróxido de alumínio e magnésio diminuía duração da ação da rosuvastatina em 50%; no entanto, quando os medicamentos foram administrados com 2 horas de intervalo, a ação da rosuvastatina foi diminuída apenas em 20%.¹⁸⁷

A rosuvastatina não alterou a farmacocinética da digoxina, da concentração plasmática da ciclosporina, da ezetimiba ou fenofibrato de forma clinicamente relevante.¹⁸⁸

Em estudos clínicos, a rosuvastatina foi coadministrada com agentes anti-hipertensivos, agentes antidiabéticos e terapia de reposição hormonal. Esses estudos não demonstraram evidência de interações adversas clinicamente significativas.

Apesar de estudos clínicos terem demonstrado que a rosuvastatina em monoterapia não reduz a concentração de cortisol plasmático basal ou prejudique a reserva adrenal, deve-se ter cautela se a rosuvastatina for administrada concomitantemente com fármacos que podem diminuir os valores ou a atividade de hormônios esteroidais, tais como cetoconazol, espironolactona e cimetidina.

Uma potencial interação farmacocinética pode ocorrer quando a rosuvastatina é coadministrada com alguns anti-diabéticos orais (glibenclamida, glimepirida, troglitazone, pioglitazona, glipizida, gliclazida e tolbutamida).¹⁸⁹

2 Hipótese Científica

2 HIPÓTESE CIENTÍFICA

Em pacientes portadores de DAC estável que não fizeram uso de estatinas nos últimos sete dias, a administração via oral de rosuvastatina (40mg) três horas antes da ICP com stents coronarianos, farmacológicos e não-farmacológicos, resulta na redução da resposta inflamatória local, quando comparada à daqueles pacientes que não receberam este tratamento.

3 Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo primário

- Comparar a variação sérica de marcadores agudos de inflamação (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β , MCP-1/CCL-2, PAI-1, proteína C reativa e óxido nítrico) em três períodos: antes da medicação (tempo A), três horas após a medicação (tempo B) e três horas após o procedimento (tempo C) em pacientes tratados com rosuvastatina *versus* grupo controle sem estatina antes da ICP com stents metálicos farmacológicos e não-farmacológicos.

3.2 Objetivos secundários

- Correlacionar a variação sérica dos marcadores agudos de inflamação (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β , MCP-1/CCL-2, PAI-1, proteína C reativa e óxido nítrico) com a ocorrência de eventos clínicos adversos (óbito cardiovascular, infarto e reestenose) até doze meses após implante de stent coronariano farmacológico e não-farmacológico;
- Correlacionar a variação sérica dos marcadores agudos de inflamação (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β , MCP-1/CCL-2, PAI-1, proteína C reativa e óxido nítrico) com a respectiva expressão gênica de seus mensageiros de RNA;
- Comparar a variação sérica dos marcadores inflamatórios agudos séricos (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β , MCP-1/CCL-2) e de sua expressão gênica de células sanguíneas periféricas nos diferentes períodos amostrados.

4 Metodologia

4 METODOLOGIA

Esta investigação foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dante Pazzanese, protocolo nº4242, sendo o CAAE da Plataforma Brasil: 07348212.9.0000.5468 (Anexo B).

Após receberem as informações relevantes a respeito do procedimento ao qual seriam submetidos e, mediante a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo A), conforme a Declaração de *Helsinki* e a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, os pacientes foram habilitados para a inclusão neste estudo.

Este projeto contou com apoio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo (FAPESP). Número do processo registrado FAPESP 2012/ 22989-1 concedido em 01/04/2013. Os medicamentos para a pesquisa foram adquiridos pelo pesquisador e por doações por meio de amostras apresentadas em embalagens seladas e com data de validade adequada.

Médicos e enfermeiros pesquisadores, tecnólogos e assistentes de pesquisa ligados ao Serviço de Cardiologia Invasiva do Instituto Dante Pazzanese participaram da presente investigação clínica.

4.1 Desenho do estudo e população avaliada

Esta pesquisa foi conduzida no Serviço de Cardiologia Invasiva do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia no período de Outubro de 2014 a Dezembro de 2015.

Trata-se de estudo prospectivo, randomizado (1:1), onde os pacientes foram alocados em dois grupos: Grupo I (Tratamento) - pacientes tratados com dose de ataque de rosuvastatina (40 mg), via oral, três horas antes da ICP; e Grupo II (Controle) - pacientes que não receberam estatina nos sete dias que antecederam a ICP. A Figura 3 representa o fluxograma do estudo.

Figura 3 - Fluxograma do Estudo

ICP: intervenção coronária percutânea; TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido; NO: óxido nítrico; PCR: proteína C reativa; IDPC: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia.

A randomização foi realizada eletronicamente via sistema dedicado (<https://www.randomizer.org/>). Todos os pacientes arrolados foram submetidos a procedimentos de ICP percutânea eletivamente e, por protocolo, não deveriam fazer uso prévio de estatinas, ou se o fizessem, esta deveria ser interrompida por pelo menos sete dias antes do procedimento.

4.2 Casuística

4.2.1 Critérios de inclusão

Para o desenvolvimento do presente estudo foram incluídos pacientes da rotina do IDPC, com as seguintes características:

- a) Ambos os sexos, com idade > 18 anos;
- b) Com quadro clínico de DAC estável, conforme a classificação da Canadian Cardiovascular Society (CCS)¹⁹⁰ e com indicação para revascularização miocárdica;
- c) Apropriados anatomicamente para implante de stent;
- d) Lesão-alvo do tipo “de novo”, localizada em artéria coronária nativa com grau de estenose $\geq 70\%$ (avaliação visual);
- e) Sem uso prévio de estatinas por pelo menos 07 dias prévios à ICP;
- f) Pacientes capazes de compreender e assinar o TCLE.

4.2.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos pacientes que apresentassem qualquer uma das seguintes características:

- a) Pacientes do sexo feminino em idade gestacional ou lactação ou que se recusaram a realizar o teste de gravidez;
- b) Pacientes com síndrome coronariana aguda;
- c) Pacientes com quadro inflamatório ou infeccioso nos últimos 30 dias, comprovado por avaliação clínica e laboratorial;
- d) Pacientes com uso recente (até 30 dias antes da ICP) de anti-inflamatórios não hormonais e/ ou corticoides;
- e) Pacientes com intolerância e/ou contra-indicação conhecida aos medicamentos do estudo;
- f) Pacientes com expectativa de vida ≤ 12 meses;
- g) Paciente com doença hepática ativa ou elevações persistentes das transaminases séricas;
- h) Uso de aterectomia rotacional;
- i) Evidência de trombo intracoronário no momento da realização do procedimento;

- j) Retardo entre a administração da rosuvastatina e a efetivação do procedimento com implante de stent coronário na estenose-alvo igual ou superior a quatro horas;
- k) Pacientes nos quais a ICP foi realizada sem sucesso (lesão residual $\geq 20\%$, presença de dissecções não tratadas e/ou fluxo coronário final ≤ 3).

4.3 Preparo do paciente, aspectos técnicos do procedimento e protocolo medicamentoso adjunto

Os pacientes foram avaliados clinicamente e por meio de exames complementares. O eletrocardiograma foi realizado em três momentos distintos: na admissão do paciente, logo após o procedimento e antes da alta hospitalar. Os marcadores de necrose miocárdica (CK-MB massa e troponina I ultrasensível) foram avaliados antes do procedimento, seis a doze horas após o término do mesmo e, caso o resultado estivesse acima do percentil 99 do limite superior do valor de referência, outras coletas foram feitas, a cada seis horas, até a verificação da normalização dos valores.

O protocolo antiplaquetário recomendado constou do uso do ácido acetil salicílico, com dose de ataque de 200 mg e dose de manutenção de 100 mg/dia, associado a um tienopiridínico (clopidogrel: dose de ataque – 300 mg seguida de dose de manutenção de 75 mg/dia por 12 meses, conforme protocolo da Instituição na ocasião). Após ICP, todos os pacientes foram orientados a fazer uso de estatinas, sendo a escolha do tipo e dose facultados ao cardiologista clínico do paciente, e de acordo com a rotina do serviço.

Antes de iniciar o procedimento, foi administrada por via intravenosa, a heparina não fracionada (100 UI/kg). Nos casos não frequentes de uso do inibidor da glicoproteína IIb/IIIa, a dose da heparina foi reduzida para 70 UI/kg.

As escolhas do stent a ser implantado, bem como do uso dos métodos invasivos adjuntos, como por exemplo: o ultrassom intracoronário e a tomografia de coerência óptica, foram deixados a critério do operador.

Os procedimentos foram realizados objetivando o resultado angiográfico ótimo. Sempre que necessário, procedeu-se à pré-dilatação. Cuidou-se para que a pós-dilatação, quando indicada, fosse praticada com balões mais curtos que o SF implantado, evitando-se assim dano nos segmentos adjacentes (bordas).

Os pacientes incluídos no estudo foram submetidos à avaliação clínica e laboratorial protocolar. O presente estudo utilizou amostras de sangue de pacientes diagnosticados com doença arterosclerótica obstrutiva coronária com quadro clínico de angina estável. Com base na suspeita clínica de atividade anti-inflamatória da rosuvastatina e de acordo com estudos farmacológicos prévios, foi administrado por via oral 40 mg deste fármaco três horas pré implante do stent coronariano para Grupo Tratado (T). O tempo de três horas pré-procedimento foi utilizado devido o pico sérico de atividade da rosuvastatina.

Amostras de sangue periférico (5 microlitros – mL), foram coletadas para a dosagem dos níveis dos marcadores inflamatórios e sua expressão gênica pré e pós-implante de stent coronariano. As amostras foram identificadas numericamente, de acordo com o grupo e o tempo: tempo A - três horas pré-administração via oral de 40mg de rosuvastatina; tempo B - três horas após administração da medicação, e; tempo C - três horas após ICP. Para o Grupo Controle, amostras do tempo B foram iguais ao tempo A, visto que este grupo não recebeu medicamento algum três horas antes do procedimento.

Amostras de sangue total periférico foram submetidas a laboratório de referência para dosagem da PCR e realização de hemograma completo para exclusão de pacientes com enfermidades que pudessem interferir nos resultados do experimento.

O plasma, sangue total e o tubos de Paxgene contendo as amostras de sangue coletadas pré e pós-procedimento (6 amostras por paciente, totalizando 30 ml) foram encaminhados ao laboratório de biologia molecular do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia e armazenados em temperatura adequada até a realização dos testes.

4.4 Definições

Sucesso do procedimento

Definido como a obtenção de resultado angiográfico ótimo, ou seja:

- Lesão residual < 10% (definida pela ACQ), fluxo coronário TIMI 3 e ausência de trombos intraluminais e/ou dissecções residuais.
- Sucesso do procedimento: obtenção de sucesso angiográfico e ausência de complicações maiores na fase hospitalar (óbito, infarto do miocárdio e nova revascularização);
- Infarto peri-procedimento: elevação de CKMB acima de três vezes o valor de referência, associada ou não ao surgimento de novas ondas Q no eletrocardiograma;²¹⁵
- Cirurgia de emergência: cirurgia de revascularização miocárdica realizada em até 24 h após a intervenção, em situação clínica de isquemia miocárdica no território correspondente ao do vaso tratado;
- Reestenose angiográfica: presença de estenose >50% no local previamente tratado (que inclui o segmento do stent e os 5mm proximais e distais ao mesmo), conforme avaliação angiográfica quantitativa;
- Revascularizações adicionais na evolução tardia: nova intervenção percutânea ou revascularização cirúrgica realizadas novas ou previamente tratado, devido à reestenose (revascularização da lesão-alvo) ou não (revascularização do vaso-alvo). Também poderia ser revascularizado um vaso não tratado no procedimento índice (revascularização do vaso não-alvo);
- Infarto do miocárdio: surgimento, após a alta hospitalar, de novas ondas Q patológicas ao eletrocardiograma, em pelo

menos duas derivações contíguas, e/ou elevação de marcadores de necrose miocárdica > 2 vezes o valor de referência normal;

- Óbito: todos os óbitos foram considerados como de origem cardíaca, a menos não cardíaca fosse bem estabelecida;

Sucesso clínico

- Ausência de ECAM na fase hospitalar, tendo-se obtido sucesso do procedimento.

Eventos cardíacos maiores

Os ECAM combinados foram definidos como o composto de: óbito cardíaco, infarto do miocárdio não fatal e revascularização da lesão-alvo.

Para caracterização do evento clínico, definimos uma hierarquização dos ECM quanto à gravidade: revascularização da lesão-alvo < infarto não fatal < óbito cardíaco. Assim, diante da ocorrência de mais de um ECAM, consideramos sempre o mais grave para a definição do desfecho composto.

Para a análise dos dados do seguimento tardio, considerou-se sempre o primeiro evento ocorrido e excluíram-se aqueles da fase hospitalar.

Os óbitos foram classificados como cardíacos ou não cardíacos. Todas as mortes foram consideradas cardíacas, exceto quando uma causa não cardíaca inequívoca fosse identificada. As mortes súbitas também foram classificadas como óbitos cardíacos, a não ser nos casos em que havia algum diagnóstico de doença não cardíaca potencialmente letal.

O infarto do miocárdio (IM), logo após o procedimento (tipo 4a), foi definido como a elevação da CK-MB massa pelo menos ≥ 3 vezes o valor do percentil 99 do limite superior do valor de referência.^{215,216} Os infartos espontâneos na evolução foram aqueles identificados pela elevação de pelo menos duas vezes o valor do percentil 99 do limite superior do valor de

referência dos marcadores de necrose.

Reinfarto pós-ICP foi considerado quando houve elevação pós-SF de mais de 20% no valor da CKMB massa de base. Caso a CKMB massa não estivesse estável antes da ICP, este evento não pôde ser julgado. Todos os infartos foram classificados como “Q” ou não “Q”, com base nas alterações do eletrocardiograma, ou desconhecido (ausência de documentação).

A revascularização da lesão-alvo foi definida como qualquer nova intervenção percutânea ou cirúrgica, devido à recorrência da lesão, dentro do stent e/ou nas suas bordas (5 mm proximais ou distais às bordas do SF, na avaliação angiográfica).

Trombose protética

A trombose protética foi definida de acordo com publicação do FDA em dezembro de 2006 sobre trombose de stent farmacológico que participou do *Academic Research Consortium* (ARC).²¹⁴

Considerando-se o grau de certeza do diagnóstico, foram divididas em:

a) Definitiva:

- Sintomas de síndrome coronária aguda;
- Confirmação angiográfica ou anátomo-patológica da presença de trombo ao nível do stent.

b) Provável:

- Morte súbita até 30 dias da intervenção coronária percutânea;
- Infarto no território miocárdico tratado, ainda que sem confirmação angiográfica da oclusão do stent.

c) Possível:

- Morte súbita decorridos mais que 30 dias do procedimento.

De acordo com o momento de ocorrência da trombose, esta foi classificada como:

- a) Aguda:** ≤ 24 horas
- b) Sub aguda:** > 24 horas até 30 dias
- c) Tardia:** > 30 dias até 12 meses
- d) Muito tardia:** > 12 meses.

4.5 Análise da expressão de genes relacionados à resposta inflamatória aguda

4.5.1 Extração de RNA total

O RNA dos indivíduos incluídos no estudo foi extraído de leucócitos totais a partir de amostras de sangue coletadas em tubo PAXgene[®]. A extração foi realizada utilizando o kit PAXgene[™] Blood RNA Kit 50, v2 (QIAGEN, GmbH, Alemanha) de acordo com as recomendações do fabricante. A quantificação do RNA obtido foi realizada em fluorômetro (Qubit[®] 2.0, Life Technologies, Forest City, USA) com o kit QUBIT[®] RNA Assay (Life Technologies, Forest City, USA) cuja capacidade de detecção está entre 20 e 1000 ng/ μ L.²¹⁷

A análise de integridade do RNA extraído foi realizada com tiras RNA Screen Tape[®] e a plataforma Agilent 2200 TapeStation[®] (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). O valor numérico de integridade do RNA RIN[®] (RNA integrity number equivalent) varia entre 10 (RNA intacto) e 1 (RNA totalmente degradado), e para o experimento de expressão gênica foram utilizadas apenas as amostras com valores de RIN maior que 7.²¹⁷ O RNA extraído foi mantido a -80°C até o momento do uso.

4.5.2 Transcrição reversa e reação da polimerase em cadeia (RT-PCR)

A fita de DNA complementar (cDNA) foi sintetizada a partir de 800ng de RNA total com o kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Life Technologies, Forest City, USA). O kit contém iniciadores aleatórios (random primers), uma mistura dos 4 nucleotídeos (dNTP), a enzima MultiScribe™ Reverse Transcriptase e o tampão da enzima.

A RT-PCR foi realizada em termociclador (Mastercycler Personal, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha), com as seguintes etapas: 25°C por 10 minutos; 37°C por 120 minutos e 85°C por 5 minutos. O cDNA foi armazenado a -20°C até o momento do uso.

4.5.3 Escolha do gene de referência (normalizador)

A escolha do gene de referência, utilizado como normalizador na PCR quantitativa, foi realizada com o programa geNorm (Primer Design Ltd., Reino Unido). Para isso foram avaliados 6 genes endógenos mais comumente usados cientificamente para o tecido estudado: gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH), beta 2-microglobulina (B2M), hipoxantina fosforobosil transferase 1 (HPRT1), complexo da succinato desidrogenase subunidade A flavoproteína (SDHA), ubiquitina C (UBC) e hidroximetilbilano sintase (HMBS). Desses, o que apresentou menor variação de expressão entre as amostras nas diferentes condições do estudo foi o GAPDH.

4.5.4 Análise da expressão gênica pela reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR)

A quantificação relativa da expressão do RNA dos genes listados na Tabela 2 pela PCR em Tempo Real foi realizada com o sistema de detecção TaqMan® Gene Expression Assay (Life Technologies, Forest City, USA), o equipamento RotorGene® (Qiagen GmbH, Hilden, Alemanha) e o gene GAPDH como referência endógena. A reação ocorreu no formato multiplex,

por essa razão as sondas MGB dos genes alvos foram marcados com corante fluorescente 6-carboxifluoresceína (FAM), enquanto o gene normalizador foi marcado com 6-carboxi- 4',7', 2', 7'-tetracloro-fluoresceína (VIC).²¹⁷

Na reação de amplificação, além do cDNA e dos reagentes do Kit Quantifast® Multiplex PCR, foram adicionados 1µL do ensaio Taqman® 20x e água livre de RNase em um volume final de 20µL. Todas as reações foram realizadas em duplicata e com controle negativo. A quantidade de cDNA utilizada nas reações foi otimizada a partir de uma curva-padrão, realizada com diferentes concentrações de amostra de cDNA. Segundo (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001), para a qPCR ter eficiência de 100%, a inclinação (slope) da curva-padrão deve ser próxima de -3,3. A eficiência de cada reação foi considerada adequada para valores entre 90 e 110%. A qPCR ocorreu nas seguintes condições: um ciclo de 10 min a 95°C; 40 ciclos de 15 segundos a 95°C e 15 segundos a 60°C. Os dados foram analisados no programa Rotor-Gene Q – Pure detection (QIAGEN, GmbH, Alemanha).

Tabela 2- Relação dos genes e especificações dos ensaios utilizados na determinação de expressão gênica pela RT-qPCR

Gene	Número de Catálogo	Marcação
IL1-β	Hs01555410_m1	FAM
IL-6	Hs00985639_m1	FAM
IL-8	Hs00174103_m1	FAM
TNF-α	Hs01113624_g1	FAM
TGF-β1	Hs00998133_m1	FAM
MCP-1	Hs00234140_m1	FAM
PAI-1	Hs01126606_m1	FAM
GAPDH	4326317E	VIC

IL-6: interleucina 6, IL-1β: interleucina 1 beta, IL-8: interleucina 8, TNF-: fator de necrose tumoral alpha, TGF-β1: fator de transformação do crescimento beta, MCP-1: proteína quimiotática de monócitos-1, PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio; GAPDH: gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase

(Adaptado de Abbas e Lichtman ²¹⁷)

Para a quantificação relativa da expressão gênica, foi utilizado o método comparativo de Ct (Ciclo em que a fluorescência emitida pelo produto amplificado ultrapassa o limite de detecção [Threshold] do equipamento). Assim, as análises de expressão do RNAm dos genes foram realizadas com base na fórmula: $2^{-\Delta\Delta Ct}$, onde $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$ amostras tratadas - ΔCt do controle (utilizado como calibrador). E $\Delta Ct = Ct$ do gene alvo - Ct do gene endógeno. Considerou-se maior ou menor expressão todo o valor de quantificação relativa >2 ou $<0,5$, respectivamente. Antes de calcular o valor de $2^{-\Delta\Delta Ct}$, os valores de Ct foram ajustados de acordo com as regras abaixo:

- a. Todos os valores de Ct maiores que 40 ou não detectados (N/A) deveriam ser considerados como negativos (não expressos);
- b. A diferença dos valores de Ct entre as duplicatas deveria ser menores que 0,5;
- c. A eficiência das reações do gene de referência e do gene alvo deveria ser semelhante.

4.6 Multiplex Luminex para dosagem de marcadores inflamatórios

Para a dosagem de citocinas, utilizou-se amostras de plasma obtidas a partir do sangue total periférico colhido em tubo contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Os tubos foram centrifugados a 4° C no máximo 30 minutos após a coleta para a separação do plasma, que foi armazenado imediatamente a -20°C.

As concentrações das citocinas foram determinadas em multiplex, utilizando-se o sistema Luminex®100TM (Luminex Corporation, Austin, TX, EUA). Os ensaios foram analisados no programa xPONENT 3.1. As proteínas foram dosadas com os seguintes kits customizados Milliplex Map Kits (EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA):²¹⁷

1. Human Adipokine Magnetic Bead Panel 1 (HADK1MAG-61K) para dosar PAI-1;

2. Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel (HCYTOMAG-60K) para dosar MCP1, IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8;
3. TGF- β 1 Single Plex (TGFBMAG-64K-01) para dosar TGF- β 1.

As leituras foram realizadas em duplicata e monitoradas utilizando-se a curva padrão e controles de qualidade fornecidos pelo fabricante.

4.7 Dosagem de óxido nítrico

A determinação de óxido nítrico (NO) nas amostras de plasma dos pacientes foi realizada pela técnica de quimioluminescência em fase gasosa entre o óxido nítrico e o ozônio. Os produtos de reação do NO (nitrito, nitrato e nitrosotióis) presentes no plasma desproteínizado são convertidos em NO ao reagirem com reagentes redutores. O NO gerado é então carregado com gás inerte para a câmara de quimioluminescência do detector de alta sensibilidade Sievers® Óxido Nítrico Analyzer 280 (GE Analytical Instruments, Boulder, USA).

A determinação do NO foi realizada no plasma, no aparelho *Nitric Oxide Analyzer* (NOATM280, Sievers Instruments, Boulder, CO, EUA) pela técnica de quimioluminescência.²¹⁷ Esse método proporciona uma alta sensibilidade (detecção de 1 picomol) na quantificação direta do NO, sendo necessários apenas 10 μ L do sobrenadante da amostra desproteínizada. No aparelho, o nitrito e nitrato (metabólitos estáveis do NO) reagem com o cloreto de vanádio (Sigma, ST Louis, MO, EUA) e convertem-se novamente em NO, o qual é captado em um compartimento específico do NOA, reagindo com ozônio e nesta reação há formação de oxigênio e ânions de dióxido de nitrogênio: $NO^- + O_3 \rightarrow NO_2^- + O_2$. Estes ânions se estabilizam em nitrito havendo perda de elétrons através da emissão de fótons de luz ($h\nu$): $NO_2^- \rightarrow NO_2 + h\nu$. Estes fótons de luz são detectados pelo tubo fotomultiplicador que desloca elétrons para o dinodo e deste para o ânodo produzindo uma corrente elétrica; a intensidade dessa corrente é então processada pelo programa de computador *Software NO Analysis*.^{TM 217}

4.8 Hemograma completo e dosagem de proteína C reativa (PCR)

Amostras de sangue total coletadas a partir do acesso venoso periférico e pré-medicação, pós medicação e pós procedimento (6 amostras por paciente) em tubos de rotina contendo anticoagulante foram enviadas em caixa isotérmica contendo gelo reciclado no máximo 30 minutos pós-procedimento a laboratório de análises clínicas para dosagem da PCR e realização de hemograma completo, com o objetivo de excluir pessoas imunocomprometidas, com infecções concomitantes ou outras causas de leucopenia ou leucocitose.

4.9 Análise estatística

Os resultados foram analisados no software SPSS 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) e o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. Antes de efetuar os testes de comparações das variáveis quantitativas, foi avaliado se os parâmetros seguiam uma distribuição normal pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov*.

As variáveis qualitativas foram descritas em frequências absolutas e relativas (porcentagens). As quantitativas foram resumidas em médias e desvios-padrão ou em medianas e intervalos interquartis, de acordo com a distribuição de cada variável.

Para as comparações entre os Grupos Tratado e Controle em relação a variáveis qualitativas, foi utilizado o teste χ^2 , Pearson ou o teste exato de Fisher nos casos em que as frequências esperadas eram inferiores a 5. Para os dados quantitativos; os grupos foram comparados pelo teste t de Student para as variáveis com distribuição normal e pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney para variáveis com distribuição não Normal.

As alterações nos valores de óxido nítrico, proteína C reativa, valores de interleucinas e expressão gênica foram analisadas por modelos ANOVA com medidas repetidas considerando dois fatores: Grupo (Tratado e Controle) e momento de avaliação (pré e pós-ICP).

Para avaliar o efeito da rosuvastatina sobre os desfechos levando-se em conta características clínicas, angiográficas e dados do procedimento, foram utilizados modelos de regressão logística. As variáveis com $p < 0,20$ nos modelos de regressão logística simples (abordagem univariada) foram selecionadas para os modelos de regressão múltipla (abordagem multivariada). A partir do modelo multivariado inicial, as variáveis sem significância estatística foram excluídas passo a passo até se obter o modelo final. Os resultados foram expressos em odds ratio e respectivos intervalos de confiança de 95%.

4.10 Cálculo amostral

O tamanho mínimo amostral foi calculado baseando-se na redução de pelo menos 25% no valor médio do marcador inflamatório (IL-6) no Grupo Tratado em comparação com o Grupo Controle. Para tanto, utilizou-se de informações existentes na literatura sobre o incremento nos níveis desses marcadores após implantação de stent coronariano.^{38,49} Utilizou-se como referência um estudo prévio que demonstrou redução dos níveis inflamatórios em quase 50% em pacientes que utilizavam estatina regularmente comparado com os que não receberam este tratamento antes da ICP.^{29,166,167}

Como os tamanhos amostrais calculados foram diferentes entre os marcadores propostos, optou-se pela amostra obtida para o marcador (IL-6) que necessitou de maior número de pacientes, com erro alfa de 5% e poder estatístico de 80%. Com esse racional, obteve-se o número de 50 pacientes por grupo.

Para compensar perdas, a amostra calculada foi acrescida de 10%, o que resultou em uma amostra final de 110 pacientes (55 em cada grupo).

5 Resultados

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização dos pacientes incluídos no estudo

Entre março de 2014 e dezembro de 2015, foram convidados a participar do estudo 149 pacientes com DAC estável e sem uso de estatinas por sete ou mais dias pré ICP, atendidos nos serviços de cardiologia, Seção de Angioplastia do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia em São Paulo, SP e no Hospital Santa Rosa, Cuiabá, MT.

Previamente à randomização, foram excluídos 19 pacientes por não preencherem os critérios de inclusão/exclusão, três com síndrome coronária aguda, seis com reestenose de stent prévio e 10 por problemas inerentes à padronização dos testes.

Os pacientes (n=130) foram randomizados após o preenchimento dos critérios de inclusão, e também com a aceitação em participar do estudo mediante a assinatura do TCLE em dois grupos: Grupo Tratado (n=65), que recebeu dose de ataque de rosuvastatina 40 mg administrada por via oral, três horas antes da realização da ICP eletiva com stent coronário e Grupo Controle (n=65), que não recebeu medicação pré-ICP eletiva com stent coronário. No decorrer do estudo, um paciente foi excluído do Grupo Tratado e quatro do Grupo Controle devido à amostra apresentar-se inviável para os testes de expressão gênica dos mediadores inflamatórios agudos nos testes de viabilidade e quantificação do RNA extraído.

Os Grupos Tratado e Controle foram semelhantes em relação às características clínicas de base, incluindo idade, sexo e outros fatores de risco cardiovascular como hipertensão, diabetes melito, tabagismo, dislipidemia, ICP e CRM prévios (Tabela 3).

A maioria dos pacientes apresentava hipertensão, dislipidemia e cerca de 30% desses pacientes apresentavam obesidade ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Os grupos não diferiram significativamente quanto ao IMC, peso, ClCr e valores de creatinina prévia ao procedimento.

Os pacientes do Grupo Tratado apresentavam angina estável (AE) (71,9%) mais frequente na apresentação, contra maior frequência de pacientes

assintomáticos (34,4%) dentre os pacientes do Grupo Controle ($p=0,579$). O sexo masculino foi mais frequente com 60,8% dos casos ($p=0,583$) e Diabetes Melitus ocorreu em 33,6% ($p=0,112$) pacientes dos dois grupos.

Tabela 3 - Variáveis e características clínicas de pacientes incluídos nos Grupos Tratados e Controle

Variáveis	Tratado (n=64)	Controle (n=61)	Valor de p
Gênero feminino - n(%)	22 (36,1,%)	18(29,6%)	0,583
Idade (anos), média $\pm$ dp	62,9 $\pm$ 12,3	63 $\pm$ 10,7	0,941
IMC, kg/m ² , média $\pm$ dp	26,2 $\pm$ 2	26,3 $\pm$ 3,8	0,579
Obesidade (IMC $\geq$ 30kg/m ²)-n(%)	19(29,7%)	18(29,5%)	0,830
Indicação da ICP – n(%)			
Isquemia silenciosa	18(28,1%)	21(34,4%)	0,579
Angina estável	46(71,9%)	40(65,6%)	
Antecedentes – n(%)			
Hipertensão arterial sistêmica	55(85,9%)	58(95,1%)	0,128
Diabetes Melito	21(32,8%)	21(34,4%)	0,112
Dislipidemia	54(84,4%)	54(88,5%)	0,116
Tabagismo ativo	11(4,6%)	7(2,8%)	0,282
Infarto do miocárdio prévio	22 (34,4%)	14(22,9%)	0,172
ICP prévia	12(18,7%)	9(14,7%)	0,384
RCM prévia	8 (12,5%)	9(14,8%)	0,797

dp=desvio-padrão; n (%)= número (percentual); kg/m = quilograma por metro quadrado; IMC= índice de massa corpórea ICP= intervenção coronária percutânea; RCM= revascularização cirúrgica miocárdica

Na Tabela 4 observamos o tratamento médico ambulatorial pré procedimento. Conforme observado, a maioria dos pacientes usava sinvastatina (81,2% vs 81,9%; $p=0,395$) e na maioria o tempo de uso das estatinas foi mais de um mês até um ano (46,8% vs 49,1%; $p=0,825$) previamente a inclusão no estudo. Este medicamento foi interrompido sete dias pré-procedimento.

Também não foram notadas diferenças entre os grupos quanto aos demais medicamentos de rotina para tratamento cardiológico de afecções concomitantes.

A Tabela 5 apresenta a descrição dos valores de creatinina, clearance da creatinina e CK-MB massa observados antes da ICP. Apesar de ter sido

observada uma tendência de maiores valores de creatinina entre os pacientes do Grupo Controle, a proporção de pacientes com clearance de creatinina inferior a 60ml/min foi semelhante nos dois grupos (Tabela 5). Da mesma forma, não houve diferença quanto à dosagem de CK-MB massa obtida antes do procedimento entre os grupos.

Tabela 4- Comparações entre os grupos quanto ao tratamento médico ambulatorial

Variáveis	Tratado (n=64)	Controle (n=61)	Valor de p
Uso prévio de estatina (>7 dias)			
Sinvastatina	52 (81,2%)	50 (81,9%)	0,395
Atorvastatina	8 (12,5%)	7 (11,4%)	
Rosuvastatina	4 (6,2%)	10 (6,5%)	
Duração da terapia com estatina (meses) –mediana (IIQ)	6 (2-12)	8 (3-12)	0,483
Até 1 mês	11(17,1%)	10 (16,4%)	0,825
> 1 mês até 1 ano	30(46,8%)	30(49,1%)	
Mais que 1 ano	23(35,9%)	21(34,4%)	
Outros medicamentos – n (%)			
Aspirina	58(95,1%)	59(92,2)	0,233
Clopidogrel	64 (100%)	61(100%)	0,740
Betabloqueador	42(68,9%)	42(65,6)	0,708
IECA	33(51,5%)	32 (52,4%)	0,770
Bloqueador do receptor angiotensina	18(28,1%)	17(27,8%)	0,866
Bloqueador de canal do calico	14 (23%)	22(34,4)	0,172
Nitrato	19(29,6%)	18(29,5%)	0,915
Diurético	12(18,7%)	10(16,3%)	0,528

IIQ=intervalo interquartil; IECA= inibidor da enzima de conversão da angiotensina

Quanto às características do procedimento (Tabela 6) os pacientes do Grupo Controle apresentaram com maior frequência lesões em bifurcação 19,7% vs 6,2% ($p=0,032$). No que tange ao local da lesão, houve predomínio da localização no 1/3 médio para o Grupo Controle (47,5% vs. 26,6%) e no terço distal para o Grupo Tratado (25% vs. 6,6%) ($p=0,006$). Todos os stents farmacológicos utilizados foram (100%) eluídos com zotalorimus e foram utilizados em 70,3% dos pacientes ($p=0,557$), não havendo diferença

significativa entre os grupos (Grupo Tratado com 73,4% e Grupo Controle com 67,2%) conforme Tabela 7.

Tabela 5- Características bioquímicas dos Grupos Tratados e Controle pré-procedimento

Variáveis	Tratado (n=64)	Controle (n=61)	Valor de p
Creatinina sérica (mg/dL), média $\pm$ dp	0,92 $\pm$ 0,25	0,96 $\pm$ 0,26	0,084
Clearance de creatinina (ml/min), média $\pm$ dp	81,94 $\pm$ 31,38	87,85 $\pm$ 28,79	0,132
Clearance de creatinina < 60 ml/min, n (%)	10 (15,6%)	9(14,7%)	0,972
CK-MB (mg/dl), média $\pm$ dp	1,30 $\pm$ 0,78	1,27 $\pm$ 0,79	0,666

dp= desvio-padrão; mg/dL= miligrama por decilitro; ml/min=mililitro por minuto

Tabela 6- Características angiográficas dos Grupos Tratados e Controle

Variáveis	Tratado (n=64)	Controle (n=61)	Valor de p
Número de artérias tratadas, n (%)			
Uniarterial	64(87,5%)	53(86,9%)	0,508
Multiarterial	8(12,5%)	8(13,1%)	
Vaso tratado, n (%)			0,094
Coronária direita	24(37,5%)	16(26,2%)	
Circunflexa	15(23,4%)	10(16,4%)	
Descendente anterior	15(23,4%)	28(45,9%)	
Tronco de coronária esquerda	1(1,6%)	2(3,3%)	
Outros ramos	9(14,1%)	5(7,9%)	
Local da lesão, n (%)			0,006
Ostial	1(1,6%)	3 (4,9%)	
Proximal	30(46,9%)	25(41%)	
Medial	17(26,6%)	29(47,5%)	
Distal	16(25%)	4 (6,6%)	
Lesão na Bifurcação, n (%)	4 (6,2%)	12(19,7%)	0,032
Complexidade da lesão tratada, n (%)			
Tipo B2 / C	37(77%)	35(72,7%)	0,247
Percentual de estenose, média $\pm$ dp	79,7 $\pm$ 12,5	77,8 $\pm$ 10,7	0,248
Fluxo TIMI 3 pós ICP, n (%)	56(87,5%)	54(88,5%)	0,596
	63(98,4%)	60(98,4%)	>0,999

dp=desvio-padrão; n(%)= número (percentagem)

Nas Tabelas 7 e 8 são apresentados dados do procedimento de ICP. Observa-se que a via de acesso mais utilizada em ambos os grupos foi a radial (65,6% vs 68,8%, $p=0,11$). Na maioria dos casos foi utilizado somente um stent coronariano (68,8% vs 69,6%; $p=0,844$). A pós-dilatação foi mais frequente no Grupo Controle com 73,4% vs 90,2% ($p=0,021$). Não foram encontradas diferenças nas demais características do procedimento.

Não ocorreu óbito intra-hospitalar em pacientes incluídos no estudo. Houve somente um caso de trombose aguda no grupo controle durante o procedimento de ICP, por dissecação e trombose do stent. Este caso envolveu o uso de inibidor da glicoproteína IIb/IIIa, aspiração de trombo com material apropriado para extração de trombo, dilatação com balão e implante de mais de um stent, com restabelecimento de fluxo TIMI classe 3 na artéria principal e TIMI classe 2 no ramo secundário. O paciente foi encaminhado para unidade de terapia intensiva não ocorrendo intercorrências, com alta hospitalar após quatro dias da ICP.

Tabela 7- Comparações entre os Grupos Tratado e Controle quanto às características do procedimento de ICP

Variáveis	Tratado (n=64)	Controle (n=61)	Valor de p
Via de acesso, n (%)			
Femoral	22(34,4%)	19(31,2%)	0,110
Radial	42(65,6%)	42(68,8%)	
Número de stents por paciente	1 (1-2)	1 (1-2)	0,910
1 stent	44(68,75%)	42 (69,6%)	0,844
2 ou mais stents	20(31,25%)	19 (30,4%)	
Diâmetro máximo do stent (mm), média $\pm$ dp	2,8 $\pm$ 0,4	2,9 $\pm$ 0,5	0,287
Comprimento total dos stents (mm), media	22,6 $\pm$ 6,4	20,8 $\pm$ 7,8	0,088
Stent farmacológico Zotarolimus, n (%)	47(73,4%)	41(67,2%)	0,557
Pré-dilatação, n (%)	40(65,6%)	45(71,3%)	0,263
Stent direto, n(%)	21(32,8%)	20(32,8%)	1
Pós-dilatação, n (%)	47(73,4%)	55 (90,2%)	0,021
Volume do contraste (ml), mediana (IIQ)	70,0 (55-100)	70,0 (50-91)	0,373
Tipo de contraste, n (%)			
Iônico de alta osmolaridade	37 (57,8%)	33 (54%)	0,425
Iônico de baixa osmolaridade	27(42,2%)	28(46%)	

dp=desvio-padrão; IIQ=intervalo interquartil; n(%)= número (percentagem)

Tabela 8- Intercorrências angiográficas observadas durante o procedimento de ICP nos Grupos Tratado e Controle

Variáveis	Tratado (n=64)	Controle (n=61)	Valor de p
Complicações angiográficas, n (%)	4(6,25%)	4 (6,5%)	1
Slow/no reflow	0	0	
Dissecção	1	1	
Oclusão de ramo lateral/comprometimento de fluxo	3	2	
Oclusão aguda de vaso-alvo	0	1	
Ruptura coronária	0	0	
Embolia distal	0	0	

dp=desvio-padrão; IIQ=intervalo interquartil; n(%)= número (percentagem)

5.2 Comparações entre os Grupos Tratado e Controle quanto aos níveis de CK-MB e características clínicas no acompanhamento pré e pós-ICP

Antes da ICP, não havia diferença entre os grupos ($p=0,666$) quanto aos valores de CK-MB massa. Pós-ICP, houve um aumento significativo com maior média de CK-MB massa no Grupo Controle ($p=0,004$). Os pacientes do Grupo Controle também permaneceram internados por um período de tempo médio maior ($1,4 \pm 0,8$ dias vs $1,0 \pm 0,2$ dias, $p=0,001$) e apresentaram infarto peri-procedimento com maior frequência (23% vs. 4,7%, $p=0,004$)(Tabela 9).

Tabela 9- Desfecho intra-hospitalar nos Grupos Tratado com rosuvastatina e Controle pré-procedimento de intervenção coronariana percutânea (ICP)

Variáveis	Tratado (N=64)	Controle (N=61)	Valor de p
Elevação de CK-MB maior que 3 x LSN, n	3 (4,7%)	14 (23%)	0,004
Creatinina 24 horas após ICP, média±DP	$1 \pm 0,4$	$0,9 \pm 0,4$	0,352
Tempo de internação (dias) média±DP	$1 \pm 0,2$	$1,4 \pm 0,8$	0,001

CK-MB: isoenzima MB da creatina quinase; DP: desvio padrão

No acompanhamento clínico em meses dos grupos, com média de $12,4 \pm 3$ meses ($13,2 \pm 2,7$ Grupo Tratado e $11,6 \pm 3,1$ meses Grupo Controle, $p < 0,001$) observou-se que a maioria dos pacientes permaneceram assintomáticos ($p = 0,366$). Dos eventos cardíacos adversos pós-ICP, reestenose (6,6% vs. 1,6%) e infarto miocárdico (3,3% vs. 0%) ($p = 0,09$) foram mais frequentes no Grupo Controle (Tabela 10). Para os eventos combinados, o Grupo Controle apresentou mais eventos adversos pós-ICP (9,8% vs. 1,6%, $p = 0,058$) (Gráfico 1).

Tabela 10 - Eventos clínicos adversos entre os pacientes incluídos nos Grupos Tratados com rosuvastatina e Controle durante o período de acompanhamento clínico pós-ICP

Variáveis	Tratado (N= 64)	Controle (N=61)	Valor de p^1
Sintomas (Assintomático)	44 (71%)	49 (80,3%)	0,366
Sintomas (Angina CCSII, CCSIII)	13(21%)	7 (11,5%)	< 0,499
Eventos (Não)	63 (98,3%)	55(90,2%)	0,09
Eventos (Reestenose do vaso alvo)	1 (1,6%)	4 (6,6%)	
Eventos (Infarto)	0	2 (3,3%)	
Eventos combinados (Sim)	1 (1,6%)	6(9,8%)	0,058

1) Teste χ^2 para variáveis categóricas e teste de Mann-Whitney para comparações das escalas das variáveis contínuas

Gráfico 1- Curva de *Kaplan-Meier* para eventos combinados (Reestenose e Infarto) por grupo - Teste *log-rank*

5.3 Mediadores inflamatórios entre os Grupos Tratados com dose de ataque de rosuvastatina e controle

Os valores referentes à quantificação de RNA mensageiro de mediadores inflamatórios por qPCR para os Grupos Tratado e Controle são apresentados nas Tabelas 11 e 12.

Na Tabela 11 são comparados os períodos de coleta A (pré administração da rosuvastatina 40mg) e B (3 horas após administração da rosuvastatina pré-ICP) apenas para o Grupo Tratado, visto que para o Grupo Controle o tempo B foi considerado igual ao A.

Tabela 11- Estatísticas descritivas para diferenças relativas para a expressão gênica de mediadores de inflamação aguda no Grupo Tratado com rosuvastatina entre os tempos B (pré-intervenção coronariana percutânea) e A (pré-administração da rosuvastatina) $[(B - A)/A]$

Expressão gênica		Grupo	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão	Mediana	1º quartil	3º quartil	p ¹
Diferença relativa (B - A)/A	MCP-1	TRATADO	64	-0,949	14,242	0,165	1,844	-0,051	-0,397	0,182	0,382
	TGF-β	TRATADO	64	-0,984	1,235	0,072	0,326	0,039	-0,117	0,233	0,095
	IL-6	TRATADO	64	-0,823	12,833	0,372	2,204	-0,031	-0,358	0,270	0,562
	IL-8	TRATADO	64	-0,701	25,173	0,746	3,319	-0,054	-0,242	0,457	0,377
	TNF-α	TRATADO	64	-0,588	1,266	0,107	0,346	0,028	-0,054	0,251	0,025
	PAI-1	TRATADO	64	-0,920	6,728	0,479	1,752	-0,095	-0,597	0,723	0,581
	IL-1β	TRATADO	64	-0,936	1,071	0,007	0,375	0,035	-0,218	0,257	0,637

(1) Teste de Mann-Whitney. MCP-1: proteína quimioatrativa de monócitos; TGF-β: fator de crescimento tumoral beta; IL: interleucina; TNF-α, fator de necrose tumoral alpha; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogenio 1

Observou-se que houve aumento significativo nos valores da expressão gênica do TNFα (p=0,025) para o Grupo Tratado. Para os demais marcadores, não foram observadas variações nos valores de expressão gênica entre o tempo A e B para o Grupo Tratado.

Na Tabela 12, são apresentados os valores dos marcadores inflamatórios séricos, mensurados por Luminex. O Grupo Tratado apresentou uma diminuição dos valores séricos de citocinas IL-6 (p=0,047) e

de PAI-1 ($p < 0,001$) do momento A para o B. Para as demais interleucinas não ocorreram alterações significativas entre os tempos no Grupo Tratado.

Tabela 12- Comparação pareada entre os momentos A (pré-medicação) e B (pré-intervenção coronariana percutânea) para os níveis séricos das citocinas para o Grupo Tratado com dose de ataque de rosuvastatina

Medida	Momento A (N=64)	Momento B (N=64)	Diferença média	Valor p ¹
MCP-1, pg/ml	404,84 ± 154,39	412,38 ± 122,91	-7,53	0,805
TGF-β, pg/ml	8568,19 ± 7335,5	7133,44 ± 4311,29	1434,75	0,251
IL-6, pg/ml	2,89 ± 3,2	2,55 ± 2,71	0,34	0,047
IL-8, pg/ml	7,16 ± 5,37	5,54 ± 2,94	1,62	0,268
TNF-α, pg/ml	11,74 ± 5,21	11,28 ± 5,62	0,46	0,135
PAI-1, pg/ml	118967 ± 55921,67	83647,39 ± 49006,19	35319,6	<0,001
IL-1β, pg/ml	0,52 ± 0,52	0,53 ± 0,52	-0,01	0,986

(1) Teste Wilcoxon. MCP-1: proteína quimioatrativa de monócitos; TGF-β: fator de crescimento tumoral beta; IL: interleucina; TNF-α, fator de necrose tumoral alpha; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogenio 1

Nas Tabelas 13 e 14 são demonstrados os dados obtidos em comparação entre o Tempo A (pré-medicação) e Tempo C (pós ICP) no Grupo Tratado e Controle para a expressão gênica (Tabela 13) e valores séricos de mediadores inflamatórios (Tabela 14). Observa-se que alguns marcadores apresentaram-se com valores alterados já no tempo A.

Para a análise estatística, consideramos os valores médios obtidos no tempo C. Assim, podemos observar no tempo C para o Grupo Tratado uma redução dos valores da IL-1β ($p_{\text{interação}} < 0,001$) de 0,491pg/ml [0,349;0,692], $p < 0,001$ comparado com o Grupo Controle. Corroborando este achado, a expressão gênica da IL1-β também diminuiu comparando-se o tempo C em relação ao A no Grupo Tratado em relação ao controle (0,297 vs 0,617, $p = 0,016$).

Os valores de IL-6 no Grupo Tratado reduziram relativamente em 0,209 pg/ml [0,156;0,28], $p < 0,001$ ($p_{\text{interação}} < 0,001$) no tempo C em relação ao A e em comparação ao Grupo Controle, da mesma forma corroborando este achado observou-se a diminuição relativa da expressão gênica do mRNA

deste mediador para o Grupo Tratado comparado ao Grupo Controle (0,751 vs 1,267, $p<0,001$).

Em contrapartida, para o Grupo Controle, observa-se um aumento dos valores séricos de IL-1 β e IL-6 e da respectiva expressão gênica do tempo A para o C.

Para os valores do PAI-1, observamos os valores séricos basais no tempo A diferentes 1,573pg/ml[1,255; 1,971], $p<0,001$) ocorrendo uma diminuição relativa de 0,986 pg/ml[0,786; 1,237], $p=0,988$) com ($p_{\text{interação}}<0,001$) no tempo C no Grupo Tratado, corroborando estes achados, ocorreu uma diminuição relativa da expressão gênica (1,073 vs 1,849, $p=0,002$) comparado ao Grupo Controle. O Grupo Controle apresentou um aumento dos valores séricos de PAI-1 e de sua expressão gênica.

Os valores séricos basais de TGF- β no tempo A apresentaram-se diferentes entre os Grupos Controle e Tratado, ocorrendo uma diminuição relativa 0,583pg/ml[0,436;0,78], $p<0,001$), com ($p_{\text{interação}}=0,097$) que foi acompanhado de uma redução não significativa na expressão deste gene (0,859 vs 9,849, $p=0,609$) no tempo C no Grupo Tratado, quando comparado ao Grupo Controle.

Os valores séricos de TNF- α apresentaram aumento relativo no Grupo Tratado em 1,177 pg/ml[0,973; 1,424], $p<0,106$) com ($p_{\text{interação}}=0,002$), acompanhado de um aumento não significativo na expressão do mRNA deste gene neste grupo (0,310 vs 0,235, $p=0,822$) quando comparados aos valores referentes ao Grupo Controle no tempo C.

Tabela 13- Estatísticas descritivas das diferenças relativas para a expressão gênica de marcadores inflamatórios agudos para os Grupos Controle e Tratado com rosuvastatina nos tempos A (3 horas pré-intervenção coronariana percutânea [ICP]) e C (3 horas pós-ICP)

Expressão gênica		Grupo	N	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão	Mediana	1º quartil	3º quartil	IC para média (95%) Inf Sup		p¹
Diferença relativa (C - A)/A	MCP-1	Todos	125	-0,972	20,259	0,613	2,606	-0,041	-0,397	0,505	0,152	1,074	0,289
		CONTROLE	61	-0,887	8,580	0,512	1,661	0,021	-0,422	0,765	0,087	0,937	
		TRATADO	64	-0,972	20,259	0,709	3,274	-0,153	-0,371	0,340	-0,109	1,527	
	TGF-β	Todos	125	-0,994	426,565	5,246	39,793	0,057	-0,129	0,248	-1,799	12,291	0,609
		CONTROLE	61	-0,994	426,565	9,849	56,515	0,057	-0,129	0,206	-4,625	24,323	
		TRATADO	64	-0,985	47,168	0,859	5,897	0,050	-0,120	0,366	-0,614	2,332	
	IL-6	Todos	125	-0,969	27,443	1,003	3,050	0,173	-0,165	0,947	0,463	1,543	<0,001
		CONTROLE	61	-0,503	8,862	1,267	1,716	0,845	0,036	1,603	0,828	1,706	
		TRATADO	64	-0,969	27,443	0,751	3,921	-0,054	-0,431	0,395	-0,228	1,730	
	IL-8	Todos	125	-0,903	13,320	1,129	2,121	0,444	0,007	1,346	0,754	1,504	0,582
		CONTROLE	61	-0,684	6,835	0,880	1,579	0,444	0,021	1,114	0,476	1,284	
		TRATADO	64	-0,903	13,320	1,365	2,523	0,409	0,005	1,596	0,735	1,995	
	TNF-α	Todos	125	-0,946	3,857	0,274	0,679	0,141	-0,086	0,505	0,154	0,394	0,822
		CONTROLE	61	-0,946	2,655	0,235	0,603	0,117	-0,047	0,404	0,081	0,389	
		TRATADO	64	-0,760	3,857	0,310	0,747	0,177	-0,153	0,580	0,123	0,497	
	PAI-1	Todos	125	-0,906	10,487	0,305	1,525	0,021	-0,418	0,301	0,035	0,575	0,002
		CONTROLE	61	-0,833	10,487	0,602	1,849	0,094	-0,268	0,385	0,128	1,076	
		TRATADO	64	-0,906	5,156	0,022	1,073	-0,179	-0,548	0,242	-0,246	0,290	
	IL-1β	Todos	125	-0,939	7,938	0,453	1,109	0,110	-0,193	0,885	0,257	0,649	0,016
		CONTROLE	61	-0,690	3,377	0,617	0,991	0,414	-0,098	1,173	0,363	0,871	
		TRATADO	64	-0,939	7,938	0,297	1,197	0,000	-0,237	0,446	-0,002	0,596	

(1) Teste de Mann-Whitney. MCP-1: proteína quimioatrativa de monócitos; TGF-β: fator de crescimento tumoral beta; IL: interleucina; TNF-α, fator de necrose tumoral alpha; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogenio 1

Tabela 14- Comparações dos valores médios de mediadores inflamatórios séricos de acordo com o momento de coleta da amostra A (administração da dose de rosuvastatina 3 horas pré-ICP) e C (3 horas após ICP) entre os Grupos Tratado e Controle

Medida (pg/ml)	Momento	CONTROLE	TRATADO	valores p			Dif relativa (Trat/Cont) em C	
		(n=61)	(n=64)	Grupo	Tempo	Interação	Estimada	Valor p
MCP-1	A	389,11 ± 147,8 (n=61)	404,84 ± 154,39 (n=64)	0,002	<0,001	0,009	1,04 [0,895; 1,21]	0,801
	C	456,93 ± 260,61 (n=61)	615,31 ± 239,15 (n=64)				1,347 [1,109; 1,635]	0,001
TGF-β	A	11878,8 ± 9459,21 (n=61)	8568,19 ± 7335,5 (n=64)	<0,001	0,193	0,097	0,721 [0,522; 0,996]	0,047
	C	14441,34 ± 11124,18 (n=61)	8422,86 ± 6017,62 (n=64)				0,583 [0,436; 0,78]	<0,001
IL-6	A	2,63 ± 1,9 (n=61)	2,89 ± 3,2 (n=64)	<0,001	<0,001	<0,001	1,099 [0,762; 1,585]	0,801
	C	11,69 ± 7,92 (n=61)	2,44 ± 1,97 (n=64)				0,209 [0,156; 0,28]	<0,001
IL-8	A	7,51 ± 3,12 (n=61)	7,16 ± 5,37 (n=64)	0,511	0,689	0,931	0,953 [0,75; 1,21]	0,878
	C	7,77 ± 4,61 (n=61)	7,32 ± 4,51 (n=64)				0,942 [0,741; 1,197]	0,818
TNF-α	A	12,84 ± 5,66 (n=61)	11,74 ± 5,21 (n=64)	0,531	0,002	0,002	0,914 [0,768; 1,088]	0,414
	C	12,87 ± 6,44 (n=61)	15,15 ± 7,09 (n=64)				1,177 [0,973; 1,424]	0,106
PAI-1	A	75633,36 ± 49493,91 (n=61)	118967 ± 55921,67 (n=64)	0,005	0,019	<0,001	1,573 [1,255; 1,971]	<0,001
	C	83619,41 ± 47928,27 (n=61)	82478,44 ± 47530,64 (n=64)				0,986 [0,786; 1,237]	0,988
IL-1β	A	0,62 ± 0,44 (n=61)	0,52 ± 0,52 (n=64)	0,001	0,787	<0,001	0,84 [0,6; 1,176]	0,411
	C	0,8 ± 0,53 (n=61)	0,39 ± 0,41 (n=64)				0,491 [0,349; 0,692]	<0,001

Modelo para medidas repetidas ajustados por equações de estimação generalizada, distribuição *Gama*, função *link log*. MCP-1: proteína quimioatrativa de monócitos; TGF-β: fator de crescimento tumoral beta; IL: interleucina; TNF-α, fator de necrose tumoral alpha; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogenio 1

Os valores da MCP-1 aumentaram em ambos os grupos, porém de forma mais significativa no Grupo Tratado, com aumento relativo de 1,347 pg/ml[1,109; 1,635], $p=0,001$) com ($p_{\text{interação}}=0,009$). Corroborando estes achados, houve aumento não significativo da expressão deste gene para Grupo Tratado (0,709 vs 0,512, $p=0,289$) no tempo C em relação ao tempo A.

Para os valores séricos de IL-8, não ocorreram alteração significativas em ambos os grupos tanto para as dosagens de interleucinas ($p_{\text{interação}}=0,931$) quanto na expressão gênica ($p=0,582$).

No Gráfico 2 observa-se um aumento significativo ($p<0,05$) de IL-6 sérica para o grupo de pacientes com IAM periprocedimento, com pico sérico em seis horas (tempo C) após ICP com stent.

Gráfico 2 - Boxplots para os valores séricos de interleucina 6 conforme o momento de medida, nos Grupos Controle e Tratado e entre pacientes que apresentaram infarto agudo de miocárdio (IAM) periprocedimento

Na Tabela 15, são apresentadas as diferenças relativas entre os tempos A e C nos pacientes com IAM periprocedimento. Para a expressão gênica observamos um aumento dos valores séricos de IL-6 e IL1- β no grupo IAM periprocedimento, mas não significativo comparado ao grupo sem infarto. Houve ainda uma diminuição significativa da expressão gênica de TNF- α com $p=0,043$ no grupo IAM periprocedimento, provavelmente pela

diminuição da expressão de TNF- α no Grupo Controle, que infartou com maior frequência.

Tabela 15 - Comparações das diferenças relativas entre A e C para os para as interleucinas e expressão gênica em pacientes com IAM periprocedimento apresentados por mediana e intervalo interquartilico ou frequências absolutas e relativas

Diferença relativa (C - A)/A	Não (n=108)	Sim (n=17)	p ¹
Expressão gênica			
MCP- 1	0,01 [-0,37 – 0,51] (n=108)	-0,14 [-0,45 – 0,13] (n=17)	0,572
TGF β	0,04 [-0,17 – 0,24] (n=108)	0,1 [0,05 – 0,49] (n=17)	0,075
IL-6	0,16 [-0,19 - 0,87] (n=108)	0,36 [-0,08 - 1,57] (n=17)	0,399
IL8	0,44 [0 – 1,35] (n=108)	0,41 [0,3 – 1,85] (n=17)	0,716
TNF- α	0,17 [-0,08 - 0,51] (n=108)	0,08 [-0,37 – 0,17] (n=17)	0,043
PAI-1	0,03 [-0,41 – 0,3] (n=108)	-0,23 [-0,42 – 0,28] (n=17)	0,798
IL1- β	0,09 [-0,19 – 0,75] (n=108)	0,53 [-0,38 – 1,04] (n=17)	0,716
Variação nos valores séricos das citocinas			
Δ MCP-1>30%	34/108 (31,48%)	4/17 (23,53%)	0,584
Δ TGF β >30%	25/108 (23,15%)	5/17 (29,41%)	0,553
Δ IL 6>30%	48/108 (44,44%)	9/17 (52,94%)	0,604
Δ IL-8>30%	64/108 (59,26%)	13/17 (76,47%)	0,283
Δ TNF- α >30%	41/108 (37,96%)	2/17 (11,76%)	0,052
Δ PAI-1 >30%	29/108 (26,85%)	4/17 (23,53%)	0,999
Δ IL-1 β >30%	49/108 (45,37%)	9/17 (52,94%)	0,608

(1) Teste de Mann-Whitney (2) Teste exato de Fisher. MCP-1: proteína quimioatrativa de monócitos; TGF- β : fator de crescimento tumoral beta; IL: interleucina; TNF- α , fator de necrose tumoral alpha; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogenio 1

Tabela 16 - Médias e desvios padrão das interleucinas segundo eventos em 12 meses para o tempo C (3 horas após intervenção coronariana percutânea) em pacientes que receberam dose de ataque de rosuvastatina em comparação ao controle

Medida	Evento – Não (n=118)	Evento - Sim (n=7)	Total (n=125)	p ¹
MCP-1	543,229 ± 264 (n=118)	450,286 ± 204,241 (n=7)	538,024 ± 261,228 (n=125)	0,408
TGF β	11617,873 ± 9520,608 (n=118)	7010,857 ± 3917,996 (n=7)	11359,88 ± 9348,74 (n=125)	0,188
IL-6	6,551 ± 7,009 (n=118)	13,784 ± 9,885 (n=7)	6,956 ± 7,339 (n=125)	0,014
IL-8	7,558 ± 4,614 (n=118)	7,209 ± 3,481 (n=7)	7,538 ± 4,547 (n=125)	0,97
TNF-α	14,01 ± 6,786 (n=118)	14,474 ± 8,483 (n=7)	14,036 ± 6,851 (n=125)	0,944
PAI-1	82461,458 ± 46095,426 (n=118)	92707,429 ± 71764,718 (n=7)	83035,232 ± 47535,639 (n=125)	0,902
IL-1β	0,586 ± 0,509 (n=118)	0,676 ± 0,626 (n=7)	0,591 ± 0,513 (n=125)	0,743

(1) Teste Wilcoxon. MCP-1: proteína quimioatrativa de monócitos; TGF-β: fator de crescimento tumoral beta; IL: interleucina; TNF-α, fator de necrose tumoral alpha; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogenio 1

Na Tabela 16 observamos valores de média no tempo C aumentados significativamente de IL-6 para o grupo com eventos em 12 meses (p=0,014). Na Tabela 17 considerou-se um aumento significativo de >30% nos marcadores inflamatórios e, ao compará-los entre os grupos, observou-se um aumento importante com HR=4,963 para IL-6 (p=0,146) e de TNF-α com HR=1,716 (p=0,483) para o grupo que apresentou eventos em 12 meses.

Tabela 17- *Hazard Ratios* estimados a partir do modelo de riscos proporcionais de Cox para o aumento de ao menos 30% no marcador inflamatório agudo entre pacientes tratados com rosuvastatina 3 horas pré-intervenção coronariana percutânea e Grupo Controle

Medida	Evento – Não (n=118)	Evento - Sim (n=7)	Hazard Ratio [IC 95%] ¹	p ¹
Δ MCP-1>30%	37/118 (31,4%)	1/7 (14,3%)	0,276 [0,033; 2,311]	0,235
Δ TGF-β>30%	29/118 (24,6%)	1/7 (14,3%)	0,566 [0,068; 4,712]	0,599
Δ IL-6>30%	51/118 (43,2%)	6/7 (85,7%)	4,963 [0,571; 43,105]	0,146
Δ IL-8>30%	75/118 (63,6%)	2/7 (28,6%)	0,203 [0,039; 1,051]	0,057
Δ TNF-α>30%	40/118 (33,9%)	3/7 (42,9%)	1,716 [0,379; 7,767]	0,483
Δ PAI-1>30%	32/118 (27,1%)	1/7 (14,3%)	0,457 [0,054; 3,841]	0,471
Δ IL-1β>30%	56/118 (47,5%)	2/7 (28,6%)	0,330 [0,063; 1,714]	0,187

(1) Modelo de riscos proporcionais de Cox. MCP-1: proteína quimioatrativa de monócitos; TGF-β: fator de crescimento tumoral beta; IL: interleucina; TNF-α, fator de necrose tumoral alpha; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogenio 1

No que se refere aos valores séricos de óxido nítrico (NO) e proteína C reativa (PCR) para o Grupo Tratado nos tempos A e B não ocorreu variação significativa ($p=0,112$) e ($p=0,632$) (Tabela 18).

Tabela 18- Comparação entre os momentos A e B do Grupo Tratado com rosuvastatina 3 horas pré-intervenção coronariana percutânea para os níveis de óxido nítrico (NO) e proteína de C reativa (PCR)

Medida	Momento A	Momento B	Diferença média	p ¹
Dosagem de NO (uM)	55 ± 23,56 (n=64)	57,64 ± 21,54 (n=64)	-2,64	0,112
PCR (mg/dl)	0,86 ± 1,88 (n=64)	0,75 ± 1,06 (n=64)	0,11	0,632

(1) Teste Wilcoxon; NO: óxido nítrico; PCR: proteína C reativa

Na Tabela 19 observamos que ocorreu aumento dos valores séricos de NO de forma significativa para o Grupo Tratado ($p=0,004$) em comparação ao Grupo Controle, no tempo C. Bem como um aumento dos valores séricos da PCR de forma significativa para o Grupo Controle ($p=0,04$) em comparação ao Grupo Tratado, no tempo C, após implante de stent.

Tabela 19- Comparação entre os tempos A (pré-medicação) e C (3 horas após intervenção coronariana percutânea) do Grupo Controle versus Tratado com rosuvastatina para os valores de óxido nítrico (NO) e proteína C reativa (PCR)

Mediador	Medida	Momento A	Momento C	Valor p ¹
Óxido nítrico(uM)	Controle	63,7 ± 31,45 (n=61)	60,34 ± 27,46 (n=61)	0,004
	Tratado	55 ± 23,56 (n=64)	63,81 ± 24,77 (n=64)	
PCR (mg/dl)	Controle	0,76 ± 0,74 (n=61)	0,86 ± 1,88 (n=64)	0,04
	Tratado	0,94 ± 0,73 (n=61)	0,88 ± 1,75 (n=64)	

(1) Teste Wilcoxon. 1- NO: Óxido nítrico; 2- PCR: proteína C reativa

Conforme observado na Tabela 19, os valores de NO e PCR não variam para o Grupo Tratado nos tempos A e B. No tempo C, após implante do stent houve um aumento significativo dos valores de NO ($p=0,004$) e

redução dos valores da PCR ($p=0,04$) para o Grupo Tratado em relação ao Controle.

Foram analisadas as variações do procedimento com relação ao número de pós dilatações, presença de bifurcações, diabetes mellitus, vasos finos ($<2,5\text{mm}$), uso de dois ou mais stents com objetivo de avaliar os níveis de resposta inflamatória aguda pós ICP e respectiva expressão gênica, e em nenhuma das análises estatísticas houve correlação entre as características do procedimento e níveis da resposta inflamatória, sendo não significativas ($p<0,05$).

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

As estatinas são fármacos associados à efeitos pleiotrópicos como a redução de processos inflamatórios, além de seus efeitos sobre a redução de colesterol LDL. A inflamação desempenha um papel fundamental em todas as fases da aterosclerose, da lesão incipiente até as síndromes coronarianas agudas.¹² Durante o procedimento de intervenção coronariana percutânea (ICP), o processo inflamatório exacerbado pode influenciar sobre o desfecho clínico do paciente, podendo ocorrer eventos clínicos adversos como o infarto agudo de miocárdio (IAM) peri ou pós-procedimento e a reestenose do vaso tratado.

Este estudo randomizado, prospectivo e multicêntrico apresentou como desafio avaliar os efeitos da dose única de ataque de rosuvastatina sobre a expressão de genes e valores séricos de interleucinas e mediadores associados ao processo inflamatório agudo pré-medicação, três horas após medicação, quando foi realizada a ICP, e três horas após a ICP com stents metálicos em paciente com DAC estável sem uso de estatinas por pelo menos sete dias prévios ao procedimento, caracterizando temporalmente a evolução desses marcadores inflamatórios e sua respectiva expressão gênica, bem como a importância do uso de doses altas de ataque de estatina na redução da inflamação aguda para aqueles pacientes estáveis.

Neste estudo, a dose de ataque da rosuvastatina reduziu a reação inflamatória aguda mediada por IL-6, IL-1 β , PAI-1 e PCR com aumento de NO promovendo principalmente, redução da ocorrência de infarto periprocedimento e do tempo de internação geral do paciente tratado. Observou-se ainda que oTNF- α , MCP-1 e o óxido nítrico apresentaram valores mais elevados no Grupo Tratado e, a PCR apresentou redução significativa nos pacientes que receberam rosuvastatina 40 mg 3 horas pré-procedimento (ICP).

A análise conjunta dos dados de expressão gênica e seu produto final, as interleucinas, são importantes para maior fidedignidade dos resultados obtidos. O aumento ou diminuição da expressão gênica deve ser

acompanhado pelo aumento ou diminuição de sua respectiva interleucina, a não ser que ocorra algum polimorfismo, inativação precoce pelo sistema pós-tradução (por miRNA) ou demora na produção final, bem como que o mesmo mRNA seja utilizado em múltiplos ciclos de síntese protéica.²⁰²

Assim, neste estudo é demonstrada a correlação com significância estatística da redução da expressão gênica e respectivamente nos valores séricos das citocinas do Grupo Tratado para PAI-1, IL-1 β e IL-6. Os valores de TNF- α e MCP-1 demonstraram aumento significativo nos níveis séricos das citocinas no Grupo Tratado, porém sem significância na expressão gênica, 3 horas após o procedimento.

Os valores mais baixos de TNF- α no Grupo Controle correlacionaram-se significativamente com a maior ocorrência de IAM neste grupo, periprocedimento, assim como os níveis maiores de IL-6 também se correlacionaram com maior reestenose e IAM no seguimento clínico do Grupo Controle.

Previamente à administração da medicação, no tempo A, observou-se a variação entre indivíduos dos valores basais de mRNA e de citocinas, provavelmente influenciados pelas suas características clínicas, medicamentos previamente usados e fatores genéticos. Esse fator foi estatisticamente minimizado no estudo com a inclusão de um número maior de pacientes nos grupos de estudo.

Uma série de reações são iniciada imediatamente após insuflação do balão ou implante de um stent coronariano. As consequências iniciais imediatamente após a colocação do stent incluem a desendotelização e esmagamento da placa, muitas vezes acompanhadas de dissecação da túnica média e ocasionalmente, da adventícia, em uma região da artéria. Uma camada de plaquetas e fibrina é então depositada no local injuriado e inicia-se a ativação da resposta inflamatória aguda, inicialmente pela transativação da expressão de genes dos marcadores inflamatórios, seguida pela síntese no citoplasma celular dessas citocinas, que são secretadas no meio extracelular e atuam recrutando células envolvidas no processo inflamatório, aumentando a expressão de moléculas de adesão no endotélio

e potencializando a inflamação aguda em um processo de cicatrização. Essa inflamação pode ser exacerbada em alguns casos, levando a efeitos adversos como a reestenose ou IAM.¹¹

No presente estudo, os valores de MCP-1 apresentaram-se aumentados significativamente no Grupo Tratado após a ICP. Este aumento pode ser associado a um mecanismo compensatório, já que outros mediadores potentes da inflamação como IL-6 estão diminuídos neste grupo e, a MCP-1 estimula a síntese de IL-6.¹³⁵ Outra justificativa para o aumento da MCP-1 seria a lesão endotelial aguda pós ICP, que libera MCP-1 como resposta inflamatória inicial para a atração de monócitos/macrófagos, que são os principais fagócitos envolvidos na reparação tecidual inicial e liberação de citocinas pró-inflamatórias, bem como óxido nítrico. O aumento nos valores séricos de MCP-1 foi acompanhado de um leve aumento na expressão gênica, não significativo, que pode ser justificado pela utilização do mesmo mRNA para vários ciclos de síntese proteica. Neste sentido, o implante experimental de stent metálico em artérias de animais provoca elevação sustentada da MCP-1 14 dias após a lesão, em comparação com artérias com lesão de balão (24 horas).¹³⁴ O bloqueio de MCP-1 mediado por anticorpo diminui o espessamento neointimal na lesão induzida por balão ou stent.¹³⁵ Outros estudos indicam ainda que valores de MCP-1 persistentemente elevados por 15 dias após a ICP foram preditores independentes da reestenose.¹³⁶

Em literatura, são escassos os estudos correlacionando o uso de estatinas e concentrações de IL-1 β pós ICP. A expressão gênica e a produção final de IL-1 β encontraram-se reduzidas no Grupo Tratado neste estudo. Esta citocina desempenha função importante na indução das moléculas de adesão dos leucócitos nas células endoteliais, bem como na produção de outras citocinas como TNF- α .⁵⁵ Na literatura a IL-1 β constitui em um potente mediador de inflamação aguda, sugeriu-se que esta citocina desempenha um papel na inflamação após lesão arterial.⁵⁸ Nos seres humanos, artérias com lesões ateroscleróticas têm maiores valores de IL-1 β quando comparados com valores das artérias coronarianas sem lesões.^{56,60}

Já foi demonstrado que o uso crônico de estatinas reduz os valores séricos de IL-1 β .¹⁹¹⁻¹⁹³

Neste estudo foi observada a redução da expressão gênica e da IL-6 no Grupo Tratado. Estudos demonstram que o tratamento precoce com estatina reduz as concentrações de IL-6 após ICP.^{29,40,167} O aumento dos valores de IL-6 após ICP foram previamente associados com maiores taxas de reestenose e trombose do stent.^{52,66} Portanto, neste estudo os valores reduzidos de IL-6 no período de 3 horas pós-ICP pode estar associado a menor ocorrência de IAM no periprocedimento e de reestenose durante o acompanhamento clínico pós-ICP. Valores elevados de IL-6 no soro de pacientes com angina instável internados a 48 horas foram associados anteriormente com pior prognóstico.¹¹ Valores elevados de IL-6 em pacientes que receberam trombólise por IAM estão associados a pior prognóstico intrahospitalar e tardio.³⁹ Em pacientes saudáveis⁴⁰ e em uma população de idosos saudáveis,¹⁶⁶ valores mais elevados de IL-6 foram associados com o aumento do risco cardiovascular a longo prazo e mortalidade não-cardiovascular.

No presente estudo, observamos uma elevação dos valores de TNF- α no Grupo Tratado sem refletir num aumento significativo da expressão gênica entre os grupos, provavelmente por aumento compensatório à IL-1 β e IL-6, que se apresentam com valores reduzidos no Grupo Tratado. Nas células endoteliais humanas, o TNF- α tem sido associado com o aumento da expressão e síntese de citocinas pró-inflamatórias, tais como MCP-1 e IL-6.⁸¹⁻⁸³ Em amostras de ateroma de pacientes, o TNF- α foi encontrado aumentado na maioria das lesões ateroscleróticas⁷⁸ e, valores de TNF- α em amostras de sangue aspirados dos enxertos de veia safena se correlacionaram com a taxa de reestenose 6 meses em pacientes submetidos ICP.⁸⁰

Na análise do PAI-1, observamos variações nos valores basais séricos no tempo A para o Grupo Controle e Tratado ($p < 0,001$), contudo estes valores iniciam a redução no Grupo Tratado no tempo B (3 horas após medicação) ($p < 0,001$) e mais ainda no tempo C (após ICP $p_{\text{interação}} < 0,001$)

para o Grupo Tratado. Corroborando estes achados, a expressão gênica também diminuiu progressivamente no decorrer do tempo no Grupo Tratado com rosuvastatina ($p=0,002$), e a PCR, conhecida como indutora do PAI-1, também se encontra reduzida no Grupo Tratado. O uso crônico dose-dependente de estatinas previamente a ICP ocasiona redução dos valores séricos de PAI-1.¹³⁰ Estudos de polimorfismos genéticos no PAI-1 mostram que determinados tipos de genótipos demonstram a associação entre polimorfismos do PAI-1 (PAI-1 4G/5G) e a predisposição genética a oclusão da coronária em pacientes com IAM que foram submetidos a ICP.¹²⁸ Valores séricos de PAI-1 aumentam significativamente na fase aguda após ICP em pacientes que apresentaram reestenose de stent.¹³⁰

Na análise dos valores de TGF- β , observa-se que valores basais dos grupos são diferentes no tempo A (antes da medicação) ($p=0,047$) no tempo B ($p=0,251$) e tempo C ($p<0,001$) de forma não significativa com ($p_{\text{interação}}=0,097$) assim como a variação na expressão gênica de seu mensageiro não foi significativa ($p=0,609$). Estudos demonstram que TGF- β estimula a síntese de PAI-1,¹⁰⁴ e que esta molécula estimula a síntese da matrix extracelular após injúria tecidual, se exacerbada esta pode provocar a reestenose do vaso.⁹⁷

Os valores de IL-8 neste estudo mantiveram-se semelhantes entre os períodos dosados e grupos, indicando que a dose de ataque de rosuvastatina não promoveu alteração na expressão do mRNA ou síntese desta citocina após ICP. Estudos demonstraram a correlação entre elevações nos valores de IL-8 e complicações precoces e tardias.⁷⁴ Em pacientes com angina estável, ocorre uma elevação dos valores de IL-8 após a ICP.⁷¹ Valores elevados de IL-8 são associados a maior ocorrência de reestenose após implante de stent coronário.⁶⁸

Pelo estudo apresentado, a dose de ataque de rosuvastatina 40mg 3 horas pré-ICP reduziu o infarto periprocedimento no Grupo Tratado em relação ao Controle (3 (4,7%) vs 14(23%), $p=0,004$) e o tempo de internação ($1\pm0,2$ vs $1,4\pm0,8$ dias, $p=0,001$) corroborando outros estudos, que relacionam a redução na inflamação periprocedimento por estes fármacos a

melhora do estado geral do paciente e menor ocorrência de eventos adversos. Para os eventos combinados no seguimento de 12 meses, o Grupo Controle apresentou mais eventos adversos pós-ICP (9,8% vs. 1,6%, $p=0,058$), indicando um efeito benefício de longa duração do pré-tratamento com estatina.

Yun *et al.*,¹⁹⁴ examinaram se a dose única de rosuvastatina (40 mg) 16 ± 5 horas pré-ICP é benéfica sobre a evolução de 445 pacientes com SCA sem supra de ST planejados para uma estratégia invasiva precoce. O aumento de 2 vezes sobre valores basais de CK-MB, foi utilizado para definir o IAM periprocedimento, detectado em 11,4% dos pacientes do Grupo Controle e em 5,8% do grupo rosuvastatina ($p= 0,035$) após a ICP. Os resultados de 12 meses de seguimento mostraram uma redução da incidência de eventos combinados (20,5% vs 9,8%, $p = 0,005$) e de morte, e infarto do miocárdio não fatal ($p = 0,021$), indicando um efeito benéfico de longa duração do pré-tratamento com estatina sobre o desfecho clínico do paciente.

Cay *et al.* ¹⁹⁵ demonstraram que a dose única elevada de rosuvastatina (40 mg) 24 horas antes da ICP em pacientes com angina estável que nunca haviam usado estatinas ($n=153$) apresentaram menores índices de aumento de CK-MB, que foram significativamente mais baixos 12 horas após a ICP no Grupo Tratado, reduzindo a incidência de IAM de forma eficaz.

O estudo ROMA¹⁹⁶ avaliou 160 pacientes com angina estável submetidos à ICP eletiva após receber uma dose de 40 mg de rosuvastatina 24 horas antes da ICP ($n=80$) ou um tratamento padrão controle ($n=80$), concluindo que doses elevadas de rosuvastatina nas 24 horas antes da ICP eletiva podem diminuir a incidência de necrose miocárdica periprocedimento durante um período de 12 meses em comparação com o tratamento padrão. O ROMA II demonstrou que a recarga com altas doses de estatina melhora os resultados clínicos pós-procedimento e também em longo prazo em pacientes estáveis em uso crônico de estatina.¹⁹⁷

A vasodilatação endotélio-dependente primariamente ocorre através da liberação de um mediador, oNO.¹⁵⁰ Dados bem documentados em estudos “*in vitro*” e “*in vivo*” mostraram que as estatinas aumentam a expressão de eNOS, e este pode ser o principal mecanismo pelo qual elas melhoram a disfunção endotelial.¹⁴⁹ A rosuvastatina atenua o espessamento médio-intimal e a hipertrofia vascular, aumentando a resposta da aorta ao NO em ratos.¹⁴⁸ Além de aumentar a síntese de NO pela isoforma endotelial, as estatinas mantêm a disponibilidade de NO, impedindo sua degradação por radicais livres.¹⁴⁹

Em cultura celular também se verificou a diminuição da eNOS e dos valores de NO após a interrupção das estatinas.¹⁴⁵ Um possível mecanismo molecular para isto pode estar relacionado com o aumento da expressão da membrana Rho após a retirada da estatina.¹⁴⁶ Estudos recentes têm mostrado que a disfunção endotelial desempenha um papel importante como um fator de risco independente para as doenças cardiovasculares.²⁰²

O aumento de PCR induz a expressão do PAI-1 e diminui os valores de óxido nítrico, levando assim a uma propensão para a trombose, inflamação e disfunção endotelial. Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que os efeitos anti-inflamatórios das estatinas são parcialmente mediados pela indução de eNOS e aumento da síntese de NO no endotélio vascular.²⁰⁰ Este efeito colesterol independente das estatinas é ausente em camundongos com deficiência da enzima eNOS, sugerindo que Enos medeia os efeitos vasculares protetores das estatinas.²⁰¹ ONO é uma molécula anti-arteriosclerótica, que protege o endotélio da ativação por citocinas ou LDL oxidada.²⁰³

Estudos clínicos relatam que estatinas reduzem os valores da PCR de forma parcialmente independente da suas propriedades hipolipemiantes.^{198,199} As estatinas também melhoraram a rigidez arterial e diminuíram os valores plasmáticos da PCR em pacientes com hipercolesterolemia e lesões ateroscleróticas estáveis.²⁰⁴ Em pacientes com hipercolesterolemia e doença arterial coronariana angiograficamente significativas, a sinvastatina melhorou a resposta vasodilatadora de fluxo-

mediada por hiperemia e reduziu os valores plasmáticos de TNF- α , PCR, fibrinogênio e ICAM-1.²⁰⁵ A redução dos valores plasmáticos da PCR e de TNF- α foi mais exacerbada nos pacientes com os valores basais mais elevados. Doses elevadas de atorvastatina aumentaram o fluxo sanguíneo no antebraço em indivíduos com função vascular normal e diminuíram rapidamente os valores da PCR.²⁰⁶ A sua retirada foi associada com uma rápida deterioração na função endotelial, com uma diminuição da biodisponibilidade de NO e aumento da inflamação em estudos clínicos e experimentais.^{207,208}

Ensaio clínicos prévios demonstraram que a magnitude mais elevada dos valores da PCR, importante marcador inflamatório, pré e pós-ICP estiveram associados a pior prognóstico clínico, associando-se com maior ocorrência de eventos cardíacos adversos na evolução tardia após intervenção percutânea, incluindo o próprio fenômeno da reestenose, ainda que tal conceito não seja consensual.²⁰⁹ Lasave *et al.*, observaram haver relação direta entre a intensidade da proliferação de tecido neointimal (avaliada pelo ultrassom intracoronário) e a elevação dos valores da PCR, em pacientes submetidos à ICP.²¹⁰

Outros autores identificaram os valores da PCR como um biomarcador preditivo de reestenose pós-stent.²¹¹ Rittersma *et al.*, analisando 341 pacientes submetidos a implante de stents, concluíram que os valores elevados da PCR (pré e pós ICP) estiveram relacionados não só à reestenose, como também a taxas maiores de infarto do miocárdio no seguimento de 12 meses pós-ICP.²¹²

Desta forma, controlar a inflamação também pode influenciar positivamente o processo reparativo do dano vascular pós-ICP, justificando a presente investigação. Como observado com outras estatinas, a rosuvastatina também apresenta efeitos pleiotrópicos que incluem a melhora da função endotelial, a estabilidade da placa aterosclerótica, inibição das reações inflamatórias e trombogênicas e tem efeitos antioxidantes, promovendo neste estudo a redução de eventos clínicos adversos e o tempo de internação do paciente após a ICP.²¹³

7 Limitações

7 LIMITAÇÕES

Uma limitação deste estudo foi a ausência de um grupo em uso de estatina no momento da ICP para testarmos o efeito da rosuvastatina em pacientes sob tratamento com estatina.

Como não foram incluídos nesta investigação, pacientes com síndrome coronária aguda, aqueles com estenoses situadas em enxertos venosose com lesões-alvo de maior complexidade (reestenóticas, oclusões crônicas), as conclusões não devem ser extrapoladas para estas populações, ainda sem investigação específica.

Por fim, o tamanho amostral não nos permite emitir conclusões definitivas sobre o impacto clínico dos achados laboratoriais de nosso estudo.

8 Conclusões

8 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo clínico, prospectivo e randomizado, comparando o tratamento farmacológico com doses máximas de rosuvastatina, possibilitaram-nos concluir que:

1. O tratamento investigado reduz a reação inflamatória aguda, expressa pela IL-1, IL-6, PAI -1 e PCR com aumento da concentração de óxido nítrico;
2. Ocorreu infarto miocárdico periprocedimento (elevação maior de 3x de CK-MB massa) após ICP com maior frequência no Grupo Controle;
3. A taxa de reestenose binária e infarto miocárdico espontâneo foram maiores para Grupo Controle no seguimento de 12 meses ($p=0,058$);
4. Os grupos de pacientes que apresentaram eventos adversos em 12 meses tiveram maior elevação de IL-6;
5. A ocorrência de eventos cardíacos adversos maiores foi maior no Grupo Controle, na fase intra-hospitalar, o que resultou em maior tempo de internação;
6. Ocorreu redução da expressão gênica de TNF- α e concomitantemente da citocina TNF- α nos pacientes com infarto miocárdico periprocedimento, provavelmente por maior número de paciente do Grupo Controle;
7. Ocorreu elevação significativa dos valores de citocinas MCP-1 e TNF- α no Grupo Tratado, sem aumento significativo respectivo da expressão gênica, provavelmente por compensação da queda dos valores de IL-1, IL-6, PAI-1 e PCR;

8. Não houve diferença entre os valores de expressão gênica de MCP-1 e TNF- α entre os grupos.

8.1. Implicações clínicas

Em pacientes portadores de DAC estável e que não estejam em uso crônico de estatina, a administração de dose de ataque de rosuvastatina (40mg) imediatamente antes da intervenção coronariana percutânea com implante de stents reduz a resposta inflamatória aguda, o que pode minimizar a ocorrência de IAM periprocedimento, reestenose e outros eventos adversos cardiovasculares.

9 ANEXO A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DO ESTUDO: Efeito da dose elevada de ataque de Rosuvastatina nos valores séricos de marcadores inflamatórios na fase aguda da intervenção coronária percutânea com implante de stents metálicos

**CENTRO: INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA.
INVESTIGADOR: DR. JULIANO RASQUIN SLHESSARENKO**

NÚMERO DO PACIENTE:

INICIAIS DO PACIENTE:

OBJETIVO DESTE ESTUDO

Você está sendo convidado para participar deste estudo porque a ocorrência de liberação de micropartículas na circulação coronariana após a intervenção coronária percutânea constitui uma preocupação na cardiologia intervencionista. Os estudos clínicos têm demonstrados os benefícios das estatinas na prevenção de eventos indesejáveis nos pacientes submetidos à intervenção coronária percutânea. As informações obtidas destes estudos clínicos são importantes para melhorar o prognóstico e a prevenção dos eventos durante a intervenção coronária percutânea. As estatinas já são usadas há muitos anos e são eficazes no tratamento de redução do colesterol. O estudo é para enfatizar que o uso de estatina pré-intervenção visa à redução de eventos devido à liberação de micropartículas na circulação.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Caso você concorde em participar deste estudo, você receberá o mesmo cuidado que hoje é aplicada nesta instituição a todos os pacientes que serão submetidos à intervenção coronária percutânea. Os procedimentos de

anestesia, cateterismo cardíaco e angioplastia serão executados de acordo com a prática usual de seu médico. A sua participação será em dar consentimento para participar do sorteio com a possibilidade de usar ou não Rosuvastatina 2 a 6 horas antes do procedimento.

RISCOS E DESCONFORTO

O uso de Rosuvastatina poderá provocar em alguns pacientes um desconforto como cefaleia, diarreia ou dor abdominal.

BENEFÍCIOS POTENCIAIS

Você estará contribuindo para o aumento do conhecimento na comunidade médica sobre as melhores opções para intervenção coronária percutânea.

ALTERNATIVAS À PARTICIPAÇÃO

Caso você não queira participar deste estudo, você receberá o tratamento já utilizado de rotina nesta instituição.

CONFIDENCIALIDADE

Se você aceitar participar deste estudo, todos os seus registros médicos serão verificados pela equipe de pesquisa em busca de dados para o estudo.

Assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido você está dando permissão para que isso seja feito. Sua identidade será mantida em segredo quando os resultados do estudo forem publicados, pois, você está autorizando os seus dados a serem publicados em revistas, artigos e serem tema de debates e aulas. As informações coletadas durante o estudo serão armazenadas em um computador, mas seu nome não. A coleta e análise de dados de estudos médicos são considerados pessoais protegidas por leis internacionais e nacionais. Seu médico será informado de sua participação neste estudo.

NOVOS ACHADOS

Você será informado sobre quaisquer novos achados importantes que se tornarem disponíveis durante o estudo que possam influenciar seu desejo de continuar ou não a participar do estudo.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA E CONSENTIMENTO

Sua participação neste estudo é voluntária. Você pode se recusar a participar ou pode desistir, a qualquer momento durante o estudo, sem ter que dar explicações. Isso não mudará a qualidade de atendimento que você estará recebendo muito menos em qualquer tipo de penalidade. Você não será remunerado por sua participação neste estudo.

SOLICITAÇÃO DE INFORMAÇÕES ADICIONAIS

O investigador clínico, Dr. Juliano Rasquin Shessarenko tel. (65) 981635454 (a cobrar sem custo para você) irá responder todas as dúvidas que você possa ter sobre sua participação neste estudo. Em caso de dúvidas ou preocupações quanto aos seus direitos como participante deste estudo, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia no tel. 5085-6040. Uma cópia deste termo será entregue para você.

Li e compreendi este termo de consentimento e todas as minhas dúvidas foram resolvidas. Recebi explicações sobre o objetivo da pesquisa, os procedimentos de estudo a que serei submetido e os possíveis riscos e desconfortos e os benefícios que posso apresentar. As alternativas à minha participação neste estudo também foram discutidas. Portanto, concordo voluntariamente em fornecer meu consentimento para participar deste estudo clínico.

Assinatura do Paciente	Data	Hora
------------------------	------	------

Testemunha (se necessário)	Data	Hora
----------------------------	------	------

Assinatura do Investigador	Data	Hora
----------------------------	------	------

ANEXO B: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Comitê de Ética em Pesquisa

DATA DA ENTRADA: 28 de agosto de 2012.

DATA DA 1ª AVALIAÇÃO: 04 de setembro de 2012.

DATA DA AVALIAÇÃO FINAL: 18 de setembro de 2012.

CAAE: 07348212.9.0000.5462

Nº DO PROTOCOLO NO CEP: 4242

(este nº deverá citar nas correspondências referentes a este projeto)

Investigador Principal: Juliano Rasquin Shhessarenko

Orientador: Dr. Alexandre Antonio Cunha Abizaid

Nº de Sujeitos no Centro: 110

Nº Total de Sujeitos: 110

Área de Conhecimento: Ciências da Saúde

Área Temática Especial: Não se aplica

Unitermos: Rosuvastatina

Fase: Não se aplica

Duração do Estudo: 04 anos

Patrocinador: Não se aplica

Instituição Proponente: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

CEP: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

Projeto de Pesquisa Clínica/ Tese Doutorado: “Efeitos da Rosuvastatina sobre os mediadores da resposta inflamatória aguda IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β , MCP-1/ CCL-2, PAI-1, Proteína C Reativa e Óxido Nítrico após Implante Coronariano de Stent não farmacológico”.

Considerações/Comentários: O estudo tem como objetivo conhecer os efeitos da Rosuvastatina sobre a resposta inflamatória aguda após implante de stent não farmacológico em pacientes eletivos com clínica de angina estável e sua implicação sobre a ocorrência de eventos clínicos em nove meses posteriores ao procedimento.

CONTINUAÇÃO DO ANEXO B: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Comitê de Ética em Pesquisa

Ao se proceder à análise ao projeto em questão, considera-se que:

- a) O projeto preenche os requisitos fundamentais das resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Conselho Nacional de Saúde / Conselho Nacional de Ética em Pesquisa / Agência Nacional de Vigilância Sanitária e as Boas Práticas de Pesquisa Clínica do ICH-GCP.
- b) O Comitê de Ética em Pesquisa avaliou o Protocolo de Estudo e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.
- c) O Comitê de Ética em Pesquisa segue os preceitos das resoluções CNS 196/96, 251/97 e 292/99, sobre as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, do Conselho Nacional de Saúde / Conselho Nacional de Ética em Pesquisa / Agência Nacional de Vigilância Sanitária e as Boas Práticas de Pesquisa Clínica do ICH-GCP.

Diante do exposto, O Comitê de Ética em Pesquisa, manifesta-se pela:

- Protocolo de Pesquisa Clínica/ Tese Doutorado, Versão 2.0 de 2012 – Aprovado
- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, Versão 2.0 – Aprovado
- Carta resposta das pendências geradas na primeira avaliação – Aprovada
- Declarações do Pesquisador: Carta de submissão ao CEP; Declaração do Orientador/ Dr. Alexandre Abizaid; Declaração de Realização do Estudo/ Dr. Alexandre Abizaid; Declaração de Compromisso de Notificação de EAS ao CEP; Declaração de Confidencialidade; Lista de Centros Participantes; Termo de Compromisso do Investigador; Orçamento Financeiro Detalhado; Declaração de Manuseio de Material Biológico; Declaração sobre Currículo na Plataforma Lattes; Declaração de Recrutamento; Publicação dos Resultados

CONTINUAÇÃO DO ANEXO B: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
Comitê de Ética em Pesquisa

da Pesquisa; Declaração de Propriedade das Informações; Declaração de Responsabilidade, Direitos e Obrigações – Entregue

- Folha de Rosto – Entregue

O Comitê de Ética em Pesquisa solicita que:

- a. Informar imediatamente relatório sobre qualquer evento adverso ocorrido
- b. Comunicar qualquer alteração no projeto e no TCLE.
- c. Elaborar e apresentar ao CEP os relatórios parcial e final sobre a pesquisa.

Situação: Protocolo Avaliado e Aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa em Reunião Ordinária Realizada no dia 18 de setembro de 2012.

São Paulo, 18 de setembro de 2012.

Pedro Silvio Farsky
Coordenador CEP
CRM 55073

Dr. Pedro Silvio Farsky
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

CONTINUAÇÃO DO ANEXO B: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
 Coordenadoria de Serviços de Saúde
INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA
 Comitê de Ética em Pesquisa

MEMBROS DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – Mandato 2010 – 2013

Pedro Silvio Fanky	Médico/ Coordenador/ Presidente
Abílio Augusto Fragata Filho	Médico/ Vice-Coordenador
Antonio Flavio Sanchez de Almeida	Médico/ Membro
Carolina de Campos Gonzaga	Médica/ Membro
Célia Hiromi Shiotu	Enfermeira/ Membro
Cristiane Kovacs	Nutricionista/ Membro
Daniel Fomartiz Legendre	Engenheiro/ Membro
Gustavo Bernardes de Figueiredo Oliveira	Médico/ Membro
José de Ribamar Costa Junior	Médico/ Membro
Juliana Ribeiro Bruscino	Farmacêutica-Bioquímica/ Membro
Marco Aurélio Finger	Médico/ Membro
Otílio Gerardo Basilio (Representante do Usuário)	Presidente da Associação dos Transplantados Cardíacos – ATC - do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia/ Membro
Paola Emanuela Poggio Smanio	Médica/ Membro
Paula Lima	Bióloga/ Membro
Rika Miyahara Kobayashi	Enfermeira/ Membro
Raquel Oliveira Lima Lascane	Advogada/ Membro
Rudy Antonio Mildner	Sacerdote da Congregação do Sagrado Coração de Jesus/ Membro
Sônia Lima Medeiros	Assistente Social/ Membro

10 REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Azambuja MIR, Foppa M, Maranhão MFC, Achutti AC. Impacto econômico dos casos de doença cardiovascular grave no Brasil: uma estimativa baseada em dados secundários. *Arq Bras Cardiol.* 2008;91:163-7.
2. Wang H, Naghavi M, Allen C, Barber RM, Bhutta ZA, Carter A, Casey DC, *et al.* Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet.* 2016;2016;388(10053):1459-64.
3. Souza MDF, Alencar AP, Malta DC, Moura L, Mansur ADP. Análise de séries temporais da mortalidade por doenças isquêmicas do coração e cerebrovasculares, nas cinco regiões do Brasil, no período de 1981 a 2001. *Arq Bras Cardiol.* 2006;87:735-40.
4. Mansur ADP, Favarato D. Mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil e na região metropolitana de São Paulo: atualização 2011. *Arq Bras Cardiol.* 2012;99:755-61.
5. Writing Group M, Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2016;133(4):e38-360.
6. Mansur ADP, Favarato D. Trends in mortality rate from cardiovascular disease in Brazil, 1980-2012. *Arq Bras Cardiol.* 2016;107:20-5.
7. Malta DC, Moura LD, Prado RRD, Escalante JC, Schmidt MI, Duncan BB. Mortalidade por doenças crônicas não transmissíveis no Brasil e suas regiões, 2000 a 2011. *Epidemiol. Serv. Saúde.* 2014;23(4):599-608.
8. Teich V AD. Estimativa de custo da síndrome coronariana aguda no Brasil. *Rev Bras Cardiol.* 2011;24(2):85-94.

9. Grüentzig A. Transluminal dilatation of coronary artery stenosis. *Lancet*. 1978;1(8058):263.
10. Grüentzig A, Kumpe DA. Technique of percutaneous transluminal angioplasty with the Grüentzig balloon catheter. *AJR Am J Roentgenol*. 1979 Apr;132(4):547-52.
11. Wilcox JN, Okamoto EI, Nakahara KI, Vinten-Johansen J. Perivascular responses after angioplasty which may contribute to postangioplasty restenosis: a role for circulating myofibroblasts precursors. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;947:68-90.
12. Gibson CM, Karpaliotis D, Kosmidou I, Murphy SA, Kirtane AJ, Budiu D, *et al*. Comparison of effects of bare metal versus drug-eluting stent implantation on biomarker levels following percutaneous coronary intervention for non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Am J Cardiol*. 2006;97:1473-13.
13. Essed CE, Van den Brand M, Becker AE, Droste K. Transluminal coronary angioplasty and early restenosis: fibrocellular occlusion after wall laceration. *Br. Heart. J*. 1993;49:393-6.
14. Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP. For the stent restenosis study investigators. A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1994;331:496-501.
15. Feres F, Tanajura LF, Pinto IMF, Cano MN, Mattos LAP, Araújo EC, *et al*. Angioplastia coronária: eficácia dos novos cateteres-balão de baixo perfil. *Arq. Bras. Cardiol*. 1989;53: 307-11.
16. Dangas G, Cocke TP, Sharma SK, Vidhun RR, Kakarala V V, Marmur JD, Ambrose JA. Early changes in minimal luminal diameter after balloon angioplasty and directional coronary atherectomy. *J Invasive Cardiol*. 1998;10(7):372-75.

17. Mintz GS. Remodeling and restenosis: Observations from serial intravascular ultrasound studies. *Curr Interv Cardiol Rep.* 2000;2(4):316-25.
18. Reifart N, Vandormael M, Krsjcar M, Gohring S, Preusler W, Schawarz F, *et al.* Randomized comparison of angioplasty of complex coronary lesions at a single center. Excimer laser, rotational atherectomy, and balloon angioplasty comparison (ERBAC). *Circulation.* 1997; 96: 91-8.
19. Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, *et al.* A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med.* 1994; 331(8); 489-95.
20. Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, *et al.* A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. Stent Restenosis Study Investigators. *N Engl J Med.* 1994; 331(8):496-501.
21. Moreno R, Fernández C, Alfonso F, Hernández R, Pérez-Vizcayno MJ, Escaned J, *et al.* Coronary stenting versus balloon angioplasty in small vessels: a meta-analysis from 11 randomized studies. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43(11):1964-72.
22. Roubin GS, Cannon AD, Agrawal SK, Macander PJ, Dean LS, Baxley WA, *et al.* Intracoronary stenting for acute and threatened closure complicating percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Circulation.* 1992;85:916-27.
23. Sigwart U, Puel J, Mirkovitch V, Joffre F, Kappenberger L. Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. *N Engl J Med.* 1987;316(12):701-6.
24. Lee MS, Stone GW, Park SJ, Teirstein P, Moses J, Colombo A, *et al.* Percutaneous coronary intervention of unprotected left main coronary

artery disease: Procedural strategies and technical considerations. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2012;79(5): 812-22.

25. Costa MA, Sabate M, Kay IP, de Feyter PJ, Kozuma K, Serrano P, *et al.* Three-dimensional intravascular ultrasonic volumetric quantification of stent recoil and neointimal formation of two new generation tubular stents. *Am J Cardiol.* 2000;85(2):135-9.
26. Gordon PC, Gibson CM, Cohen DJ, Carrozza JP, Kuntz RE, Baim DS. Mechanisms of restenosis and redilation within coronary stents - quantitative angiographic assessment. *J Am Coll Cardiol.* 1993;21(5):1166-74.
27. Libby P, Schwartz D, Brogi E, Tanaka H, Clinton SK. A cascade model for restenosis. A special case of atherosclerosis progression. *Circulation.* 1992 Dec;86(6 Suppl):III47-52.
28. Welt FG, Rogers C. Inflammation and restenosis in the stent era. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 Nov 1;22(11):1769-76.
29. Li Q, Deng SB, Xia S, Du JL, She Q. Impact of intensive statin use on the level of inflammation and platelet activation in stable angina after percutaneous coronary intervention: a clinical study. *Med Clin (Barc).* 2013 Jun 18;140(12):532-6.
30. Dangas G, Petreson MA, Freed MS, Safian RD. Restenosis. In: The manual of interventional cardiology. *Royal Oak< Physician's Press*, p.439-66,2001.
31. King S.B. Radiation for restenosis: watchful waiting. *Circulation.*1999; 99:192-4.
32. Teirstein PS, Massullo V, Jani S, Popma JJ, Mintz GS, Russo RJ, *et al.* Catheter-based radiotherapy to inhibit restenosis after coronary stenting. *N Engl J Med.* 1997; 336(24):1697-703.
33. Waksman R, White RL, Chan RC, Bass BG, Geirlach L, Mintz GS,*et al.* Intracoronary gamma-radiation therapy after angioplasty inhibits

recurrence in patients with in-stent restenosis. *Circulation*. 2000; 101(18):2165-71.

34. Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Abizaid AS, Feres F, Pinto IM, *et al*. Lack of neointimal proliferation after implantation of sirolimus-coated stents in human coronary arteries: a quantitative coronary angiography and three-dimensional intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2001;103(2):192-5.
35. Cardoso CO, de Quadros AS, Mattos LA, Gottschall CA, Sarmento Leite RE, Marin Neto JÁ. Perfil de uso dos stents farmacológicos no Brasil: Dados da Central Nacional de Intervenções Cardiovasculares (CENIC). *Arq Bras Cardiol*. 2007; 89(6): 356-61.
36. Sousa AGMR. Evolução da penetração dos stents farmacológicos na América Latina segundo o registro SOLACI 2005-2007. Disponível em: www.solaci.org
37. Hojo Y, Ikeda U, Katsuki T, Mizuno O, Fukazawa H, Kurosaki K, *et al*. Interleukin-6 expression in coronary circulation after coronary angioplasty as a risk factor for restenosis. *Heart*. 2000;84:83-7.
38. Sardella G, Mariani P, D'Alessander M, De Luca L, Pierro M, Mancone M, *et al*. Early elevation of interleukin-1beta and interleukin-6 levels after bare or drug-eluting stent implantation in patients with stable angina. *Thromb Res*. 2006;117:659-64.
39. Schillinger M, Exner M, Mlekusch W, Haumer M, Ahmadi R, Rumpold H, *et al*. Balloon angioplasty and stent implantation induce a vascular inflammatory reaction. *J Endovasc Ther*. 2002;9:59-66.
40. Tsakiris DA, Tschöpl M, Jäger K, Haefeli WE, Wolf F, Marbet GA. Circulating cell adhesion molecules and endothelial markers before and after transluminal angioplasty in peripheral arterial occlusive disease. *Atherosclerosis*. 1999;142:193-200.

41. McDonald RA, Hata A, MacLean MR, Morrell NW, Baker AH. MicroRNA and vascular remodelling in acute vascular injury and pulmonary vascular remodelling. *Cardiovasc Res*. 2012;93:594-604.
42. Costa MA, Simon DI. Molecular basis of restenosis and drug eluting stents. *Circulation*. 2005;111:2257-73.
43. Von der Thüsen JH, Kuiper J, van Berkel TJ, Biessen EA. Interleukins in Atherosclerosis: Molecular Pathways and Therapeutic Potential. *Pharmacol Rev*. 2003;55:133-66.
44. Bendtzen K, Hansen MB, Diamant M, Ross C, Svenson M. Naturally occurring autoantibodies to interleukin-1 alpha, interleukin-6, interleukin-10 and interferon-alpha. *J Interferon Res*. 1994;14:157-8.
45. Akhabir L, Sandford A. Genetics of interleukin 1 receptor-like 1 in immune and inflammatory diseases. *Curr Genomics*. 2010 Dec;11(8):591-606.
46. Binder BR, Christ G, Gruber F, Grubic N, Hufnagl P, Krebs M, et al. Plasminogen activator inhibitor 1: physiological and pathophysiological roles. *News Physiol. Sci*. 2002;17:56-61.
47. Bendtzen K, Hansen MB, Ross C, Svenson M. High-avidity autoantibodies to cytokines. *Immunol Today*. 1998;19:209-11.
48. Buffon A, Liuzzo G, Biasucci LM, Pasqualetti P, Ramazzotti V, Rebuzzi AG, et al. Preprocedural serum levels of C-reactive protein predict early complications and late restenosis after coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*. 1999;34:1512-21.
49. Salgado Filho W, Martinez Filho EE, Horta P. Marcadores inflamatórios intracoronarianos após intervenções coronarianas percutâneas. *Arq Bras Cardiol*. 2005;85:180-5.
50. Schillinger M, Haumer M, Schlerka G, Mlekusch W. Restenosis after percutaneous transluminal angioplasty in patients with peripheral artery disease: the role of inflammation. *J Endovasc Ther*. 2001;8:477-83.

51. Ascer E, Bertolami MC, Venturinell ML, Buccheri V, Souza J, Nicolau JC, *et al.* Atorvastatin reduces pro-inflammatory markers in hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis*. 2004;177:161-6.
52. Doo YC, Han SJ, Han SW, Park WJ, Choi SH, Cho GY, *et al.* Effect of preexisting statin use on expression of C-reactive protein, adhesion molecules, interleukin-6, and antioxidized low-density lipoprotein antibody in patients with unstable angina undergoing coronary stenting. *Clin. Cardiol*. 2005;28;72-6.
53. Welt FG, Rogers C. Inflammation and restenosis in the stent era. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1769-76.
54. Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin- 1 family, *Annu. Rev. Immunol*. 2009;27:519-50.
55. Tamaru M, Tomura K, Sakamoto S, Tezuka K, Tamatani T, Narumi S. Interleukin-1b induces tissue-and cell type especific expression of adhesion molecules in vivo. *Arteriosclerosis Thrombosis Vasc. Biol*. 1998;18:1292-303.
56. Isoda K, Shiigai M, Ishigami N, Matsuki T, Horai R, Nishikawa K, *et al.* Deficiency of interleukin-1 receptor antagonist promotes neointimal formation after injury. *Circulation*. 2003;108:516-8.
57. Merhi-Soussi F, Kwak BR, Magne D, Chadjichristos C, Berti M, Pelli G, *et al.* Interleukin-1 plays a major role in vascular inflammation and atherosclerosis in male apolipoprotein e-knockout mice. *Cardiovasc. Res*. 2005;66:583-93.
58. Shimokawa H, Ito A, Fukumoto Y, Kadokami T, Nakaike R, Sakata M, *et al.* Chronic treatment with interleukin-1 beta induces coronary intimal lesions and vasospastic responses in pigs in vivo. The role of platelet-derived growth factor. *J. Clin. Investigation*. 1996;97:769-71.
59. Chamberlain J, Evans E, King A, Dewberry R, Dower S, Crossman D, *et al.* Interleukin-1b and signaling of interleukin-1 in vascular wall and

circulating cells modulates the extent of neointima formation in mice. *Am. J. Pathology*. 2006;168:1396-403.

60. Abbate A, Salloum FN, Vecile E, Das A, Hoke NN, Straino S, *et al*. Anakinra, a recombinant human interleukin-1 receptor antagonist, inhibits apoptosis in experimental acute myocardial infarction. *Circulation*. 2008;117: 2670-83.
61. Galea J, Armstrong J, Gadsdon P, Holden H, Francis SE, Holt CM. Interleukin-1b in coronary arteries of patients with ischemic heart disease. *Arteriosclerosis Thrombosis Vasc. Biol*. 1996;16:1000-6.
62. Biasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi G, Caligiuri G, Rebuzzi AG, Ginnetti F, *et al*. Increasing levels of interleukin (il)-1ra and il-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation*. 1999;99:2079-84.
63. Ziakas A, Gavrilidis S, Giannoglou G, Souliou E, Gemitzis K, Kalampalika D, *et al*. In-hospital and long-term prognostic value of fibrinogen, crp, and il-6 levels in patients with acute myocardial infarction treated with thrombolysis. *Angiology*. 2006;57:283-93.
64. Gao J, Liu Y, Cui RZ, Mao YM, Zhou J, Chen Q, *et al*. Relationship of interleukin-6-572c/g promoter polymorphism and serum levels to post-percutaneous coronary intervention restenosis. *Chin Med J*. 2013;126:1019-25.
65. Kefer JM, Galanti LM, Hanet CE. Time course of transcardiac interleukin-6 release after coronary stenting for stable angina. *Heart*. 2004;90:943-4.
66. Hwang SJ, Park KW, Kwon DA, Kang HJ, Koo BK, Chae IH, *et al*. High plasma interleukin-6 is associated with drug-eluting stent thrombosis. Possible role of inflammatory cytokines in the development of stent thrombosis from the Korea stent thrombosis Registry. *Circ J*. 2011;75:1350-7.

67. Doo YC, Han SJ, Han SW, Park WJ, Choi SH, Cho GY, *et al.* Effect of preexisting statin use on expression of C-reactive protein, adhesion molecules, interleukin-6, and antioxidized low-density lipoprotein antibody in patients with unstable angina undergoing coronary stenting. *Clin. Cardiol.* 2005;28:72-6 .
68. Qi X, Li S, Li J. The prognostic value of IL-8 for cardiac events and restenosis in patients with coronary heart diseases after percutaneous coronary intervention. *Jpn Heart J.* 2003 Sep;44:623-32.
69. Qi X, Peng Y, Li S. The predictive value of vWF and IL-8 for early complications in patients with percutaneous intervention. *Chinese Journal of Cardiology.* 2002; 3:33.
70. Gerszten RE, Garcia-Zepeda EA, Lim YC, Yoshida M, Ding HA, Gimbrone MA, *et al.* MCP-1 and IL-8 trigger firm adhesion of monocytes to vascular endothelium under flow conditions. *Nature.* 1999; 398:718-23.
71. Simonini A, Moscucci M, Muller DWM, Bates ER, Pagani FD, Burdick MD, *et al.* IL-8 is an angiogenic factor in human coronary atherectomy tissue. *Circulation.* 2000;101:1519-26.
72. Porreca E, Sergi R, Baccante G, Reale M, Orsini L, Febbo CD, *et al.* Peripheral blood mononuclear cell production of interleukin- 8 and IL-8-dependent neutrophil function in hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis.* 1999;146:345-50.
73. Zhou RH, Shi Q, Gao HQ, and Shen BJ. Changes in serum interleukin-8 and interleukin-12 levels in patients with ischemic heart disease in a Chinese population. *J Atheroscler Thromb.* 2001;8:30-2.
74. Qi X, Peng Y, Gu J, Li S, Zheng S, Zhang J, Wang T. Inflammatory cytokine release in patients with unstable angina after coronary angioplasty. *Jpn Heart J.* 2002;43:103-15.
75. Caixeta AM, Brito FS Jr, Costa MA, Serrano CV Jr, Petriz JL, Da Luz PL. Enhanced inflammatory response to coronary stenting marks the

development of clinically relevant restenosis. *Cardiovasc Interv.* 2007 Mar 1;69(4):500-7.

76. Gach O, Biémar C, Nys M, Deby-Dupont G, Chapelle JP, Deby C, *et al.* Early release of neutrophil markers of activation after direct stenting in patients with unstable angina. *Coron Artery Dis.* 2005 Feb;16(1):59-65.
77. Ruuls SR, Sedgwick JD. Unlinking tumor necrosis factor biology from the major histocompatibility complex: lessons from human genetics and animal models. *Am. J. Hum. Genet.* 1999;65:294-301.
78. Ito S, Iwaki S, Kondo R, Satoh M, Iwabuchi K, Ohkawa R, *et al.* Tnf- α production in nkt cell hybridoma is regulated by sphingosine-1-phosphate: Implications for inflammation in atherosclerosis. *Coron. Artery Dis.* 2014;25:311-20.
79. Wan S, De Smet JM, Barvais L, Goldstein M, Vincent JL, LeClerc JL. Myocardium is a major source of proinflammatory cytokines in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1996;112:806-11.
80. Gao X, Xu X, Belmadani S, Park Y, Tang Z, Feldman AM, *et al.* Tnf- α contributes to endothelial dysfunction by upregulating arginase in ischemia/reperfusion injury. *Arteriosclerosis Thrombosis Vasc. Biol.* 2007;27:1269-75.
81. Mackesy DZ, Goalstone ML. Extracellular signal-regulated kinase-5: novel mediator of insulin and tumor necrosis factor α -stimulated vascular cell adhesion molecule-1 expression in vascular cells - 5 α -1. *J. Diabetes.* 2014;6:595-602.
82. Wu K, Tian S, Zhou H, Wu Y. Statins protect human endothelial cells from tnf-induced inflammation via erk5 activation. *Biochem. Pharmacol.* 2013;85:1753-60.
83. Norata GD, Cattaneo P, Poletti A, Catapano AL. The androgen derivative 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol inhibits tumor necrosis

factor alpha and lipopolysaccharide induced inflammatory response in human endothelial cells and in mice aorta. *Atherosclerosis*. 2010;212:100-6.

84. Xanthoulea S, Thelen M, Pottgens C, Gijbels MJ, Lutgens E, Winther MP. Absence of p55 tnfr receptor reduces atherosclerosis, but has no major effect on angiotensin ii induced aneurysms in ldl receptor deficient mice. *PloS one*. 2009;4:6113-8.
85. Branen L, Hovgaard L, Nitulescu M, Bengtsson E, Nilsson J, Jovinge S. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha reduces atherosclerosis in apolipoprotein e knockout mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004;24:2137-42.
86. Ohta H, Wada H, Niwa T, Kirii H, Iwamoto N, Fujii H, *et al.* Disruption of tumor necrosis factor-alpha gene diminishes the development of atherosclerosis in apoe-deficient mice. *Atherosclerosis*. 2005;180:11-7.
87. Canault M, Peiretti F, Mueller C, Kopp F, Morange P, Rihs S, *et al.* Exclusive expression of transmembrane tnfralpha in mice reduces the inflammatory response in early lipid lesions of aortic sinus. *Atherosclerosis*. 2004;172:211-8.
88. Schreyer SA, Peschon JJ, LeBoeuf RC. Accelerated atherosclerosis in mice lacking tumor necrosis factor receptor. *J. biological Chem.* 1996;271:26174-8.
89. Gao X, Belmadani S, Picchi S, Xu X, Potter BJ, Tewari-Singh N, *et al.* Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in lepr(db) mice. *Circulation*. 2007;115:245-54.
90. Barath P, Fishbein MC, Cao J, Berenson J, Helfant RH, Forrester JS. Detection and localization of tumor necrosis factor in human atheroma. *Am. J. Cardiol.* 1990 Feb 1;65(5):297-302.

91. Tipping PG, Hancock WW. Production of tumor necrosis factor and interleukin-1 by macrophages from human atheromatous plaques. *Am. J. Pathology*. 1993;142:1721-8.
92. Baars T, Konorza T, Kahlert P, Mohlenkamp S, Erbel R, Heusch G, *et al*. Coronary aspirate tn timer alpha reflects saphenous vein bypass graft restenosis risk in diabetic patients. *Cardiovasc. Diabetol*. 2013;12.
93. Angel K, Provan SA, Fagerhol MK, Mowinckel P, Kvien TK, Atar D. Effect of 1-year anti-tnf-alpha therapy on aortic stiffness, carotid atherosclerosis, and calprotectin in inflammatory arthropathies: a controlled study. *Am. J. Hypertens*. 2012;25:644-50.
94. Bili A, Tang X, Pranesh S, Bozaite R, Morris SJ, Antohe JL, *et al*. Tumor necrosis factor alpha inhibitor use and decreased risk for incident coronary events in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res*. 2014;66:355-63.
95. Kozinski M, Krzewina-Kowalska A, Kubica J, Żbikowska-Gotz M, Dymek G, Piasecki R, *et al*. Percutaneous coronary intervention triggers a systemic inflammatory response in patients treated for in-stent restenosis-comparison with stable and unstable angina. *Inflamm Res*. 2005 May;54(5):187-93.
96. Khan R, Sheppard R. Fibrosis in heart disease: understanding the role of transforming growth factor-beta in cardiomyopathy, valvular disease and arrhythmia. *Immunology*. 2006;118:10–24.
97. Chung IM, Gold HK, Schwartz SM, Ikari Y, Reidy MA, Wight TN. Enhanced extracellular matrix accumulation in restenosis of coronary arteries after stent deployment. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40:2072-81.
98. Schulick AH, Taylor AJ, Zuo W, Qiu CB, Dong G, Woodward RN, *et al*. Overexpression of transforming growth factor beta1 in arterial endothelium causes hyperplasia, apoptosis, and cartilaginous metaplasia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:6983-8.

99. Nabel EG, Shum L, Pompili VJ, Yang ZY, San H, Shu HB, *et al.* Direct transfer of transforming growth factor beta 1 gene into arteries stimulates fibrocellular hyperplasia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:10759-63.
100. Majack RA. Beta-type transforming growth factor specifies organizational behavior in vascular smooth muscle cell cultures. *J Cell Biol*. 1987;105:465-71.
101. Amento EP, Ehsani N, Palmer H, Libby P. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb*. 1991;11:1223-30.
102. Smith JD, Bryant SR, Couper LL, Vary CP, Gotwals PJ, Kotliansky VE, *et al.* Soluble transforming growth factor-beta type II receptor inhibits negative remodeling, fibroblast transdifferentiation, and intimal lesion formation but not endothelial growth. *Circ Res*. 1999;84:1212-22.
103. Dong G, Schulick AH, DeYoung MB, Dichek DA. Identification of a cis-acting sequence in the human plasminogen activator inhibitor type-1 gene that mediates transforming growth factor-beta1 responsiveness in endothelium in vivo. *J Biol Chem*. 1996;271:29969-77.
104. Otsuka G, Agah R, Frutkin AD, Wight TN, Dichek DA. Transforming growth factor beta 1 induces neointima formation through plasminogen activator inhibitor-1-dependent pathways. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:737-43.
105. Majesky MW, Lindner V, Twardzik DR. Production of transforming growth factor- β 1 during repair of arterial injury. *J Clin Invest*. 1991;88:904-10.
106. Madri JA, Reidy MA, Kocher O, Bell L. Endothelial cell behavior after denudation injury is modulated by transforming growth factor beta1 and fibronectin. *Lab Invest*. 1989;60:755-65.

107. Kanzaki T, Tamura K, Takahashi K, Saito Y, Akikusa B, Oohashi H, *et al.* In vivo effect of TGF-beta 1. Enhanced intimal thickening by administration of TGF-beta 1 in rabbit arteries injured with a balloon catheter. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:1951-7.
108. Nikol S, Isner JM, Pickering G. Expression of transforming growth factor- β 1 is increased in human vascular restenosis lesions. *J Clin Invest.* 1992;90:1582-92.
109. Chung IM, Gold HK, Schwartz SM, Ikari Y, Reidy MA, Wight TN. Enhanced extracellular matrix accumulation in restenosis of coronary arteries after stent deployment. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:2072-81.
110. Yutani C, Ishibashi-Ueda H, Suzuki T, Kojima A. Histologic evidence of foreign body granulation tissue and de novo lesions in patients with coronary stent restenosis. *Cardiology.* 1999;92:171-7.
111. HM Sui, Wiman B. The role of His143 for the pH-dependent stability of plasminogen activator inhibitor-1, *Biochimica et Biophysica. BBA Protein Struct Mol Enzym.* 1999;1434(1):58-63.
112. Wiman B. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in plasma: its role in thrombotic disease. *J Thromb Haemost.* 1995;74(1):71-6.
113. Gando S, Nakanishi Y, Tede I. Cytokines and plasminogen activator inhibitor-1 in posttrauma disseminated intravascular coagulation: relationship to multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med.* 1995;23(1):1835-42.
114. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, Bonovas S, Kopterides P, Vaipopoulos G. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk. *Thromb. Res.* 2008;122(6):736-42.
115. Vaughan DE. PAI-1 and atherothrombosis. *J Thromb Haemost.* 2005;3(8):1879-83.
116. Agirbasli M. Pivotal role of plasminogen-activator inhibitor 1 in vascular disease. *Int. J. Clin. Pract.* 2005;59(1):102-6.

117. Agirbasli M, Eren M, Eren F, Murphy SB, Serdar ZA, Seckin D, *et al.* Enhanced functional stability of plasminogen activator inhibitor-1 in patients with livedoid vasculopathy. *J Thromb Thrombolysis*. 2011 Jul;32(1):59-63.
118. Pandolfi A, Cetrullo D, Polishuck R, Alberta MM, Calafiore A, Pellegrini G,*et al.* Plasminogen activator inhibitor type 1 is increased in the arterial wall of type II diabetic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Aug;21(8):1378-82.
119. Alessi MC, Juhan-Vague I. PAI-1 and the metabolic syndrome: links, causes, and consequences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006 Oct;26(10):2200-7. Epub 2006 Aug 24.
120. Hamsten A, de Faire U, Walldius G, Dahlén G, Szamosi A, Landou C, *et al.* Plasminogen activator inhibitor in plasma: risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet*. 1987;2(8549):3-9.
121. Hamsten A, Wiman B, de Faire U, Blomback M. Increased plasma levels of a rapid inhibitor of tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1985;313(25):1557-63.
122. Juhan-Vague I, Alessi MC, Joly P, Thirion X, Vague P, Declerck PJ,*et al.* Plasma plasminogen activator inhibitor-1 in angina pectoris. Influence of plasma insulin and acute-phase response. *Arteriosclerosis*. 1989;9(3):362-7.
123. SchneidermanJ, SawdeyMS, KeetonMR, BordinGM, BernsteinEF, DilleyRB,*et al.* Increased type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in atherosclerotic human arteries.*Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89(15):6998-7002.
124. Durand MK, Bodker JS, Christensen A, Dupont DM, Hansen M, Jensen JK,*et al.* Plasminogen activator inhibitor-1 and tumour growth, invasion, and metastasis. *Thromb Haemost*. 2004;91(3):438-49.

125. Lijnen HR. Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1. *J Thromb Haemost.* 2005;3(1):35-45.
126. Eren M, Painter CA, Atkinson JB, Declerck PJ, Vaughan E. Age-dependent spontaneous coronary arterial thrombosis in transgenic mice that express a stable form of human plasminogen activator inhibitor-1. *Circulation.* 2002;106(4):491-6.
127. Swiatkowska M, Pawlowska Z, Szemraj J, Drzewoski J, Watala C, Cierniewski CS. Cerivastatin, a HMG-CoA reductase inhibitor, reduces plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) expression in endothelial cells by down-regulation of cellular signaling and the inhibition of PAI-1 promoter activity. *J Pharmacol Sci.* 2002;90:337-44.
128. Parpugga TK, Tatarunas V, Skipskis V, Kupstyte N. The Effect of PAI-1 4G/5G Polymorphism and Clinical Factors on Coronary Artery Occlusion in Myocardial Infarction. *Heart.* 2006;92:377-81.
129. Collet JP, Montalescot G, Vicaut E. Acute Release of Plasminogen Activator Inhibitor-1 in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Predicts Mortality. *Circulation.* 2003;108:391-4. Epub 2007 Dec 25.
130. Katsaros KM, Speidl WS, Kastl SP, Zorn GJ, Huber K, Maurer G, *et al.* Plasminogen activator inhibitor-1 predicts coronary in-stent restenosis of drug-eluting stents. *J Thromb Haemost.* 2008 Mar;6(3):508-13.
131. Francisco G, Hernandez C, Sim R. Serum markers of vascular inflammation in dyslipidemia. *Clin Chim Acta.* 2006;369:1-16.
132. Berrahmoune H, Lamont JV, Herbeth B, Fitzgerald PS, Visvikis-Siest S. Biological determinants of and reference values for plasma interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1, epidermal growth factor, and vascular endothelial growth factor: results from the Stanislas Cohort. *Clin Chem.* 2006;52:504-10.
133. Horvath C, Welt FG, Nedelman M, Rao P, Rogers C. Targeting CCR2 or CD18 inhibits experimental in-stent restenosis in primates:

Inhibitory potential depends on type of injury and leukocytes targeted. *Circ Res.* 2002;90:488-94.

134. Schmidt AM, Stern DM. Chemokines on the rise: MCP-1 and restenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:297-9.
135. Welt FG, Tso C, Edelman ER, Kjelsberg MA, Paolini JF, Seifert P, *et al.* Leukocyte recruitment and expression of chemokines following different forms of vascular injury. *Vasc Med.* 2003;8:1-7.
136. Cipollone F, Marini M, Fazia M, Pini B, Iezzi A, Reale M, *et al.* Elevated circulating levels of monocyte chemoattractant protein-1 in patients with restenosis after coronary angioplasty. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:327-34.
137. Young B, Gleeson M, Cripps AW. C-reactive protein: a critical review. *Pathology.* 1991;23:118-24.
138. Kuller LH, Tracy RP, Shaten J, Meilahn EN. Relation of C-reactive protein and coronary heart disease in the MRFIT nested case-control study. *Am J Epidemiol.* 1996;144:537-47.
139. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ.* 1996;312:1061-5.
140. Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE, Fröhlich M, Koenig W, Waltenberger J, *et al.* C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:1386-92.
141. Devaraj S, Rogers J, Jialal I. Statins and biomarkers of inflammation. *Curr Atheroscler Rep.* 2007;9:33-41.
142. Li JJ, Fang CH. C-reactive protein is not only an inflammatory marker but also a direct cause of cardiovascular disease. *Med Hypotheses.* 2004;62:499-506.

143. Gaspardone A, Crea F, Versaci F, Tomai F, Pellegrino A, Chiariello L, *et al.* Predictive value of C-reactive protein after successful coronary-artery stenting in patients with stable angina. *Am J Cardiol.* 1998;82:515-8.
144. Li JJ, Ren Y, Chen KJ, Yeung AC, Xu B, Ruan XM, *et al.* Impact of C-reactive protein on in-stent restenosis: a meta-analysis. *Tex Heart Inst J.* 2010;37:49-57.
145. Iliodromitis EK, Kyrzopoulos S, Paraskevaidis IA, Kolocassides KG, Adamopoulos S, Karavolias G, *et al.* Increased C reactive protein and cardiac enzyme levels after coronary stent implantation. Is there protection by remote ischaemic preconditioning? *Heart.* 2006;92:1821-6.
146. Lefroy DC, Crake T, Uren NG, Davies GJ, Maseri A. Effects of inhibition of nitric oxide synthesis on epicardial coronary artery caliber and coronary blood flow in humans. *Circulation.* 1993;88:43-54.
147. Yao SK, Ober JC, Krishnaswami A, Ferguson JJ, Anderson HV, Golino P, *et al.* Endogenous nitric oxide protects against platelet aggregation and cyclic flow variations in stenosed and endothelium-injured arteries. *Circulation.* 1992;86:1302-9.
148. de Graaf JC, Banga JD, Moncada S, Palmer RM, de Groot PG, Sixma JJ. Nitric oxide functions as an inhibitor of platelet adhesion under flow conditions. *Circulation.* 1992;85:2284-90.
149. Koh KK, Ahn JY, Jin DK, Han SH, Kim HS, Choi IS, Ahn TH, Shin EK, Jeong EM. Comparative effects of statin and fibrate on nitric oxide bioactivity and matrix metalloproteinase in hyperlipidemia. *Int J Cardiol.* 2004 Nov;97:239-44.
150. Lloyd-Jones DM, Bloch KD. The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis. *Annu Rev Med.* 1996;47:365-75.
151. Villegas-Rivera G, Román-Pintos LM, Cardona-Muñoz EG, Arias-Carvajal O, Rodríguez-Carrizalez AD, Troyo-Sanromán R, *et al.*

Effects of ezetimibe/simvastatin and rosuvastatin on oxidative stress in diabetic neuropathy: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:756294. Epub 2015 Jul 28.

152. Ignarro LJ. Biosynthesis and metabolism of endothelium derived nitric oxide. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1990;30:535-60.
153. Oemar BS, Tschudi MR, Godoy N, Brovkovich V, Malinski T, Lüscher TF. Reduced endothelial nitric oxide synthase expression and production in human atherosclerosis. *Circulation*. 1998;97:2494-8.
154. Nava E, Noll G, Lüscher TF. Nitric oxide in cardiovascular diseases. *Ann Med*. 1995;27:343-51.
155. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991;43:109-42.
156. Szocs K, Lassegue B, Sorescu D. Upregulation of Nox-based NAD (P) H oxidases in restenosis after carotid injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:21–7.
157. Kochiadakis GE, Arfanakis DA, Marketou ME, Skolidis EI, Igoumenidis NE, Nikitovic D, *et al*. Oxidative stress changes after stent implantation: a randomized comparative study of sirolimus-eluting and bare metal stents. *Int J Cardiol*. 2009;142:33-7.
158. Mashimo Y, Ishikawa T, Numakura M, Kinoshita M, Teramoto T. Critical promoter region for statin-induced endothelial nitric oxide synthase (eNOS) Transcription in EA.hy926 cells. *J Atheroscler Thromb*. 2013;20(4):321-9. Epub 2012 Dec 18.
159. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with sinvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2002;360:7-22.
160. Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington PN, Hitman GA, Neil HA, Livingstone SJ, *et al*. Primary prevention of cardiovascular

disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicenter randomized placebo-controlled trial. *Lancet*. 2004;364:685-96.

161. Koren MJ, Hunninghake DB; ALLIANCE Investigators. Clinical outcomes in managed-care patients with coronary heart disease treated aggressively in lipid-lowering disease management clinics: the ALLIANCE study. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:72-9.
162. Durrington PN. Hyperlipidemia: diagnosis and management. 3rd edition. Hodder Arnold, London; 2007.
163. White CM. A review of the pharmacologic and pharmacokinetic aspects of rosuvastatin. *J Clin Pharmacol*. 2002;42:963-70.
164. AstraZeneca Pharmaceuticals LP. Crestor (rosuvastatin calcium) prescribing information. Wilmington: DE; 2003.
165. Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-Co A reductase. *Science*. 2001;11:1160-4.
166. Greque GV, Serrano CV Jr, Strunz CM, Soeiro A, Santos M, Pivatelli F, *et al*. Preprocedural statin therapy, inflammation and myocardial injury in low-risk stable coronary artery disease patients submitted to coronary stent implantation. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2013; 140(12):532-6.
167. Davidson MH, MAPTS, Stein E. Rosuvastatin is superior to atorvastatin in decreasing low density lipoprotein cholesterol and increasing high-density lipoprotein cholesterol in patients with type IIa or IIb hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37:292.
168. Grosser N, Erdmann K, Hemmerle A, Berndt G, Hinkelmann U, Smith G, *et al*. Rosuvastatin upregulates the antioxidant defense protein heme oxygenase-1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;325:871-6.
169. Martin PD, Warwick MJ, Dane AL, Hill SJ, Giles PB, Phillips PJ, *et al*. Metabolism, excretion, and pharmacokinetics of rosuvastatin in healthy adult male volunteers. *Clin Ther*. 2003;25:2822-35.

170. Mayer C, Gruber HJ, Landl EM, Pailer S, Scharnagl H, Truschnig-Wilders M, *et al.* Rosuvastatin reduces interleukin-6-induced expression of C-reactive protein in human hepatocytes in a STAT3- and C/EBP-dependent fashion. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2007;45:319-27.
171. Laumen H, Skurk T, Hauner H. The HMG-CoA reductase inhibitor rosuvastatin inhibits plasminogen activator inhibitor-1 expression and secretion in human adipocytes. *Atherosclerosis.* 2008;196:565-73.
172. Martin PD, Warwick MJ, Dane AL, Hill SJ, Giles PB, Phillips PJ, *et al.* Metabolism, excretion, and pharmacokinetics of rosuvastatin in healthy adult male volunteers. *Clin Ther.* 2003;25(11):2822-35.
173. Soran AD, Martin PD, Warwick MJ, Dane AL, Hill SJ, Giles PB, *et al.* Metabolism, excretion, and pharmacokinetics of rosuvastatin in healthy adult male volunteers. *Clin Ther.* 2003;25(11):2822-35.
174. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, *et al.* JUPITER Study Group. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med.* 2008;359(21):2195-2207.
175. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein, *et al.* JUPITER Trial Study Group. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet.* 2009;373(9670):1175-82.
176. Takayama T, Hiro T, Yamagishi M, Daida H, Hirayama A, Saito S, *et al.* COSMOS Investigators. Effect of rosuvastatin on coronary atheroma in stable coronary artery disease: multicenter coronary atherosclerosis study measuring effects of rosuvastatin using intravascular ultrasound in Japanese subjects (COSMOS). *Circulation.* 2009;73(11):2110-17.

177. Alsheikh-Ali A, Ambrose MS, Kuvin JT, Karas RH. The safety of rosuvastatin as used in common clinical practice: a postmarketing analysis. *Circulation*. 2005;111(23):3051-7.
178. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein, *et al*. JUPITER Trial Study Group. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Circulation*. 2009;2:279-85.
179. Hippisley-Cox J, Coupland C. Unintended effects of statins in men and women in England and Wales: population based cohort study using the Q Research database. *BMJ*. 2010;340:c2197.
180. Schutte AE, Symington EA, du Preez JL. Rosuvastatin is transferred into human breast milk: a case report. *Am J Med*. 2013;126:e7-8.
181. Schuster H. Rosuvastatin - a highly effective new 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor: review of clinical trial data at 10-40 mg doses in dyslipidemic patients. *Cardiology*. 2003;99(3):126-39.
182. McCormick AD, McKillop D, Butters CJ. ZD452: an HMG-CoA reductase inhibitor free of metabolically mediated drug interactions: metabolic studies in human in vitro systems. *J Clin Pharmacol*. 2000;40(9):1055.
183. Kostapanos MS, Milionis HJ, Elisaf MS. Rosuvastatin-associated adverse effects and drug-drug interactions in the clinical setting of dyslipidemia. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2010;10(1):11-28.
184. Barry M. Rosuvastatin-warfarin drug interaction [comment]. *Lancet*. 2004;363:328.
185. Simonson SG, Martin PD, Mitchell PD, Lasseter K, Gibson G, Schneck DW. Effect of rosuvastatin on warfarin pharmacodynamics and pharmacokinetics. *J Clin Pharmacol*. 2005;45(8):927-34.

186. Rosenson RS. Rosuvastatin: a new inhibitor of HMG-coA reductase for the treatment of dyslipidemia. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2003;1(4):495-505.
187. Cooper KJ, Martin PD, Dane AL, Warwick MJ, Raza A, Schneck DW. The effect of erythromycin on the pharmacokinetics of rosuvastatin. *Eur J Clin Pharmacol.* 2003;59(1):51-6.
188. Cooper KJ, Martin PD, Dane AL, Warwick MJ, Raza A, Schneck DW. Lack of effect of ketoconazole on the pharmacokinetics of rosuvastatin in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol.* 2003;55(1):94-9.
189. Van de Steeg E, Greupink R, Schreurs M, Nooijen IH, Verhoeckx KC, Hanemaaijer R, *et al.* Drug-drug interactions between rosuvastatin and oral antidiabetic drugs occurring at the level of OATP1B1. *Drug Metab Dispos.* 2013;41(3):592-601.
190. King SB, Smith SCJr, Hirshfeld JW Jr, Jacobs AK, Morrison DA, Williams DO, *et al.* 2007 Focused Update of the ACC/AHA/SCAI2005 Guideline Update for Percutaneous Coronary Intervention: are port of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: 2007 Writing Group to Review New Evidence and Update the ACC/AHA/SCAI 2005 Guideline Update for Percutaneous Coronary Intervention. *Circulation.* 2008;117(2):261-95.
191. Ferro D, Parrotto S, Basili S, Alessandri C, Violi F. Simvastatin inhibits the monocyte expression of proinflammatory cytokines in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:427–431.
192. Sukhova GK, Williams JK, Libby P. Statins reduce inflammation in atheroma of nonhuman primates independent of effects on serum cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:1252–58.
193. Korybalska K, Kawka E, Breborowicz A, Witowski J. Atorvastatin does not impair endothelial cell wound healing in an in vitro model of vascular injury. *J Physiol Pharmacol.* 2012 Aug;63:389-95.

194. Yun KH, Jeong MH, Oh SK, Rhee SJ, Park EM, Lee EM, *et al.* The beneficial effect of high loading dose of rosuvastatin before percutaneous coronary intervention in patients with acute coronary syndrome. *Int J Cardiol.* 2009;137(3):246-51.
195. Cay S, Cagirci G, Sem N, Balbay Y, Durmaz T, Aydogdu S. Prevention of peri-procedural myocardial injury using a single high loading dose of rosuvastatin. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2010;24(1):41-7.
196. Sardella G, Conti G, Donahue M, Mancone M, Canali E, De Carlo C, *et al.* Rosuvastatin pre treatment in patients undergoing elective PCI to reduce the incidence of myocardial periprocedural necrosis: the ROMA trial. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2013;81(1):E36-43.
197. Sardella G, Lucisano L, Mancone M, Conti G, Calcagno S, Stio RE, *et al.* Comparison of high reloading ROsuvastatin and Atorvastatin pretreatment in patients undergoing elective PCI to reduce the incidence of Myocardial periprocedural necrosis. *Int J Cardiol.* 2013;168(4):3715-20.
198. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular risk: rationale for screening and primary prevention. *Am J Cardiol.* 2003; 92:17K–22K.
199. Nawawi H, Osman NS, Yusoff K, Khalid BA. Reduction in serum levels of adhesion molecules, interleukin-6 and C-reactive protein following short-term low-dose atorvastatin treatment in patients with non-familial hypercholesterolemia. *Horm Metab Res.* 2003 Aug;35(8):479-85.
200. Scalia R, Gooszen ME, Jones SP, Hoffmeyer M, Rimmer DM, Trocha SD, *et al.* Simvastatin exerts both antiinflammatory and cardioprotective effects in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation.* 2001 May 29;103(21):2598-603.
201. Stalker TJ, Lefer AM, Scalia R. A new HMG-CoA reductase inhibitor, rosuvastatin, exerts anti-inflammatory effects on the microvascular endothelium: the role of mevalonic acid. *Br J Pharmacol.* 2001 Jun;133(3):406-12.

202. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF Jr, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Oct 1;42(7):1149-60.
203. Marui N, Offermann MK, Swerlick R, Kunsch C, Rosen CA, Ahmad M, *et al*. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest*. 1993 Oct;92(4):1866-74.
204. Pérez-Guerrero C, Alvarez de Sotomayor M, Jimenez L, Herrera MD, Marhuenda E. Effects of simvastatin on endothelial function after chronic inhibition of nitric oxide synthase by L-NAME. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2003 Aug;42(2):204-10.
205. Matsuo T, Iwade K, Hirata N, Yamashita M, Ikegami H, Tanaka N. Improvement of arterial stiffness by the antioxidant and anti-inflammatory effects of short-term statin therapy in patients with hypercholesterolemia. *Heart Vessels*. 2005; 20:8-12.
206. Koh KK, Ahn JY, Choi YM, Seung HD, Dae SK, Hyung SK, *et al*. Vascular effects of step I diet in hypercholesterolemic patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 92:708-10.
207. Laufs U, Wassmann S, Hilgers S, Ribaudo N, Böhm M, Nickenig G. Rapid effects on vascular function after initiation and with drawal of atorvastatin in healthy, normocholesterolemic men. *Am J Cardiol*. 2001; 88:1306-7.
208. Thomas M, Mann J. Increased thrombotic vascular events after change of statin. *Lancet*. 1998;352:1830-1.
209. Dibra A, Mehilli J, Braun S, Hadamitzky M, Baum H, Dirschinger J, *et al*. Association between C-reactive protein levels and subsequent cardiac events among patients with stable angina treated with coronary artery stenting. *Am J Med*. 2003;114(9):715-22.

210. Lasave LI, Abizaid AA, Paiva J, Costa Jr JR, Feres F, *et al.* Relationship between plasma C-reactive protein level and neointimal hyperplasia volume in patients with zotarolimus-eluting stents. Volumetric analysis by three-dimensional intracoronary ultrasound. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60(9):923-31.
211. Caixeta AM, Brito FS Jr, Costa MA, Serrano CV Jr, Petriz JL, Da Luz PL. Enhanced inflammatory response to coronary stenting marks the development of clinically relevant restenosis. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2007;69(4):500-7.
212. Rittersma SZ, de Winter RJ, Koch KT, Schotborgh CE, Bax M, Heyde GS, *et al.* Preprocedural C-reactive protein is not associated with angiographic restenosis or target lesion revascularization after coronary artery stent placement. *Clin Chem.* 2004;50(9):1589-96.
213. Ridker PM. JUPITER Study Group. Rosuvastatin in the primary prevention of cardiovascular disease among patients with low levels of low-density lipoprotein cholesterol and elevated high-sensitivity C-reactive protein: rationale and design of the JUPITER trial. *Circulation.* 2003;108(19):2292-7.
214. Vranckx P, Kint PP, Morel MA, Van Es GA, Serruys PW, Cutlip DE. Identifying stent thrombosis, a critical appraisal of the academic research consortium (ARC) consensus definitions: a lighthouse and as a toe in the water. *EuroIntervention.* 2006 Aug;4 Suppl C:C39-44.
215. Kristian Thygesen, Joseph S. Alpert and Harvey D. White *et al.* Universal definition of myocardial infarction *European Heart Journal* (2007) 28, 2525–2538.
216. Abdelmeguid AE, Topol EJ, Whitlow PL, Sapp SK, Ellis SG. Significance of mild transient release of creatine-kinase MB fraction after percutaneous coronary interventions. *Circulation.* 1996;94(7):1528-36.
217. Abbas AK, Lichtman AH. *Imunologia celular e molecular.* São Paulo: Elsevier; 2015.