ANA CLÁUDIA GOMES PEREIRA PETISCO

**Prevalência da aterosclerose subclínica em mulheres na
pós-menopausa com risco cardiovascular baixo e intermediário
estimado pelo escore de Framingham**

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

Programa de Medicina, Tecnologia e
Intervenção em Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Jorge Eduardo Assef

**São Paulo
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Preparada pela Biblioteca do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

©reprodução autorizada pelo autor

Petisco, Ana Cláudia Gomes Pereira

Prevalência da aterosclerose subclínica em mulheres na pós-menopausa com risco cardiovascular baixo e intermediário estimado pelo Escore de Framingham / Ana Cláudia Gomes Pereira Petisco.-- São Paulo, 2014.

Tese (doutorado)--Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia
Universidade de São Paulo
Área de Concentração: Medicina, Tecnologia e Intervenção em
Cardiologia
Orientador: Prof. Dr. Jorge Eduardo Assef

Descritores: 1. Aterosclerose. 2. Menopausa. 3. Doenças
Cardiovasculares. 4. Risco. 5. Diagnóstico por Imagem.

USP/IDPC/Biblioteca/032/14

Ao Gustavo, meu esposo, companheiro de todas as horas, ponto de equilíbrio e amor, sua paciência, carinho e compreensão permitiram que eu pudesse concluir esta jornada.

Aos meus filhos, Bruno e Vitor, que iluminam a minha vida, sou feliz pelo simples fato de ser mãe.

Aos meus pais Laênio e Maria Augusta, que me deram a base da dignidade e da perseverança. Acreditaram em mim e, com muito amor, esforço e dedicação, abriram as portas para que eu pudesse alcançar meus ideais.

À minha sogra, Sra. Cecília, que sempre esteve pronta a me ajudar. Aqui em São Paulo tornou-se minha outra mãe. Ao meu sogro, Sr. Edegar (*in memoriam*), cujo exemplo de bondade e retidão levarei sempre comigo.

AGRADECIMENTOS

Às pacientes que, voluntariamente, participaram deste Projeto, permitindo seu desenvolvimento, pela confiança e credibilidade, meu sincero agradecimento.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jorge Eduardo Assef, com seu entusiasmo e sua dedicação, acompanhou todas as etapas desta tese. Ao longo desse tempo, foi meu chefe, mestre e amigo. Detentor de um grande conhecimento científico, sempre transmitiu, com clareza, objetividade e seriedade, os valores fundamentais que me nortearam desde a residência em ecocardiografia até o doutorado.

Aos colegas da turma do doutorado, Dra. Andrea de Andrade Villela, Dra. Adriana Bertolami, Dra. Carolina Gonzaga, Dra. Sílvia Cano, Dr. Roberto Candia e Dr. Kleber Bomfim, pelos momentos de alegria e pela descontração, dos quais já sinto saudades.

Ao Dr. Rodrigo Bellio de Mattos Barretto, meu chefe na Seção de Ecocardiografia, pela amizade e apoio incondicional durante toda esta jornada.

Aos amigos da Ecografia Vascular, Dr. Mohamed Hassan Saleh e Dr. José Eduardo M. Barbosa, que estiveram ao meu lado e me ajudaram em todos os momentos que precisei para que eu pudesse me dedicar ao desenvolvimento da tese.

Ao Dr. Carlos Alberto de Jesus, companheiro de trabalho e de aprendizado científico, pelas agradáveis discussões e pela disponibilidade na realização da variabilidade interobservador.

Ao Dr. David da Costa Le Bihan, pela amizade e pelo incentivo, e a todos os médicos da Seção de Ecocardiografia: Simone Rolim Fernandes Pedra, Mercedes Maldonado, Juliana Chen, Patrik Metzger, Camila Baumann, Marcela Dourado, Andrea Vilela, Walter Antonio Melchior, Luciana Camilotti, Luciana Menezes, Leonardo Toledo, Lucas Arraes, Renata Perazzo, Daniela Kreuzig, Líria Maria Lima, Marcela Paganelli, Daniel Petlik, Bernardo Leão, Vanessa Canuto e Dra. Vera Márcia Gimenez, que dividem comigo, no dia a dia, a satisfação de atuar com o coração.

À Marta Kimura, pela alegria e ajuda de sempre, a Rosângela Armando, a José Luiz da Silva, a Elaine Cristina Rosa e a Elza Angélica Prata, que recepcionaram as pacientes da tese e nos recepcionam todos os dias.

Ao Dr. Álvaro Avezum, pelo precioso aconselhamento científico, muitos conceitos que discutimos ainda ecoam na minha memória.

Ao João Ítalo Dias França, estatístico do Laboratório de Epidemiologia e Estatística do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, além de realizar as análises, sempre esteve pronto a colaborar com boas ideias.

Ao Prof. Mário Hirata e a toda equipe do Laboratório de Investigação Molecular em Cardiologia (LIMC), em especial, à Adriana Garofalo, ao Thiago Dominguez Hirata, à Paula Helena Lima e a Hui-Tzu Lin Wang, que me ajudaram em várias etapas desta tese, mas, principalmente, com quem pude conhecer esse belo campo que é a Biologia Molecular.

À Profa. Rosario Domingues Crespo Hirata, que, gentilmente, reviu os resultados da expressão gênica.

A todos os funcionários da Seção de Tomografia que realizaram os exames, ao Dr. Maximilian Gospos, pela disponibilidade em analisá-los, e ao Dr. Ibraim Masciarelli F. Pinto, sempre disponível a esclarecer minhas dúvidas.

Ao Dr. André Faludi, Dr. Marcelo Bertolami e Dr. Daniel Branco de Araujo, aos quais tantas vezes recorri para discutir e aprender sobre o vasto assunto que é a estratificação de risco cardiovascular.

À nossa bibliotecária, Anna Simene Souza Leite, que ajudou a adequar as referências deste trabalho.

À PROAP, pelo apoio ao projeto, permitindo a realização das expressões gênicas.

*“É graça divina começar bem. Graça maior
persistir na caminhada. Mas a graça das
graças é não desistir nunca.”*

Dom Helder Câmara

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

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. Serviço de Biblioteca e Documentação.

Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3. ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação – SBD/FMUSP; 2011.

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

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1 INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Aterosclerose, estrógenos e função endotelial	4
1.2 Aterosclerose, inflamação e síndrome metabólica.....	7
1.3 Aterosclerose e doença cardiovascular	9
1.4 Estratificação de risco cardiovascular	10
1.5 Pesquisa da aterosclerose subclínica:.....	14
1.5.1 Avaliação da espessura mediointimal (EMI) e pesquisa de placas nas artérias carótidas.....	15
1.5.2 Avaliação da rigidez arterial	19
1.5.3 Avaliação do escore de cálcio nas artérias coronárias (CAC) e da presença de calcificação na aorta (CA) ascendente e/ou descendente	21
1.6 Avaliação da espessura mediointimal e detecção de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita	23
1.7 Justificativa	24
2 OBJETIVOS	26
2.1 Primário.....	26
2.2 Secundários	26
3 MÉTODOS.....	28
3.1 Delineamento do estudo	28
3.1.1 Fluxograma da seleção e realização dos exames das pacientes	28
3.2 Critérios de inclusão e exclusão	29
3.3 Avaliação clínica	30
3.3.1 Tabagismo	30
3.3.2 Ingestão de bebida alcoólica.....	30
3.3.3 Estresse psicológico	31

3.3.4 Peso, altura e índice de massa corporal (IMC)	31
3.3.5 Tempo de pós-menopausa e idade na menopausa	31
3.3.6 História Familiar de DAC e DAC precoce	31
3.3.7 Dislipidemia.....	32
3.3.8 Avaliação da pressão arterial (PA).....	32
3.3.9 Avaliação da circunferência da cintura e do quadril	32
3.3.10 Síndrome metabólica na mulher	33
3.3.11 Resistência à insulina (RI)	33
3.3.12 Cálculo do risco cardiovascular	33
3.4 Exames laboratoriais	34
3.5 Análise da expressão gênica	35
3.5.1 Extração e quantificação de RNA	35
3.5.2 Análise de expressão gênica por PCR em tempo real.....	35
3.6 Ultrassom vascular	37
3.6.1 Ultrassom de carótidas e da artéria subclávia direita.....	37
3.6.2 Avaliação da rigidez arterial	39
3.7 Avaliação do Escore de Cálcio Coronário e presença de calcificação na aorta ascendente e/ou descendente pela Tomografia.....	41
3.8 Avaliação da aterosclerose subclínica	42
3.9 Análise estatística	43
3.9.1 Cálculo do tamanho da amostra	43
3.9.2 Análises estatísticas	44
3.10 Aspectos éticos.....	45
3.10.1 Termo de consentimento.	45
3.10.2 Condições de segurança	46
4 RESULTADOS	48
4.1 Características clínicas e laboratoriais.....	48
4.2 Avaliação da aterosclerose subclínica	52
4.2.1 Prevalência e distribuição da aterosclerose subclínica	52
4.2.2 Marcadores relacionados à presença de aterosclerose subclínica	54
4.2.3 Determinantes da presença de aterosclerose subclínica pela regressão logística.....	57
4.3 Detecção da aterosclerose subclínica pelos exames de imagem	57
4.3.1 Avaliação do escore de Cálcio Arterial Coronário (CAC)	57

4.3.1.1 Marcadores da presença de CAC > 0	57
4.3.1.2 Correlação do CAC com os dados clínicos e laboratoriais	58
4.3.1.3 Determinantes da presença de CAC > 0 pela regressão logística.....	59
4.3.2 Avaliação da espessura mediointimal (EMI) carotídea	60
4.3.2.1 Marcadores da EMI carotídea aumentada	60
4.3.2.2 Correlação da EMI carotídea com dados clínicos e laboratoriais	60
4.3.2.3 Determinantes da EMI carotídea aumentada pela regressão logística.....	61
4.3.3 Avaliação da presença de placas nas artérias carótidas	62
4.3.3.1 Determinantes da presença de placas nas artérias carótidas pela regressão logística	63
4.3.4 Avaliação da aterosclerose carotídea (presença de EMI aumentada e/ou placa aterosclerótica)	63
4.3.4.1 Determinantes da presença de aterosclerose carotídea pela regressão logística	64
4.3.5 Avaliação da rigidez arterial pela VOP.....	64
4.3.5.1 Marcadores da presença de VOP > 9,2 m/s	64
4.3.5.2 Correlação entre os valores da VOP com os dados clínicos e laboratoriais	65
4.3.5.3 Determinantes da presença de VOP > 9,2 m/s pela regressão logística.....	66
4.3.6 Avaliação da presença de calcificação na aorta (CA)	67
4.3.6.1 Determinantes da presença de calcificação na aorta (CA) ascendente e/ou descendente pela regressão logística	68
4.4 Avaliação da artéria subclávia direita.....	68
4.4.1 Avaliação da EMI na artéria subclávia direita	69
4.4.2 Marcadores da presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita	69
4.4.2.1 Determinantes da presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita pela regressão logística	70
4.5 Relação entre os métodos de imagem	71
4.6 Avaliação dos dados clínicos e laboratoriais:.....	72
4.6.1 Escore de risco de Framingham (ERF).....	72
4.6.2 Síndrome metabólica	75
4.6.3 Tempo de pós-menopausa (TM) e idade na menopausa (IM)	77
4.6.4 Idade e Índice de Massa Corporal (IMC)	78

4.7 Expressão de mRNA dos genes <i>TNFA</i> , <i>IL6</i> , <i>ESR1</i> e <i>NOS3</i>	79
4.7.1 Expressão de mRNA do <i>TNFA</i>	80
4.7.2 Expressão de mRNA do <i>IL6</i>	82
4.7.3 Expressão de mRNA do <i>NOS3</i>	84
4.7.4 Expressão de mRNA do <i>ESR1</i>	85
4.8 Variabilidade interobservador	85
5 DISCUSSÃO	87
6 CONCLUSÕES	104
7 ANEXOS	106
ANEXO A - Exames Laboratoriais: Valores de Referência e Métodos Utilizados	106
ANEXO B - Normograma de Valores da EMI do Estudo MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) ⁴⁹	108
ANEXO C - Termo de Consentimento do Estudo Aprovado pelo CEP	109
8 REFERÊNCIAS	114
APÊNDICES	

LISTA DE ABREVIATURAS

ACC	<i>American College of Cardiology</i>
AHA	<i>American Heart Association</i>
Apo A1	Apolipoproteína A1
Apo B	Apolipoproteína B
ARIC	<i>The Atherosclerosis Risk in Communities</i>
ASSIGN	<i>Assessing Cardiovascular Risk to Scottish Intercollegiate Guidelines Network</i>
ATPIII	<i>Adult Treatment Panel III</i>
AUC	<i>Area under curve</i>
AVE	Acidente vascular encefálico
BH4	Tetrahidrobiopterina
CA	Calcificação aórtica
CAPS	<i>Carotid Atherosclerosis Progression Study</i>
CHS	<i>Cardiovascular Health Study</i>
CT	Colesterol Total
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DAC	Doença Arterial Coronária
DCV	Doença Cardiovascular
DNA	Ácido Dosoxiribonucleico
EBTC	Tomografia com Emissão de Feixe de Elétrons
EMI	Espessura Mediointimal
ERF	Escore de Risco de Framingham
<i>ESR1</i>	Gene do Receptor de Estrógeno Alfa
<i>et al.</i>	e todos
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade (<i>High Density Lipoprotein</i>)
HOMA IR	<i>Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance</i>
HNR	<i>Heinz Nixdorf Recall Study</i>

IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de Confiança
ICAM	Molécula de Adesão Intercelular
IDF	Federação Internacional de Diabetes
IDL	Lipoproteína de Densidade Intermediária (<i>Intermediate Density Lipoprotein</i>)
IL6	Interleucina 6
<i>IL6</i>	Gene da Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corporal
ITB	Índice Tornozelo-Braquial
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade (<i>Low Density Lipoprotein</i>)
MESA	<i>Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis</i>
MCP	Proteína Quimiotática de Monócitos
NCEP	<i>National Cholesterol Education Program</i>
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintetase
NOS _e ou NOS ₃	Óxido Nítrico Sintetase Endotelial ou Tipo 3
<i>NOS3</i>	Gene da Óxido Nítrico Sintetase Endotelial ou Tipo 3
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PCR-us	Proteína C Ultrassensível
PROCAM	<i>Prospective Cardiovascular Munster Study</i>
QRISK	<i>QRESEARCH Cardiovascular Risk Algorithm</i>
RE α	Receptor de Estrógeno Alfa
RE β	Receptor de Estrógeno Beta
RF	Radiofrequência
RI	Resistência à Insulina
RNA	Ácido Ribonucleico
mRNA	RNA Mensageiro

ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
SWAN	<i>Study of Women's Health Across de Nation</i>
SCORE	<i>Systematic Coronary Risk Evaluation</i>
TCMD	Tomografia Computadorizada de Múltiplos Detectores
<i>TNFA</i>	Gene do Fator de Necrose Tumoral Alfa
TNF α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TRH	Terapia de Reposição Hormonal
VCAM	Molécula de Adesão da Célula Vascular
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade (<i>Very Low Density Lipoprotein</i>)
VOP	Velocidade de Onda de Pulso
VPN	Valor Preditivo Negativo
VPP	Valor Preditivo Positivo
WHI	<i>Women's Health Initiative</i>
WHS	<i>Women's Health Study</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

$<$	menor que
$>$	maior que
$\leq$	menor ou igual que
$\geq$	maior ou igual que
$=$	igual
$\pm$	mais ou menos
mm	milímetro
μm	micrômetro
mmHg	milímetros de mercúrio
m/s	metro por segundo
p	nível descritivo de probabilidade do teste
r	coeficiente de correlação

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variáveis clínicas e dados antropométricos.....	49
Tabela 2	Características clínicas.....	50
Tabela 3	Valores dos exames laboratoriais.....	51
Tabela 4	Prevalência de aterosclerose subclínica – exames positivos (%).	52
Tabela 5	Associação dos dados clínicos com a aterosclerose subclínica (AS).....	55
Tabela 6	Associação entre os dados laboratoriais e a aterosclerose subclínica	55
Tabela 7	Correlação entre a intensidade da aterosclerose subclínica com dados clínicos e laboratoriais	56
Tabela 8	Determinantes da presença de aterosclerose subclínica pela regressão logística.....	57
Tabela 9	Variáveis associadas com a presença de CAC > 0.	58
Tabela 10	Correlação do CAC com dados clínicos e laboratoriais.....	59
Tabela 11	Determinantes do CAC > 0 pela regressão logística (modelo controlado pela idade)	59
Tabela 12	Variáveis associadas com a presença de EMI carotídea aumentada.....	60
Tabela 13	Correlação da EMI carotídea com dados clínicos e laboratoriais	61
Tabela 14	Determinantes da EMI carotídea aumentada pela regressão logística (modelo controlado pela idade)	62
Tabela 15	Variáveis associadas à presença de placas nas artérias carótidas:	62
Tabela 16	Determinantes da presença de placas nas artérias carótidas pela regressão logística	63
Tabela 17	Variáveis associadas à presença de aterosclerose carotídea.....	63

Tabela 18	Determinantes da presença de aterosclerose carotídea pela regressão logística (modelo controlado pela idade).....	64
Tabela 19	Variáveis associadas à presença de VOP > 9,2 m/s.	65
Tabela 20	Correlação dos valores da VOP com as variáveis clínicas.....	66
Tabela 21	Correlação dos valores da VOP com dados laboratoriais	66
Tabela 22	Determinantes da presença de VOP > 9,2 m/s pela regressão logística.....	67
Tabela 23	Variáveis associadas à presença de calcificação na aorta (CA) ascendente e/ou descendente	67
Tabela 24	Determinantes da presença de calcificação na aorta ascendente e/ou descendente pela regressão logística (modelo controlado pela idade)	68
Tabela 25	Correlação EMI da artéria subclávia direita com dados clínicos e dados laboratoriais.	69
Tabela 26	Variáveis associadas à presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita.....	70
Tabela 27	Determinantes da presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita pela regressão logística	70
Tabela 28	Correlação entre os métodos de imagem.....	71
Tabela 29	Valores da EMI das artérias carótidas, VOP e CAC (médios ± DP).....	72
Tabela 30	Variáveis clínicas associadas ao ERF	73
Tabela 31	Variáveis laboratoriais associadas ao ERF	73
Tabela 32	Relação entre o ERF e a aterosclerose subclínica	74
Tabela 33	Correlação do ERF com as variáveis clínicas:.....	74
Tabela 34	Correlação do ERF com as variáveis laboratoriais:	75
Tabela 35	Variáveis clínicas associadas à síndrome metabólica (SM).....	76
Tabela 36	Variáveis laboratoriais associadas à síndrome metabólica (SM).....	76
Tabela 37	Relação entre síndrome metabólica (SM) e aterosclerose subclínica.....	77

Tabela 38	Correlação entre o tempo de pós-menopausa com dados clínicos e laboratoriais.....	77
Tabela 39	Correlação entre a idade na menopausa com dados clínicos e laboratoriais	78
Tabela 40	Correlação entre a idade com dados clínicos e laboratoriais	78
Tabela 41	Correlação entre os valores de expressão do mRNA do <i>TNFA</i> com os dados clínicos, laboratoriais e aterosclerose subclínica:	82
Tabela 42	Correlação entre os valores de expressão do mRNA do <i>IL6</i> com os dados clínicos, laboratoriais e aterosclerose subclínica.....	84
Tabela 43	Correlação entre os valores de expressão de mRNA do <i>NOS3</i> com os dados laboratoriais e aterosclerose subclínica.....	84
Tabela 44	Variabilidade Interobservador - CCC	85
Tabela 45	Tabela completa de correlação entre os métodos de imagem e as variáveis clínicas e antropométricas (Correlação de Spearman)	140
Tabela 46	Tabela completa de correlação entre os métodos de imagem e as variáveis laboratoriais (Correlação de Spearman).....	141

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma do estudo.....	28
Figura 2	Posição da cabeça e orientação do transdutor no exame da artéria carótida.....	38
Figuras 3 e 4	Medida da EMI pelo método da radiofrequência.	39
Figuras 5 e 6	Placa na origem da artéria subclávia direita.	39
Figuras 7 e 8	Aquisição da imagem para a avaliação da rigidez arterial.	41
Figuras 9 e 10	Ondas de Pulso aferidas nas artérias carótidas	41
Figura 11	Aterosclerose subclínica – intensidade do acometimento	53
Figura 12	Aterosclerose subclínica e Escore de Risco de Framingham (ERF).....	54
Figura 13	Curva ROC do ERF como preditor de aterosclerose subclínica	56
Figura 14	Diferença entre os valores da expressão do mRNA do gene do <i>TNFA</i> e a presença de aterosclerose subclínica (A), EMI carotídea (B), aterosclerose carotídea (C), VOP > 9,2m/s (D), síndrome metabólica (E) e dislipidemia (F).	81
Figura 15	Diferenças entre os valores da expressão do mRNA do <i>IL6</i> e a presença de aterosclerose subclínica (A), EMI carotídea (B), VOP > 9,2m/s (C), e dislipidemia (D)..	83
Figura 16	Gráficos de concordância interobservador para as medidas da VOP, EMI carotídea e EMI da artéria subclávia direita (Bland-Altman e dispersão)	142

RESUMO

Petisco ACGP. *Prevalência da aterosclerose subclínica em mulheres na pós-menopausa com risco cardiovascular baixo e intermediário estimado pelo escore de Framingham*. [Tese]. São Paulo: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, Entidade Associada da Universidade de São Paulo; 2014.

As doenças cardiovasculares permanecem como principal causa de mortalidade entre mulheres de vários países, entre eles, o Brasil. A doença arterial coronária ocorre duas a três vezes mais nas mulheres na pós-menopausa que na pré-menopausa, fato possivelmente explicado pela proteção estrogênica. A estratificação de risco pelos escores tradicionais, como o de Framingham, muitas vezes, apresenta-se falha, havendo constante busca por métodos auxiliares (clínicos, laboratoriais ou de imagem) que ajudem na identificação precoce das mulheres mais predispostas a apresentar um evento cardiovascular. O objetivo principal deste estudo foi determinar a prevalência da aterosclerose subclínica em mulheres na pós-menopausa com risco baixo e intermediário pelo escore de risco de Framingham (ERF), avaliando, nas artérias coronárias, o escore de cálcio, na aorta, a presença de calcificação e, nas artérias carótidas, a espessura mediointimal (EMI), a presença de placas ateroscleróticas e a rigidez arterial pela velocidade de onda de pulso (VOP). Os objetivos secundários foram: 1. Avaliar a EMI e presença de placas na artéria subclávia direita, identificando sua correlação com dados clínicos e laboratoriais; e 2. Avaliar associação entre a expressão do mRNA dos genes *TNFA*, *IL6*, *NOS3* e *ESR1* com a presença de aterosclerose subclínica. Foram incluídas 138 mulheres na pós-menopausa. A idade média foi de $56,15 \pm 4,93$ anos, tempo médio de pós-menopausa foi $8,25 \pm 5,97$ anos, idade na menopausa, $48,08 \pm 5,17$ anos e o ERF foi de $2,64 \pm 2,13\%$ (mediana: 2%). A prevalência da EMI carotídea aumentada, placas nas carótidas, presença de EMI e/ou placas carotídeas, escore de cálcio maior que zero, calcificação aórtica (CA) e VOP elevada foi de 45,7%, 37,7%, 62,3%, 23,9%, 45,7% e 25,4% respectivamente; e 18,8% não apresentaram alteração em nenhum sítio avaliado. A presença de aterosclerose subclínica (presença de, pelo menos, um exame de imagem alterado) relacionou-se de forma independente com a idade (OR: 1,144; IC95%: 1,032 – 1,369; $p=0,011$), pressão arterial sistólica (PAS) (OR: 1,041; IC95%: 1,003 – 1,081; $p=0,034$) e ApoA1 (OR: 0,973; IC95%: 0,952-0,994; $p=0,011$). Os exames de imagem relacionaram-se entre si, com dados clínicos e laboratoriais. A prevalência de placas na artéria subclávia direita foi 38,4%. A EMI e a presença de placas na artéria subclávia direita relacionaram-se com a EMI e placas de carótidas, VOP, idade, ERF e PAS. A EMI da artéria subclávia relacionou-se também com a CA. A maior expressão mRNA do *TNFA* e do

IL6 relacionou-se com a presença de aterosclerose subclínica, EMI carotídea aumentada e dislipidemia. Maior expressão do *IL6* relacionou-se com a VOP. Houve correlação entre expressão do mRNA do *NOS3* e EMI carotídea ($r=0,20$; $p=0,01$). Concluímos que a prevalência da aterosclerose subclínica foi de 81,2% nas mulheres na pós-menopausa com risco baixo e intermediário (ERF). A EMI e a presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita relacionaram-se com valores mais elevados da idade, ERF e PAS. Houve associação entre maior expressão do mRNA dos genes *TNFA* e *IL6* com a presença de aterosclerose subclínica. A expressão do mRNA do gene *NOS3* correlacionou-se positivamente com a EMI carotídea.

Descritores: Aterosclerose; Menopausa; Doenças Cardiovasculares; Risco; Diagnóstico por Imagem.

SUMMARY

Petisco ACGP. *Prevalence of subclinical atherosclerosis in postmenopausal women with low and intermediate cardiovascular risk estimated by Framingham score* [Thesis]. São Paulo: "Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia", Affiliated to "Universidade de São Paulo"; 2014.

Cardiovascular diseases remain the leading cause of mortality among women in several countries, including Brazil. Coronary artery disease in women occurs two to three times more after menopause than in premenopausal and can be explained by estrogen protection. Risk stratification by traditional scores such as Framingham score, often presents itself fails; there is a constant search for methods (clinical, laboratory or imaging) that could help in early identification of women that are more predisposed to suffer a cardiovascular event. The aim of this study was to determine the prevalence of subclinical atherosclerosis in postmenopausal women with low and intermediate risk by Framingham risk score (FRS), evaluating calcium score in the coronaries arteries, presence of aortic calcification, carotid intima-media thickness (IMT) and/or presence of atherosclerotic plaque and arterial stiffness by pulse wave velocity (PWV). Other objectives were: 1. Evaluate the IMT and the presence of plaques in right subclavian artery, identifying its correlation with clinical and laboratory data. 2. Evaluate the association between mRNA expression of *TNFA*, *IL6*, *NOS3* and *ESR1* genes with the presence of subclinical atherosclerosis. We analyzed 138 postmenopausal women. The mean age was $56,15 \pm 4,93$ years, time of postmenopausal was $8,25 \pm 5,97$ years, age at menopause, $48,08 \pm 5,17$ years and the ERF was $2,64 \pm 2,13$ (median: 2). The prevalence of increased carotid IMT, carotid plaques, the presence of IMT and/or carotid plaques, calcium score greater than zero, aortic calcification (AC) and elevated PWV was 45,7%, 37,7%, 62,3%, 23,9%, 45,7% and 25,4%, respectively, 18,8 % did not exhibit any evidence of subclinical atherosclerosis. The presence of subclinical atherosclerosis (presence of at least one positive imaging test) was related by logistic regression with age (OR: 1,144, 95% CI: 1,032 to 1,369, $p = 0,011$), systolic blood pressure (SBP) (OR: 1,041, 95% CI: 1,003 to 1,081, $p = 0,034$) and ApoA1 (OR: 0,973, 95% CI: 0,952 to 0,994, $p = 0,011$). Imaging tests were related with each other, with clinical and laboratory data. The prevalence of plaques in the right subclavian artery was 38.4%. The IMT and presence of plaques in the right subclavian artery were related to carotid IMT and plaques, PWV, age, FRS and SBP. Higher values of *TNFA* and *IL6* mRNA expression were related to the presence of subclinical atherosclerosis, dyslipidemia and increased carotid IMT. Higher *IL6* mRNA expression was related to PWV. There was correlation between mRNA expression of *NOS3* and carotid IMT ($r = 0,20$; $p = 0,01$). We conclude that the prevalence of subclinical

atherosclerosis in postmenopausal women with low and intermediate risk was 81.2% (FRS). IMT and right subclavian artery atherosclerotic plaques were related to higher values of age, ERF and SBP. Higher mRNA gene expression of *TNFA* and *IL6* were associated with the presence of subclinical atherosclerosis. There was a positive correlation between mRNA gene expression of *NOS3* and carotid IMT.

Descriptors: Atherosclerosis; Menopause; Cardiovascular Diseases; Risk; Imaging Methods.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde, o climatério é uma fase biológica da vida da mulher que compreende a transição entre o período reprodutivo e o não reprodutivo. Este período se inicia a partir dos 35 anos de idade e se estende até os 65 anos, quando a mulher passa a ser considerada idosa. A menopausa é um marco desta fase e corresponde à última menstruação, mas somente pode ser assim reconhecido depois de passados 12 meses da sua ocorrência, o que acontece, geralmente, por volta dos 50 anos de idade. O período que se segue após a data da última menstruação é chamado de pós-menopausa¹.

No Brasil, o processo de industrialização e urbanização vem se refletindo em um profundo impacto na dinâmica populacional, cultural e sanitária do país. A população e, em especial as mulheres, usufrui, atualmente, de maior longevidade. De acordo com os dados do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), a população brasileira é composta por mais de 94 milhões de mulheres, destas, cerca de 30 milhões encontram-se entre 35 e 65 anos, o que significa que 32% das mulheres no Brasil estão na faixa etária em que ocorre o climatério¹.

A expectativa de vida para as mulheres brasileiras, segundo dados de 2010 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), está em torno dos 77 anos de idade. Após a menopausa, as mulheres dispõem de cerca de um terço de suas vidas, que pode e deve ser vivido de forma saudável e produtiva².

As doenças cardiovasculares (DCV) permanecem como principal causa de morbimortalidade entre as mulheres em vários países, como os EUA e o Brasil, especialmente acima dos 50 anos de idade. Há mais mortes por DCV que as sete causas seguintes combinadas, correspondendo a um risco sete vezes maior de morrer por DCV que, por exemplo, por câncer de mama^{3,4}.

Na Europa, de todas as mortes que ocorreram antes dos 75 anos de idade, a DCV foi responsável por 42% nas mulheres e 38% nos homens⁵.

A doença arterial coronária (DAC) ocorre duas a três vezes a mais nas mulheres após a menopausa do que naquelas na pré-menopausa, sendo que, entre 45 e 64 anos, uma em cada nove mulheres tem alguma forma de DAC, passando para 1:3 mulheres após os 65 anos³. A maior prevalência de DAC nas mulheres na pós-menopausa comparada à fase pré-menopausa sugere que os estrógenos naturais tenham um envolvimento neste processo⁶. A diminuição dos níveis de estrógenos após a menopausa torna os vasos vulneráveis aos fatores de risco, como os lípides⁷.

Nas mulheres, as manifestações clínicas da DAC ocorrem mais tardiamente que nos homens (em média, 10 anos), fato possivelmente explicado pela proteção estrogênica e mais de 20% de todos os eventos coronarianos em mulheres ocorrem na ausência de fatores de risco⁸⁻¹⁰. Além disso, os sintomas da DAC nas mulheres nem sempre são facilmente reconhecidos, fazendo com que algumas destas recebam tratamento menos agressivo que os homens^{4,11,12}.

É importante salientar que as projeções para os próximos anos mostram que a DCV continuará como a principal causa de mortalidade e com um crescimento muito mais acelerado, em especial, nos países em desenvolvimento como o Brasil¹³.

Como os eventos cardiovasculares podem ocorrer em indivíduos previamente assintomáticos¹⁴, sendo muitos fatais, mesmo antes do atendimento médico, é de fundamental importância a identificação dos indivíduos, incluindo as mulheres, que sejam mais suscetíveis ao desenvolvimento da DCV. Isso permite a adoção de medidas preventivas, como mudança de hábitos de vida, mas também intervenções terapêuticas direcionadas e algumas vezes mais agressivas no controle dos fatores de risco.

Portanto, a criação de ferramentas para se identificar o risco cardiovascular e o seu aprimoramento têm papel fundamental. A estratificação de risco por meio dos escores tradicionais, muitas vezes,

apresenta-se falha, havendo uma constante busca de métodos auxiliares. Sejam clínicos, laboratoriais ou de imagem, eles ajudam na identificação precoce das mulheres mais predispostas a apresentar um evento cardiovascular, possibilitando, assim, a sua prevenção e, por conseguinte, a preservação da vida.

1.1 Aterosclerose, estrógenos e função endotelial

A presença da doença aterosclerótica apresenta-se menor na pré-menopausa que na pós-menopausa, sugerindo que esta diferença esteja relacionada às modificações hormonais que acontecem nesta fase¹⁵. Os três estrógenos endógenos principais são o estradiol, a estrona e o estriol. Na pré-menopausa, o estradiol é o estrógeno predominante e é produzido, preferencialmente, nas células ovarianas. Na pós-menopausa, por conta da insuficiência ovariana pronunciada, o estrógeno predominante é a estrona. Esta é resultante da conversão da androstenediona produzida pela adrenal, que ocorre no tecido adiposo e nas células musculares. O estriol é apenas um escasso subproduto do metabolismo da estrona⁶.

Os estrógenos parecem agir diretamente nos vasos sanguíneos e nas células endoteliais por duas vias: uma chamada via não genômica, de efeito rápido, em que se acredita não haver participação de expressão gênica, mas sim um aumento da vasodilatação via óxido nítrico (NO) e uma via genômica com efeitos em longo prazo, onde há a participação dos receptores de estrógenos (RE) e do NO, que levam à inibição da injúria vascular por ação direta nas células endoteliais e redução da proliferação de células musculares lisas, prevenindo a aterosclerose¹⁵.

A ação dos estrógenos via ativação dos RE se dá nos receptores específicos alfa (RE α) e beta (RE β), codificados por genes independentes (*ESR1* e *ESR2*, respectivamente). A atividade de ligação ao receptor é maior com o 17 β -estradiol, sendo que a estrona possui em torno de 60% e 37% da

atividade do 17 β -estradiol nos RE α e RE β , respectivamente¹⁶. Sabe-se que, na menopausa, ocorre uma redução dos RE α e RE β . Zhu *et al.*¹⁷, em 2006, mostraram uma menor atividade da estrona, em torno de 10% da atividade do 17 β -estradiol, no RE α e ainda menor no RE β .

Os RE já foram encontrados na musculatura lisa das artérias coronárias e em células endoteliais de outros sítios vasculares. O RE α tem expressão em células endoteliais e em células musculares lisas dos vasos, em que afeta a transcrição de vários genes envolvidos na função vascular exercendo efeitos no endotélio, tanto de caráter sistêmico como localizado (tissular)^{6,15}. Os estrógenos causam vasodilatação por aumento na síntese e liberação do NO e da prostaciclina pela célula endotelial⁶. Acredita-se, também, que aceleram a reendotelização diante da injúria vascular inibindo o espessamento medial pela inibição da proliferação das células musculares lisas¹⁸. Além de propiciarem um melhor perfil lipídico, podem aumentar a vasodilatação arterial, inibindo a resposta celular na injúria vascular, em que a célula endotelial age na manutenção da integridade do vaso¹⁹.

Alguns dos efeitos benéficos dos estrógenos nos vasos sanguíneos são semelhantes aos observados quando há um aumento da biodisponibilidade do NO, proporcionando a inibição da retenção de LDL e sua penetração na parede do vaso, diminuindo a proliferação muscular lisa, a adesão de monócitos, e a adesão e agregação plaquetária. O estrógeno tem a capacidade de estimular a enzima óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS ou NOS3), proporcionando aumento nos níveis de NO e seu efeito cardioprotetor parece, em parte, ocorrer pela redução da expressão (chamada *downregulation*) dos receptores AT1 (receptores tipo 1 da angiotensina II) do sistema renina-angiotensina pelo NO²⁰. O receptor AT1 acarreta vasoconstrição, crescimento celular e liberação de radicais livres²¹. Também foi demonstrado que o RE localiza-se em um módulo funcional com a enzima NOS3, em regiões da membrana citoplasmática das células endoteliais denominadas cavéolas²². A expressão da NOS3 pode estar reduzida pela redução da transcrição ou aumento da instabilidade do mRNA do gene da NOS3²³. Além disso, o estrógeno reduz a liberação de

endotelina-1, potente vasoconstrictor e poderoso agente mitogênico das células musculares lisas vasculares.

As mudanças que ocorrem nas artérias durante o desenvolvimento da aterosclerose são significativamente influenciadas por fatores de risco, tais como a hipertensão arterial sistêmica (HAS), o tabagismo, a hipercolesterolemia, a idade, o diabetes, assim como por determinantes genéticos de susceptibilidade ou resistência ao seu desenvolvimento. O mecanismo exato pelo qual estes fatores de risco influenciam no processo da aterosclerose ainda necessita de mais estudos²⁴. Os fatores de risco para DCV podem ativar certos processos pró-oxidativos, que reduzem a biodisponibilidade e bioatividade do NO levando à disfunção endotelial²⁵.

A geração reduzida de NO pode ocorrer devido à deficiência dos cofatores imprescindíveis para a concretização da reação da L-arginina com o oxigênio, como o cálcio e a tetrahidrobiopterina (BH4). O aumento do cálcio intracelular promove a ligação da calmodulina à enzima óxido nítrico sintetase (NOS), favorecendo sua ativação. A BH4 é um cofator essencial para a atividade catalítica das três isoformas da NOS (tipo 1 ou neuronal, tipo 2 ou induzido e tipo 3 ou endotelial) e um importante determinante da produção de NO em ambientes fisiológicos e patológicos²³.

Mesmo em níveis normais, pode haver uma redução da atividade do NO que é devida, em geral, a um processo que se inicia pela deficiência dos cofatores como o cálcio e BH4. O papel desses cofatores é efetuar de forma adequada a transferência de elétrons durante a catálise da síntese de NO, impedindo que estes elétrons possam ser capturados pelo oxigênio molecular, gerando o radical superóxido, fenômeno conhecido por desacoplamento da NOS. O radical superóxido formado nesta situação pode gerar o intermediário tóxico peroxinitrito, um dos responsáveis pela destruição aumentada de NO. Em placas ateroscleróticas avançadas que atingem a camada média, ou em distúrbios específicos desta camada, as células musculares lisas podem ser afetadas a ponto de, na presença de níveis normais de NO, não conseguirem uma vasodilatação eficaz. A inibição

da NOS pode induzir a vasoconstrição, a formação de trombos e a aterogênese²³.

1.2 Aterosclerose, inflamação e síndrome metabólica

Evidências mostram que o declínio da função ovariana também está associado a uma maior expressão e secreção de citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina 6 (IL6) e o fator de necrose tumoral α (TNF α). São secretadas pelas células endoteliais da parede vascular, pelas células musculares lisas, monócitos e macrófagos. O exato mecanismo pelo qual os estrógenos interferem na atividade das citocinas não está completamente esclarecido, podendo incluir interação do RE com outros fatores de transcrição, modulação da atividade do NO, efeitos antioxidantes, ações na membrana plasmática e modificações na função imune celular²⁶.

Alguns autores têm descrito a presença de expressão de mRNA de citocinas em lesões ateroscleróticas humanas, entre elas, a expressão do mRNA dos genes *IL6* e *TNFA*^{27,28}. Seino *et al.*²⁷ relataram uma expressão do mRNA do gene *IL6* 10 a 40 vezes maior em artérias coronárias ateroscleróticas que nas normais. A IL6 estimula a proliferação de células musculares lisas, regula a resposta imune, reações de fase aguda e a hematopoiese, papel fundamental na resposta inflamatória e injúria tecidual. A expressão mRNA do gene *TNFA* já foi detectada em macrófagos e nas células musculares lisas, estando envolvido na neovascularização e proliferação celular que fazem parte do processo aterosclerótico²⁸.

Na pós-menopausa, é comum a mulher apresentar ganho de peso. Sabe-se que o tecido adiposo é um órgão endócrino ativo que secreta uma variedade de peptídeos denominados adipocinas (leptina, adiponectina e resistina) e citocinas inflamatórias: TNF α e IL6. Tais substâncias estão implicadas com a inflamação relacionada à obesidade e à resistência à insulina (RI). Portanto, acredita-se que algumas citocinas, cuja atividade

tenha sido alterada pela menopausa, possam estar, de fato, envolvidas no processo aterosclerótico²⁶. Além disso, a IL6 produzida pelo tecido adiposo estimula o fígado a produzir a chamada proteína C reativa (PCR) que também parece estar relacionada ao desenvolvimento da DCV²⁹. A PCR é uma proteína plasmática de fase aguda produzida, principalmente, pelos hepatócitos, e sua participação na aterogênese foi demonstrada ao promover aumento na migração de células musculares lisas, aumento da expressão de moléculas de adesão endotelial (VCAM, ICAM-1), E-selectina e proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), promovendo disfunção endotelial *in vivo*³⁰.

A síndrome metabólica é caracterizada por hiperinsulinemia com subjacente RI, associada a outros fatores de risco cardiovasculares. Ela predispõe ao desenvolvimento da DCV aterosclerótica e do diabetes tipo dois. Além disso, cursa com um estado pró-inflamatório e pró-trombótico, em que há elevação dos níveis de PCR e fibrinogênio³¹. A presença de obesidade intra-abdominal (caracterizada pela circunferência da cintura), acrescida de duas das seguintes condições: aumento da glicemia sérica, da pressão arterial sistólica e/ou diastólica, hipertrigliceridemia e HDL-c reduzido, compõem o seu diagnóstico. Sua prevalência encontra-se em torno de 15% a 34% (dependendo da definição), e tem sido relacionada a aumento de mortalidade por DCV e mortalidade por todas as causas³¹⁻³³.

Além da circunferência da cintura, também a relação cintura/quadril tem sido associada ao risco da DCV. De Koning *et al.*³⁴ realizaram uma meta regressão de quinze estudos prospectivos, mostrando que, a cada centímetro a mais na circunferência da cintura, aumenta o risco cardiovascular em 2% e a cada 0,01 na relação cintura/quadril o risco aumenta em 5%.

Assim como a síndrome metabólica, a RI, detectada pelo cálculo do HOMA-IR (*homeostatic model assessment of insulin resistance*), mostrou-se um preditor independente de risco para DCV³⁵.

1.3 Aterosclerose e doença cardiovascular

A aterosclerose é uma doença inflamatória multifatorial, inicia-se na infância e avança por décadas, sendo a grande causa das DCV. A palavra tem origem grega composta por *athero* (pasta) e *sclerosis* (endurecimento)³⁶. O processo aterosclerótico resulta, portanto, de mudanças no componente estrutural e no componente funcional, em que estão presentes o espessamento e rigidez das paredes do vaso³⁷.

O processo aterosclerótico acomete, principalmente, a camada íntima das artérias de médio e grande porte, em resposta à agressão endotelial³⁸. Esta agressão pode estar relacionada a diversos fatores de risco, como a elevação de lipoproteínas aterogênicas, a HAS ou o tabagismo^{39,40}.

A disfunção endotelial cursa com o aumento da permeabilidade da camada íntima às lipoproteínas plasmáticas, favorecendo sua retenção no espaço subendotelial. Quando retidas, as partículas de LDL sofrem oxidação, tornando-se imunogênicas. O depósito de lipoproteínas na parede arterial, processo-chave no início da aterogênese, ocorre de maneira proporcional à concentração dessas lipoproteínas no plasma⁴¹.

É largamente aceito que níveis elevados de LDL podem levar ao desenvolvimento de DCV, enquanto níveis elevados de HDL são protetores. A HDL contribui na proteção do leito vascular contra a aterogênese, atua na remoção de lípidos oxidados da LDL, inibe a fixação de moléculas de adesão e monócitos ao endotélio, e estimula a liberação de NO⁴¹. Também a avaliação das apolipoproteínas pode fornecer importantes informações, a Apo B é a principal apolipoproteína das partículas aterogênicas da VLDL, LDL e IDL, sua concentração nos dá uma boa estimativa destas partículas no sangue, enquanto a Apo A1 é a principal apolipoproteína da HDL, também fornecendo uma boa estimativa de sua concentração, o cálculo da relação entre a Apo B e a Apo A1 tem sido utilizada em grandes estudos prospectivos como indicadora de risco cardiovascular⁴¹.

O perfil lipídico também pode diferir entre homens e mulheres devido às diferenças existentes nas vias regulatórias do colesterol. A expressão de lipoproteínas hepáticas sofre influência dos efeitos do estrógeno. Na menopausa, a concentração sérica do colesterol total, da LDL e dos triglicérides aumenta e da HDL diminui⁴². Recentemente, o estudo SWAN (*Study of Women's Health Across the Nation*) mostrou que, durante a perimenopausa (período de transição entre a pré-menopausa e pós-menopausa), além do aumento do colesterol total, da LDL e dos triglicérides, pode haver discreto aumento transitório da HDL, que tende a cair posteriormente¹¹⁹. Entretanto, atualmente, acredita-se que a HDL possa ser pró-inflamatória ou pró-aterogênica em algumas circunstâncias⁴³.

Recentes avanços na ciência básica estabelecem um papel fundamental da inflamação mediando todos os estágios da doença aterosclerótica, desde o seu início, na progressão das lesões e, por fim, nas complicações trombóticas⁴⁴, assim, a doença aterosclerótica se desenvolve como um *continuum*, em que um vaso saudável sofre a influência de fatores de risco, modificadores ambientais e determinantes genéticos. Em geral, passa por uma fase intermediária, assintomática, até surgirem os sintomas da DCV^{45,46}.

1.4 Estratificação de risco cardiovascular

Vários estudos epidemiológicos já avaliaram a importância dos fatores de risco associados ao desenvolvimento da DCV⁴⁷⁻⁵⁰. Dentre eles, o estudo INTERHEART, um grande estudo caso-controle (15.152 casos e 14.820 controles) realizado em 52 países, mostrou que tabagismo, dislipidemia, diabetes, obesidade abdominal, HAS, estresse psicossocial, atividade física e consumo de álcool, frutas e vegetais, associaram-se à ocorrência do primeiro IAM, tanto nos homens como nas mulheres⁴⁷.

A probabilidade de um indivíduo desenvolver um evento cardiovascular aterotrombótico num determinado período é designada como risco cardiovascular, sendo este risco determinado pelos fatores aos quais o indivíduo está exposto.

Um fator de risco pode ser definido como uma característica associada de forma independente com um aumento do risco de desenvolver determinada doença⁵¹. Marcador de risco pode ser definido como uma característica ou condição que está associada com fatores de risco conhecidos, mas não exerce influência causal na ocorrência de determinada doença. Atualmente, os marcadores de risco têm sido uma ferramenta proposta para aprimorar a estratificação de risco cardiovascular em indivíduos assintomáticos “agregando” risco aos fatores de risco já conhecidos.

Com o intuito de auxiliar o profissional de saúde na identificação do indivíduo com risco aumentado de apresentar um evento cardiovascular, foram desenvolvidos sistemas (algoritmos) para a estimativa do risco, conhecidos como escores de risco⁵¹.

Já foram descritos vários escores de risco, porém o escore de risco de Framingham (ERF)⁵² é o modelo mais utilizado na prática clínica, tendo sido testado em pacientes de etnias diversas⁵³. Leva em consideração, no seu cálculo, a idade, gênero, colesterol total, HDL-c, pressão arterial sistólica (PAS) e tabagismo.

Endossado pelos NCEP (*National Cholesterol Education Program*) e o ATP (*Adult Treatment Panel*) III, o ERF tem como objetivo identificar os indivíduos com risco baixo (probabilidade menor que 10% de infarto ou morte por doença coronária no período de dez anos), risco intermediário (probabilidade entre 10% e 20% de infarto ou morte por doença coronária no período de dez anos) e risco alto (probabilidade maior do que 20% de infarto ou morte por doença coronária no período de dez anos)⁵⁴.

A estimativa do risco de eventos coronarianos pelo ERF é menos precisa nos indivíduos com risco intermediário, na avaliação do risco cardiovascular de curto prazo, nos jovens e nas mulheres, assim

denominado hiato da detecção^{3,41}. Também não leva em consideração a presença de síndrome metabólica ou história familiar de DAC. Além disso, dentre os pacientes que apresentam eventos cardíacos, 60 a 70% são indivíduos com risco baixo e intermediário pelo ERF⁵⁵. Sabe-se que a maioria (92%) das mulheres, sem diabetes, abaixo dos 70 anos são consideradas de baixo risco, que apenas 1% delas se encontra na categoria de alto risco e somente 8% encontra-se entre 10 e 20% de risco em DCV em 10 anos^{56,57}. A *American Heart Association/American College of Cardiology* (AHA/ACC) sugere que a abordagem das mulheres poderia ser feita por perfis de risco (risco alto, “em risco” e com saúde cardiovascular ideal)^{58,59}.

Alguns estudos vêm demonstrando que pacientes considerados de baixo risco, estimado pelo ERF, podem apresentar exames de imagem compatíveis com a presença de aterosclerose⁶⁰⁻⁶².

Por esse motivo, nos portadores de risco intermediário, tem-se dado maior atenção à presença dos chamados fatores agravantes ou marcadores de risco, estes, quando presentes, elevariam o risco estimado para uma categoria superior. A IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia recomenda o uso de fatores agravantes para a melhor estratificação dos indivíduos de risco intermediário: história familiar de doença coronária prematura, síndrome metabólica, micro ou macroalbuminúria, hipertrofia ventricular esquerda, insuficiência renal crônica, PCR de alta sensibilidade > 3 mg/L ou exame complementar com evidência de doença aterosclerótica subclínica – escore de cálcio coronário > 100 ou > percentil 75 para idade e sexo, espessura médiointimal de carótida (EMI) > 1 mm e índice tornozelo braquial – ITB < 0,9⁴¹.

Em 2003, a Conferência de Bethesda sugeriu reduzir o limite inferior de risco, passando, assim, a ser considerado quando se encontra entre 6% e 20%⁶², sendo este limite usado em vários estudos^{60,64-66}. Mais recentemente, os limites para o risco moderado de eventos cardiovasculares em 10 anos têm sido descritos por diversos autores como 5 a 20%, inclusive em estudos que associam a utilização de exames para detecção da aterosclerose

subclínica ao ERF, no aprimoramento da estratificação do risco⁶⁷⁻⁶⁹. Hsia e col. compararam, nas mulheres na pós-menopausa do estudo WHI (*Women's Health Initiative*), o risco de eventos calculado pelo ERF e pela AHA, e mostraram não haver diferença entre eles quando as categorias de risco do ATP III (<10%, 10-20% e >20%) foram utilizadas (AUC [*area under curve*] = 0,665 para ERF e AUC=0,664 para AHA, $p=0,94$), mas houve significativa melhora na estratificação de risco a favor do ERF quando as categorias de risco foram modificadas (<5%, 5–20% e >20%) com AUC=0,724 para o ERF ($p<0,0001$)⁷⁰.

O ERF e os demais escores de risco em geral avaliam o risco da ocorrência do evento cardiovascular em um período de dez anos, o que, muitas vezes, não é suficiente na avaliação dos jovens e das mulheres que se apresentam em sua maioria como de baixo risco. Foi proposta, então, a avaliação do risco ao longo da vida (*lifetime risk*), que prediz o risco cardiovascular em 50 anos^{71,72}, ou 30 anos⁷³.

Outros escores de risco também foram desenvolvidos em populações diversas. São exemplos: o escore de risco PROCAM (*Prospective Cardiovascular Munster*), que foi desenvolvido com a população europeia, principalmente funcionários empresas privadas de Munster na Alemanha⁷⁴. Envolve oito fatores de risco na predição de eventos coronários: idade, LDL-c, tabagismo, HDL-c, PAS, história familiar de infarto prematuro, diabetes e níveis de triglicérides, e para predição de acidente vascular cerebral: idade, sexo, tabagismo, diabetes e PAS, num período de dez anos. Estudos compararam o escore PROCAM e o ERF, e ambos mostraram que podem superestimar o risco cardiovascular, sugerindo que cada população específica deve ter sua função estimadora de risco⁷⁵. O ASSIGN (*Assessing Cardiovascular Risk to Scottish Intercollegiate Guidelines Network*) teve como desfechos a morte súbita, eventos coronários e cerebrovasculares em dez anos, e incluiu, nas variáveis de risco, a condição socioeconômica⁷⁶. O QRISK-1 (*QRESEARCH Cardiovascular Risk Algorithm*), no Reino Unido, também incluiu às demais variáveis de risco, o conceito da condição socioeconômica, e foi reformulado posteriormente como QRISK-2 com a

estratificação por grupos étnicos^{77,78}. Em 2003, a Sociedade Europeia de Cardiologia publicou o SCORE (*Systematic Coronary Risk Evaluation*), a fim de unificar um escore de risco para toda a Europa e tem sua utilização recomendada no *European Guidelines on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (version 2012)*, dando enfoque à utilização de marcadores e exames de imagem a fim melhorar a estratificação de risco, em especial, nos pacientes da categoria de risco moderado^{5,79}.

O escore de risco de Reynolds também intenciona predizer o risco de eventos cardiovasculares em dez anos. Este escore inclui dois outros marcadores além daqueles usados no ERF: a história familiar de doença cardiovascular antes dos 60 anos de idade e os níveis séricos de PCR ultrassensível. Houve por esse escore a reclassificação de 17,8% dos homens avaliados, sendo 20,2% daqueles com risco intermediário pelo ERF⁸⁰. No caso das mulheres, a reclassificação do risco intermediário para alto risco aconteceu em 21,2%⁸¹.

1.5 Pesquisa da aterosclerose subclínica:

Sabe-se que a primeira manifestação clínica da doença aterosclerótica pode ser o Infarto Agudo do Miocárdio (IAM), o Acidente Vascular Encefálico (AVE) ou, mesmo, a morte súbita. Nesses casos, o processo aterosclerótico se desenvolve de forma silenciosa, e a placa de ateroma pode se comportar de duas formas: tanto permanecer estável, com progressão lenta, como romper-se e gerar o evento agudo. A primeira forma pode ser totalmente assintomática, configurando a chamada aterosclerose subclínica^{82,83}.

Marcadores de aterosclerose podem se apresentar como alterações funcionais, como a rigidez arterial e a disfunção endotelial, ou como alterações estruturais, como, por exemplo, o espessamento mediointimal e a presença de placas nas artérias carótidas ao exame ultrassonográfico, ou,

ainda, a presença de calcificações na aorta e nas artérias coronárias à tomografia^{64,84,85}.

A identificação do indivíduo assintomático, com risco aumentado de desenvolver DCV e apresentar um evento agudo, tem sido premente e diretrizes desenvolvidas em diversos países começaram a incluir marcadores de aterosclerose subclínica, adicionalmente aos escores de risco tradicionais, como uma forma de melhor estratificar aqueles que se beneficiariam, além das medidas que envolvem estilo de vida e alimentação, de intervenções farmacológicas mais precocemente^{5,41,86}.

1.5.1 Avaliação da espessura mediointimal (EMI) e pesquisa de placas nas artérias carótidas

Nas últimas décadas, a ultrassonografia vascular melhorou substancialmente a avaliação da dinâmica da parede arterial em circunstâncias normais e patológicas. Tornou possível, a detecção precoce de alterações da parede arterial que se relacionam com desfechos como o IAM e o AVE^{40,87,88}. É um método atraente por seu custo efetividade. Trata-se de um exame reprodutível, que não utiliza contraste nefrotóxico, tem custo acessível, pode ser realizado à beira do leito e repetido quando necessário⁸⁹.

As carótidas são artérias elásticas, com um componente muscular pequeno e predomínio da íntima. A íntima é a camada mais interna que vai da superfície luminal à lâmina elástica interna, sendo a face luminal delineada pelo endotélio, a média se estende da lâmina elástica interna à adventícia e é composta por elastina, colágeno e músculo liso⁹⁰. O complexo mediointimal foi descrito, em 1986, por Pignoli que relatou o aspecto ultrassonográfico, correlacionando-o à avaliação anatômica⁹¹. Apresenta-se à ultrassonografia como uma dupla linha paralela, visualizada longitudinalmente, cujas bordas anatômicas são as interfaces lumem-íntima e média-adventícia.

A medida da EMI das artérias carótidas relaciona-se com a presença de eventos cardiovasculares e tornou-se cada vez mais utilizada com a melhoria dos equipamentos de ultrassom, o que permitiu uma resolução de imagem capaz de realizar medidas de estruturas pequenas, menores que um milímetro.

Novos equipamentos de ultrassonografia tornaram possível, a partir do pós-processamento da imagem, a realização automatizada da medida da EMI, sendo esta, atualmente, a mais recomendada⁶⁵. Outra técnica de medida automatizada utiliza a radiofrequência (RF), que permite acessar, em tempo real, as propriedades da parede arterial carotídea com a realização de medidas que estariam no limite da resolução espacial do ultrassom convencional, aumentando a precisão da aferição. No caso da EMI, o resultado é expresso em “ μm ”, pois pequenas variações da ordem de 0,1mm já estariam relacionadas a um aumento do risco cardiovascular⁸⁷.

A EMI é hoje considerada um marcador de risco para aterosclerose e sua medida tem sido recomendada na estratificação de risco por diversas diretrizes^{5,41,54}.

O estudo ARIC (*The Atherosclerosis Risk in Communities*), publicado em 1997, avaliou a EMI em 13.841 pacientes assintomáticos que foram seguidos por 5,2 anos e mostrou que uma EMI carotídea maior ou igual a 1 mm relacionava-se com aumento na incidência de eventos (IAM e morte por DAC), sendo de 5,07 (IC95%: 3,08 - 8,36) nas mulheres e 1,85 (IC95%: 1,28 - 2,69) nos homens⁹². O mesmo grupo, posteriormente, mostrou, em um grupo de 14.214 pacientes, que a EMI carotídea maior ou igual a 1 mm comparada à EMI menor que 0,6 mm relacionava-se a uma maior ocorrência do primeiro AVE isquêmico de 8,5 (IC95%: 3,5 - 20,7) vezes nas mulheres e 3,6 (IC95%: 1,5 - 9,2) nos homens, seguidos por um período de 7,2 anos⁹³.

Outro estudo, o CHS (*Cardiovascular Health Study*), também envolvendo um número expressivo de pacientes, mostrou resultados semelhantes: acompanhou 4.476 pacientes acima de 65 anos sem história de DCV e constatou que o aumento da EMI relacionava-se com um maior

risco de IAM e AVE, em especial, no quintil com maior EMI, um risco relativo de 3,15 (IC95%: 2,19 - 4,52)⁹⁴.

Lorenz *et al.*⁸⁷, em 2007, publicaram uma metanálise que envolveu 8 grandes estudos num total de 37.197 pacientes avaliando a EMI carotídea como preditor de eventos cardiovasculares e concluiu que, com aumento de 1 desvio-padrão na EMI na artéria carótida comum, o risco relativo de IAM era 1,26 (IC95%: 1,12 – 1,17) vezes maior e de AVE 1,32 (IC95%: 1,27 – 1,38).

A presença de aterosclerose carotídea está relacionada com outros fatores de risco para DCV, como tabagismo, a alteração dos níveis dos lipídeos plasmáticos e HAS, tanto em homens quanto em mulheres^{95,96}.

A EMI, como preditora de risco cardiovascular, também foi avaliada em função da idade. No estudo CAPS (*Carotid Atherosclerosis Progression Study*), 5.056 indivíduos entre 19 e 90 anos foram acompanhados por 4,2 anos, para desfecho IAM, AVE e morte. Observou-se que, para cada 0,1 mm a mais na EMI da artéria carótida comum, a razão de risco foi maior nos pacientes com menos de 50 anos, 1,26 (IC95%: 1,06-1,49), que, para os com mais de 50 anos, foi de 1,08 (IC95%: 1,03 – 1,14)⁹⁷. Em 2010, o mesmo grupo publicou os resultados do seguimento de dez anos de 4.904 pacientes sem doença vascular pré-existente, estratificados pelo ERF e pelo SCORE europeu, adicionando-se a medida da EMI da artéria carótida comum e concluíram que, apesar de esta ter se mostrado um preditor independente de eventos cardiovasculares, não houve melhora significativa na reclassificação individual pela adição da EMI aos escores clínicos (-1,41%, p=ns e 0,04%, p=ns respectivamente)⁹⁸.

O estudo MESA (*Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*), desde a última década, vem apresentando resultados referentes à prevalência, associação com eventos e progressão da aterosclerose em seu estágio subclínico⁹⁹⁻¹⁰¹. Este grupo observou que a EMI carotídea é um bom preditor de DCV, principalmente do acidente vascular encefálico¹⁰¹. Além disso, o mesmo grupo mostrou uma associação consistente da EMI da artéria carótida comum com fatores de risco cardiovasculares em duas diferentes

populações: MESA, com 2.270 indivíduos, e HNR (*Heinz Nixdorf Recall Study*), com 2820 indivíduos¹⁰².

Em função heterogeneidade nos protocolos de medidas da EMI carotídea, descritos nos diversos estudos, em 2008, a Sociedade Americana de Ecocardiografia publicou um consenso a fim de normatizar sua utilização na prática diária⁶⁵. Mesmo assim, estudos recentes demonstram que há dúvidas sobre qual protocolo de medida da EMI deve ser utilizado e sua real aplicabilidade da reclassificação individual dos pacientes¹⁰³⁻¹⁰⁷.

Assim como o aumento da EMI, a presença de placas nas artérias carótidas mostrou-se preditora independente de risco para DCV^{103,107,108}. O Consenso de Mannheim definiu placa como uma estrutura focal que se projeta na luz arterial em 0,5 mm ou 50% além da EMI ou espessamento maior que 1,5 mm⁸⁹.

O estudo de Rotterdam, publicado em 2004, incluiu 6.389 pacientes com mais de 55 anos e avaliou o valor preditivo da EMI, da detecção de placas nas carótidas e na aorta abdominal, e o ITB, para o IAM. Todos os métodos foram bons preditores, com uma razão de risco de 1,83 (IC95%: 1,27-2,62) para placas nas carótidas, 1,95 (IC95%: 1,19-3,19) para a EMI, 1,94 (IC95%: 1,3-2,9) para placas na aorta e 1,59 (IC95%: 1,05-2,39) para o ITB¹⁰⁹.

Em 2010, Nambi *et al.*¹¹⁰ avaliaram a EMI junto à presença ou ausência de placas carotídeas com os fatores de risco tradicionais em 13.145 indivíduos. Notou-se que, quando avaliada a EMI junto com a placa carotídea, havia melhora na predição do risco (dada pela área sob a curva [AUC – *area under curve*] ROC), assim, foi possível fazer a reclassificação dos indivíduos, em especial, os de risco intermediário.

Recentemente, Inaba *et al.*¹¹¹ publicaram uma metanálise em que avaliaram a presença de placas nas artérias carótidas e a EMI carotídea como preditores de eventos coronarianos e concluíram que a presença de placas teve melhor acurácia diagnóstica para predizer futuros eventos que a EMI (AUC: 0,64 X 0,61, $p=0,04$).

Foi demonstrado, ainda, que mulheres antes da menopausa apresentam valores menores da EMI e menor presença de placas carótídeas que aquelas na pós-menopausa¹¹².

O estudo MESA, recentemente, mostrou, em 5.445 pacientes sem DCV, que a presença de placas nas artérias carótidas e a EMI, avaliadas pela ultrassonografia, podem predizer a presença (RR: 1,37 - IC95%: 1,12 - 1,67 e RR: 1,13 - IC95%: 1,03 - 1,25, respectivamente) e a progressão de cálcio nas artérias coronárias (CAC) detectado pela tomografia¹¹³.

1.5.2 Avaliação da rigidez arterial

A medida da rigidez arterial vem despertando interesse crescente na pesquisa clínica por estar relacionada com diversas situações: HAS, hipertrofia ventricular esquerda, falência renal e doença aterosclerótica^{114,115}.

Existem vários métodos para se avaliar a rigidez arterial em diferentes territórios^{116,117}. Uma técnica de medida automatizada é realizada nas artérias carótidas e utiliza a RF, obtendo-se resultados em tempo real, o que a torna atraente na prática clínica^{118,119}.

Nos últimos anos, tem-se dado ênfase ao papel da rigidez arterial e sua relação com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

À medida que as artérias se tornam mais rígidas, ocorre um aumento da velocidade da onda de pulso aórtico e, por conseguinte, mais rapidamente, a onda de pressão retrógrada gerada nos locais de reflexão volta para o coração. Há, então, a amplificação da pressão no final da sístole, com aumento da pressão de pulso¹²⁰. O aumento da rigidez arterial pode contribuir para o desenvolvimento da HAS, assim como para a ocorrência de um evento coronariano ou o AVE^{121,122}. Da mesma forma, a pressão de pulso, que é a diferença entre a pressão arterial sistólica e a diastólica, também está associada à ocorrência de eventos cardiovasculares como IAM e AVE^{123,124}.

A análise da rigidez arterial vem emergindo também como preditor de morbidade e mortalidade cardiovascular, e mortalidade por todas as causas¹²⁵⁻¹²⁷.

Michell *et al.* avaliaram 2.232 pessoas no estudo de Framingham e concluíram, num seguimento de 7,8 anos, que uma maior VOP estava relacionada a um aumento do risco de eventos cardiovasculares (IAM, angina instável, insuficiência cardíaca e AVE) em 48% (IC95%: 1,16 – 1,91, $p=0,002$)¹²⁷.

A VOP aumentada também foi relacionada à presença de dano subclínico em órgão-alvo, estando independentemente associada à presença de CAC (tomografia), doença arterial obstrutiva periférica (ITB) e cerebral (ressonância nuclear magnética)¹²⁸.

Vlachopoulos *et al.*¹²⁶, em 2010, publicaram uma metanálise em que avaliaram o valor da VOP em prever um futuro evento cardiovascular e mortalidade por todas as causas. Foram 15.877 indivíduos com uma média de seguimento de 7,7 anos. Concluíram a VOP é um forte preditor de eventos cardiovasculares e morte, sendo que um aumento de 1m/s na VOP aórtica ajustado para idade, sexo e fatores de risco aumenta em 14% os eventos cardiovasculares, 15% a mortalidade cardiovascular e 15% a mortalidade por todas as causas.

Observou-se que as mulheres exibem um aumento significativo da rigidez arterial na pós-menopausa quando comparadas aos homens¹²⁹. Além disso, mulheres normoglicêmicas na menopausa, com resistência à insulina (identificada pelos valores do HOMA-IR), apresentam elevada VOP, assim como valores reduzidos de HDL e adiponectina¹³⁰.

Lambrinoudaki *et al.*¹³¹ avaliaram mulheres na pós-menopausa com risco baixo e intermediário pelo SCORE, e observaram uma alta prevalência de aterosclerose subclínica identificada pela avaliação da EMI e presença de placas nas carótidas e nas artérias femorais, e pela avaliação da VOP carotídeo-femoral.

As propriedades elásticas das artérias tiveram seu uso difundido para estratificação de risco em muitas populações¹³², inclusive a Sociedade

Europeia de Hipertensão e a Sociedade Europeia de Cardiologia, em sua diretriz para o manejo da hipertensão arterial, sugerem a medida da VOP como método preferencial para acessar a elasticidade arterial aórtica e como ferramenta na detecção de dano subclínico em órgão-alvo, quando seu valor se encontra maior que 10 m/s¹³³.

1.5.3 Avaliação do escore de cálcio nas artérias coronárias (CAC) e da presença de calcificação na aorta (CA) ascendente e/ou descendente

A presença de cálcio nas artérias coronárias pode ser avaliada pela tomografia computadorizada e relaciona-se com a presença e a extensão da doença aterosclerótica¹³⁴.

Agatston *et al.*¹³⁵ descreveram, em 1990, o método de quantificação do cálcio coronário que é, atualmente, utilizado levando em consideração o produto da área total de cálcio por um fator derivado da densidade máxima, tem-se, assim, o escore de cálcio. Há duas formas para sua realização: a tomografia computadorizada de múltiplos detectores (TCMD) e a tomografia com emissão de feixe de elétrons (EBTC). Essa avaliação fornece informação complementar na estratificação de risco, em especial, para os indivíduos com risco intermediário pelo ERF^{134,136}. O consenso da *American Heart Association* traz o escore de cálcio como um método útil para estratificação de risco nos pacientes portadores de risco intermediário¹³⁷.

Greenland *et al.*¹³⁸ acompanharam 1.461 adultos assintomáticos, maiores que 45 anos, com, pelo menos, um fator de risco, numa mediana de 7,0 anos e pôde observar que o escore de cálcio coronário foi preditivo de risco de IAM e morte por DAC nos pacientes com ERF maior que 10%, mas não naqueles com escore menor que 10%. Outro estudo demonstrou, em 4.613 pacientes assintomáticos seguidos por 4,3 anos, que o escore de cálcio coronário, além ser preditor independente de risco cardiovascular, teve melhor desempenho que o ERF para esta finalidade¹³⁹.

Numa meta-análise publicada em 2004, Pletcher *et al.*¹⁴⁰ mostraram que há uma relação linear entre a ocorrência de evento coronário e o valor de escore de cálcio na tomografia computadorizada.

Em 2008, Detrano *et al.*¹⁴¹, no estudo MESA, avaliaram 6.722 indivíduos que foram divididos em quatro grupos raciais e seguidos por 3,8 anos. Constatou-se um aumento de 18 a 39% no risco de eventos coronários quando se dobrava o valor do escore de cálcio, além disso, mostrou que não havia diferença entre raça e grupos étnicos no valor preditivo do escore de cálcio. O mesmo grupo recentemente acompanhou, numa mediana de 7,6 anos, 1.330 pacientes com risco intermediário pelo ERF e mostrou que, quando associado ao escore de cálcio, houve uma melhor AUC (0,623 X 0,784) ROC e correta reclassificação dos pacientes comparado aos demais marcadores de risco avaliados (ITB, PCRus, história familiar de DAC, EMI carotídea e reatividade braquial)⁶⁶. Neste estudo, foram preditores independentes de risco para DCV, além do escore de cálcio, o ITB, a PCRus e a história familiar de DAC⁶⁶.

Kavousi *et al.*¹⁴², no estudo de Rotterdam, avaliaram 5.933 pacientes e concluíram que, dentre doze marcadores de risco, a adição do CAC ao SRF obteve a melhor acurácia no índice de reclassificação, 19,3% do total (39,3% nos pacientes de risco intermediário).

O escore de cálcio já foi avaliado em diferentes populações, os japoneses, por exemplo, parecem apresentar menores valores que a população branca, mas o mesmo não acontece com os “japoneses americanos”¹⁴³. Santos *et al.*¹⁴⁴ examinaram o escore de cálcio em 17.563 pacientes de três países, Estados Unidos, Brasil e Portugal, e observaram que os americanos exibem maior carga de doença que os brasileiros e os portugueses.

As mulheres com hipercolesterolemia familiar foram estudadas em nosso meio e foi detectado um aumento da prevalência de escore de cálcio alterado quando comparadas com aquelas do grupo controle (51,8% e 16,9%, respectivamente)¹⁴⁵.

Kuller *et al.*¹⁴⁶ avaliaram 272 mulheres na pós-menopausa no *Healthy Women Study* num período de 6 anos, para o surgimento de cálcio nas artérias coronárias, o que ocorreu em 36% das que apresentavam CAC igual a zero no exame basal, e esteve significativamente relacionado com a presença de placas carotídeas e calcificação na aorta no exame basal.

A CA detectada na tomografia também foi estudada por Santos *et al.*¹⁴⁷, que avaliaram 8.401 pacientes assintomáticos em um período de 5 anos e mostraram que a calcificação da aorta torácica se relacionou com a mortalidade por todas as causas, sendo independente dos fatores de risco e da presença de cálcio coronário.

1.6 Avaliação da espessura mediointimal e detecção de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita

A origem e o segmento proximal da artéria subclávia direita são facilmente visualizados na ultrassonografia devido à sua anatomia. Engelhorn *et al.*¹⁴⁸, em 2006, demonstraram que o aumento da EMI na origem da artéria subclávia direita à ultrassonografia poderia associar-se à DCV e, eventualmente, ser detectado de forma até mais precoce que o aumento da EMI das artérias carótidas.

Mais recentemente, um estudo de prevalência realizado com tomografia computadorizada demonstrou que a presença de calcificação da artéria subclávia é comum e relaciona-se com outros fatores de risco, como o tabagismo, HAS e calcificação em outros leitos vasculares, assim como se associou à presença da rigidez arterial aferida pela pressão de pulso¹⁴⁹.

Até o momento, pouco se sabe sobre a presença de placas ateroscleróticas, e a EMI na artéria subclávia direita e sua relação com a presença de placas em outros sítios e os demais fatores de risco, assim como não há estudos que mostrem se sua presença pode ser considerada também um preditor de risco cardiovascular.

1.7 Justificativa

Num universo de 30 milhões de brasileiras (32% da população feminina) na idade em que ocorre o climatério e, conseqüentemente, na pós-menopausa, a ocorrência da doença aterosclerótica tem impacto socioeconômico evidente. As manifestações cardiovasculares, algumas vezes, se apresentam de forma agressiva, podendo levar à morte ou, mesmo, ao comprometimento da qualidade de vida, em uma fase em que essa deve ser bastante produtiva.

Os escores de risco, como o de Framingham, mostram-se falhos na estratificação do risco cardiovascular nessa população, mas a prevalência de aterosclerose subclínica nas mulheres na pós-menopausa parece ser alta e subdiagnosticada.

Parece existir relação entre dados clínicos e laboratoriais com a espessura mediointimal e/ou a presença de placas nas artérias carótidas, com a rigidez arterial, o escore de cálcio nas artérias coronárias e a presença de calcificação aórtica. No entanto, não se conhece a relação destes dados com a espessura mediointimal e a presença de placas na artéria subclávia direita. Esses achados agregariam valor à estratificação de risco da DCV.

Pouco se sabe sobre a relação entre a presença de aterosclerose subclínica detectada pelos métodos de imagem e a expressão de mRNA de dos genes *TNFA*, *IL6*, *NOS3* e *ESR1*, uma vez que poderia indicar alterações vasculares inflamatórias em mulheres na pós-menopausa.

Nesse contexto, a identificação das mulheres mais suscetíveis ao desenvolvimento da doença cardiovascular possibilita a adoção de medidas como a mudança de hábitos de vida e, quando necessário, a intervenção terapêutica direcionada no controle dos fatores de risco.

Assim, a detecção da aterosclerose em sua fase subclínica parece ser de fundamental importância no manejo clínico e terapêutico das pacientes, possibilitando melhor prevenção de eventos cardiovasculares.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Primário

Determinar a prevalência da aterosclerose subclínica em mulheres na pós-menopausa com risco baixo e intermediário estimado pelo escore de Framingham, avaliando, nas artérias coronárias, o escore de cálcio, na aorta, a presença de calcificação e, nas artérias carótidas, a espessura mediointimal, a presença de placas ateroscleróticas e a rigidez arterial.

2.2 Secundários

Avaliar a espessura mediointimal e a presença de placas na artéria subclávia direita, identificando a sua correlação com dados clínicos e laboratoriais.

Avaliar a associação entre a expressão do mRNA dos genes *ESR1*, *TNFA*, *IL6* e *NOS3* com a presença de aterosclerose subclínica.

3 MÉTODOS

3 MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo observacional transversal, no qual foram incluídas pacientes ambulatoriais, da Rede Pública de Saúde, que, voluntariamente, responderam ao convite feito por cartazes distribuídos nos murais do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia (IDPC).

3.1.1 Fluxograma da seleção e realização dos exames das pacientes

Figura 1 - Fluxograma do estudo.

3.2 Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão:

- Idade de 40 a 65 anos;
- Na pós-menopausa, por causas naturais^{150,151};
- Não apresentar sintomas sugestivos ou conhecer ser portadora de doença cardiovascular;
- Não ser portadora de neoplasias, doenças neurológicas, AIDS ou diabetes mellitus;
- Não estar em uso de Terapia de Reposição Hormonal (TRH), derivados da soja, moduladores seletivos do receptor de estrógenos, hipolipemiantes ou tratamento para diabetes;
- Aceitar a participação no estudo, e assinar o termo de consentimento livre e esclarecido.

Critérios de exclusão:

- Perfil de alto risco pelo escore de Framingham;
- Glicemia sérica de jejum maior que 125mg/dL;
- Triglicérides acima de 400mg/dL;
- Pacientes com doenças hepáticas (transaminases ALT ou AST > 3x limite superior da normalidade), hipotireoidismo não controlado ou doenças renais crônicas (creatinina sérica > 1,5 mg/dL);
- Pacientes submetidas à intervenção coronariana cirúrgica ou percutânea prévia;
- Pacientes com exames que tenham documentado a presença de doença cardiovascular;
- Exames de imagem ou laboratoriais incompletos ou com qualidade inadequada para análise.

3.3 Avaliação clínica

As pacientes foram questionadas sobre os seguintes dados: data de nascimento, raça, estado civil, tabagismo, hipertensão, dislipidemia, idade da menopausa, tempo de pós-menopausa, ingestão de bebida alcoólica, estresse psicológico e atividade física. Também foram coletados dados antropométricos (peso, altura e cálculo do IMC), medidas da cintura, quadril, pescoço e relação cintura/quadril, e identificada a presença de síndrome metabólica.

3.3.1 Tabagismo

Foi definido como o uso contínuo de um ou mais cigarros ou de qualquer tipo ou quantidade de tabaco há, pelo menos, um mês. Ex-tabagista foi considerada a paciente fumante que interrompeu o uso do cigarro há mais de um mês^{152,153}.

3.3.2 Ingestão de bebida alcoólica

Foi definida como uma dose (cerca de 15g) ou mais de etanol, ao menos, três vezes por semana⁴⁷. A resposta foi sim ou não.

3.3.3 Estresse psicológico

A paciente foi questionada sobre a presença de estresse emocional no seu cotidiano. A resposta foi sim ou não.

3.3.4 Peso, altura e índice de massa corporal (IMC)

O peso e a altura foram aferidos em balança antropométrica e o IMC obtido pela divisão do peso, em quilogramas, pelo quadrado da altura, em metros ($\text{IMC}=\text{kg}/\text{m}^2$). As pacientes com $\text{IMC} < 25 \text{ kg}/\text{m}^2$ foram consideradas eutróficas, as pacientes com $\text{IMC} \geq 25 \text{ kg}/\text{m}^2$ e $< 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ foram consideradas portadoras de sobrepeso, e aquelas com $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ foram consideradas obesas¹⁵⁴.

3.3.5 Tempo de pós-menopausa e idade na menopausa

O tempo de pós-menopausa foi definido com o tempo transcorrido (em anos), desde a data da última menstruação até a data na inclusão no estudo. A idade na menopausa correspondeu à idade da paciente quando ocorreu a última menstruação.

3.3.6 História Familiar de DAC e DAC precoce

A presença de história familiar (HF) para DAC foi definida como a presença de manifestação de DAC em parente de primeiro grau. Foi

considerada DAC precoce quando presente em parente de primeiro grau, homem com idade inferior a 55 anos e mulher com idade inferior a 65 anos⁴¹.

3.3.7 Dislipidemia

Foi considerada portadora de dislipidemia a paciente que, após os exames laboratoriais, apresentava LDL $\geq$ 160mg/dL e/ou HDL $\leq$ 50mg/dL e/ou triglicérides $\geq$ 150mg/dL⁴¹.

3.3.8 Avaliação da pressão arterial (PA)

A PA foi aferida após 10 minutos de repouso, com esfigmomanômetro de mercúrio e com a paciente sentada. Foram consideradas hipertensas aquelas com PA sistólica $\geq$ 140 mmHg e/ou com PA diastólica $\geq$ 90 mmHg, e também aquelas em uso de medicação anti-hipertensiva^{133,155}.

3.3.9 Avaliação da circunferência da cintura e do quadril

A medida da circunferência da cintura foi realizada no ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca ântero-superior. A medida do quadril foi realizada na altura da crista ilíaca ântero-superior. Todas as medidas foram feitas com fita métrica não elástica, com a paciente de pé, no final da expiração. A divisão do valor da circunferência da cintura pelo valor da circunferência do quadril forneceu a relação cintura/quadril^{34,41}.

3.3.10 Síndrome metabólica na mulher

Definida como presença de obesidade abdominal (dada pela medida da circunferência da cintura – ou abdominal), associada, ao menos, a duas das seguintes condições: triglicéides ≥ 150 mg/dL ou tratamento para hipertrigliceridemia, HDL < 50 mg/dL, PA sistólica ≥ 130 mmHg e diastólica ≥ 85 mmHg e glicemia de jejum ≥ 100 mg/dL.

Conforme os critérios da Federação Internacional de Diabetes (IDF), para mulheres brancas, de origem europeia, negras, sul-asiáticas, ameríndias e chinesas, a circunferência abdominal ≥ 80 cm é considerada obesidade abdominal, sendo, atualmente, também aceita para as japonesas^{41,156}.

3.3.11 Resistência à insulina (RI)

Avaliada pelo cálculo do HOMA-IR (*Homeostatic model assessment*) levando-se em consideração o valor sérico de insulina ($\mu\text{U/mL}$) + valor da glicemia de jejum (mmol/L) /22.5¹⁵⁷.

3.3.12 Cálculo do risco cardiovascular

De posse dos dados clínicos e laboratoriais, foi calculado o escore de risco de Framingham – avaliação de risco de evento coronariano (IAM ou morte) em 10 anos – o algoritmo leva em consideração a idade, o sexo, o Colesterol total, o HDL-c, tabagismo, PAS, e tratamento para hipertensão e a presença de diabetes^{54,86}.

Categorias de risco⁶⁸⁻⁷⁰;

- Baixo risco: < 5%;
- Risco intermediário: 5 a 20%;
- Alto risco: > 20%.

3.4 Exames laboratoriais

Colhidos em jejum de 12 horas na segunda visita da paciente. Foram eles: glicemia, hemograma, ALT (alanina aminotransferase), AST (aspartato aminotransferase), creatinina, ácido úrico, colesterol total e frações, Apo A1, Apo B, triglicérides, fibrinogênio, creatinina, insulina, TSH (hormônio estimulante da tireoide), T4 livre, LH (hormônio luteinizante), progesterona, FSH (hormônio folículo estimulante), estradiol, testosterona total, cálcio, PCR-us e NO¹⁵⁸. Também foi solicitada às pacientes uma coleta de urina para realização da relação albumina/creatinina urinária (microalbuminúria em amostra isolada).

As concentrações séricas de triglicérides, colesterol total e HDL-c foram realizadas pelo método colorimétrico – peroxidase, sendo que as concentrações séricas VLDL-c e LDL-c foram calculadas segundo a equação de Friedwald¹⁵⁹. O colesterol não HDL foi calculado subtraindo-se o valor do HDL-c do colesterol total.

As concentrações séricas de ALT e AST foram realizadas pelo método cinético – IFCC – e da creatinina sérica pelo colorimétrico – Jaffe. A Proteína C Reativa ultrasensível foi avaliada pela nefelometria e a microalbuminúria em amostra de isolada de urina por turbidimetria. As dosagens de ácido úrico foram realizadas pelo método enzimático uricase.

As determinações de TSH, T4 livre e insulina foram realizadas por quimioluminescência, assim como as de LH, FSH, estradiol e testosterona total. As dosagens de Apo A1 e Apo B foram realizadas por nefelometria e do fibrinogênio pelo método de Klauss modificado.

Os exames laboratoriais encontram-se listados, com os valores de referência praticados no laboratório do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, assim como os métodos utilizados, no Anexo A.

Para a análise da expressão gênica, foi colhido sangue total em tubo EDTA (*Ethylenediamine tetraacetic acid*). A coleta foi realizada no mesmo dia da coleta dos demais exames laboratoriais.

A dosagem sérica do nitrato foi realizada após processamento e detecção pelo equipamento Sievers® Óxido Nítrico Analyzer (NOA 280), que mede o óxido nítrico e seus produtos de reação, nitrito, nitrato e nitrosotióis. O sistema utiliza o cloreto de vanádio III em ácido clorídico¹⁶⁰.

3.5 Análise da expressão gênica

3.5.1 Extração e quantificação de RNA

O RNA total foi extraído de sangue total e utilizou-se o kit QIAamp® RNA Blood Mini kit, (QIAGEN, GmbH, Alemanha) seguindo o protocolo do fabricante. A amostra de DNA foi armazenada a -80°C.

A quantificação do RNA extraído foi realizada pelo método fluorimétrico utilizando o equipamento QUBIT® (Life Technologies, Applied Biosystems, EUA) com os reagentes do QUBIT® RNA Assay Kit (Life Technologies Applied Biosystems, EUA), cuja capacidade de detecção está entre 250 pg/μL e 100 ng/μL.

3.5.2 Análise de expressão gênica por PCR em tempo real

A quantificação da expressão de mRNA dos genes *ESR1*, *TNFA*, *IL6* e *NOS3* foi feita por reação em cadeia pela polimerase em tempo real (RT-

PCR). Inicialmente, o cDNA foi produzido a partir de XX µg de RNA por transcrição reversa utilizando-se o kit *High Capacity cDNA Reverse Transcription* (Life Technologies Applied Biosystems, EUA) seguindo o protocolo descrito pelo fabricante. O cDNA obtido foi armazenado a -20°C.

Para a amplificação da expressão, foi utilizando o sistema TaqMan RT-qPCR que contém sondas marcadas com fluoróforos de sinal (*reporter*) e bloqueador (*quencher*) do tipo MGB (Applied Biosystems, EUA). Os reagentes foram fornecidos em solução denominada *Master Mix* (Applied Biosystems, EUA) contendo MgCl₂ 25 mM, dNTPs 10 mM, AmpEraseR UNG 30U, enzima AmpliTaq Gold 150 U e tampão de reação (TaqMan® Universal PCR Master Mix), em volume final de 25 µL por reação.

A amplificação foi realizada utilizando-se o programa: (1) um ciclo de 2 min a 50°C; (2) um ciclo de 10 min a 95°C; (3) 40 ciclos de 15 s a 95°C e 1 minuto a 60°C. Os sinais de fluorescência emitidos pelos fluoróforos das sondas TaqMan foram detectados pelo equipamento ABI Prism 7500 Fast (Applied Biosystems, EUA). Os dados foram analisados utilizando-se o programa *Sequence Detection Software* v1.2.3 (Applied Biosystems, EUA) que gera curvas semilogarítmicas dos sinais de amplificação.

A análise da expressão gênica foi realizada por método de quantificação relativa utilizando o gene de referência *GAPDH* que foi selecionado a partir da análise de 6 genes de referência (*GAPDH*, *HRPT1*, *SDHS*, *HMBS*, *B2M* e *UBC*) em uma amostragem de cDNAs das pacientes do estudo, cujos dados foram analisados utilizando-se o programa geNorm v 3.5 (PrimerDesign Ltd, Reino Unido), além disso, as eficiências dos ensaios dos genes em estudo e de referência foram determinadas¹⁶¹.

Para o cálculo da expressão gênica relativa, foi utilizada a equação descrita por Livak e Schmittgen¹⁶².

3.6 Ultrassom vascular

Os exames ultrassonográficos foram realizados de forma convencional, porém associando-se a avaliação pela radiofrequência (RF) da EMI e da rigidez arterial, obtendo-se os dados que se seguem abaixo, guardados por meio de arquivamento digital. A análise destes dados foi feita em tempo real e em uma estação de trabalho posteriormente.

3.6.1 Ultrassom de carótidas e da artéria subclávia direita

Os exames foram realizados no equipamento de ultrassonografia, modelo MyLab 60, NS 4775 (Esaote, Gênova, Itália), com utilização de um transdutor linear (modelo LA332; 11 – 3 MHz) do mesmo fabricante.

Em um estudo completo das artérias carótidas extracranianas, foi realizada a avaliação automatizada da EMI carotídea, e, por meio da detecção de placas ateroscleróticas ao estudo bidimensional e análise do fluxo ao Doppler pulsado e colorido nas carótidas comum, interna e externa, avaliou-se a presença de obstruções.

A avaliação da EMI foi realizada conforme orientações contidas no Consenso da Sociedade Americana de Ecocardiografia publicado em 2008⁶⁵. As imagens da EMI foram adquiridas estudando-se as artérias carótidas comuns direita e esquerda em três ângulos de incidência (anterior, lateral e posterior) – Figura 2.

Figura 2 - Posição da cabeça e orientação do transdutor no exame da artéria carótida⁶⁵.

As medidas foram realizadas no seu segmento distal, 1 a 2 cm da bifurcação carotídea. O complexo mediointimal, na parede posterior, adequadamente visualizado, com profundidade que não excedeu 4 cm, sem zoom e num segmento retilíneo de cerca de 1 centímetro^{65,88} – Figuras 3 e 4. As análises foram feitas em tempo real pelo método da RF e as medidas realizadas no *software* do equipamento específico para este fim chamado ^{RF}QIMT (*Quality Intima Media Thickness*). Seguindo as orientações para este método, as medidas foram expressas na tela como média e foi fornecido um desvio-padrão (DP) que indicou a estabilidade dessas, sendo consideradas adequadas quando o DP foi inferior a 20. Aguardou-se um mínimo de seis batimentos cardíacos com DP adequado para a aquisição da medida. Conforme a literatura, foi realizada a média composta dos valores encontrados à direita e à esquerda⁶⁵. Os valores da EMI foram avaliados segundo normograma estabelecido no estudo MESA (*Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*), que leva em consideração idade, sexo e raça, e encontra-se publicado no consenso acima citado. Foram considerados com risco aumentado os pacientes cuja medida da EMI foi maior ou igual ao percentil 75 para idade, sexo e raça⁶⁵ – Anexo B.

A identificação de placas nas artérias carótidas foi feita segundo o Consenso de Mannheim⁸⁹, assim como o grau de obstrução cuja definição seguiu os preceitos do Consenso da Sociedade Americana de Radiologia¹⁶³.

Figuras 3 e 4 - Medida da EMI pelo método da radiofrequência.

A avaliação da artéria subclávia direita foi feita, em seguida, no mesmo equipamento.

A medida da EMI foi realizada manualmente, ponto a ponto, na parede posterior da artéria subclávia direita em sua origem e segmento proximal. Foi realizada a média de no mínimo cinco medidas. Também, quando presente, foi descrita a presença de placa aterosclerótica na origem e/ou no segmento proximal da artéria subclávia direita – Figuras 5 e 6.

Figuras 5 e 6 – Placa na origem da artéria subclávia direita.

3.6.2 Avaliação da rigidez arterial

Para a avaliação da rigidez arterial, utilizamos o mesmo equipamento usado na medida da EMI. As pacientes foram mantidas em repouso por 10 minutos e, na sequência, as carótidas comuns direita e esquerda tiveram

suas imagens avaliadas em tempo real pelo método da RF conforme orientação do fabricante.

As imagens da distensão carotídea, ao longo do tempo, durante o ciclo cardíaco, foram analisadas pelo *software* do equipamento chamado ^{RF}QAS (*Quality Arterial Stiffness*) – Figuras 7 e 8. O equipamento detecta os “ecos” das paredes da artéria carótida (*wall tracking*), seus diâmetros sistólico e diastólico, e sua distensão, o que gera graficamente a onda de distensão, cujas características combinadas com os valores da PA medida na artéria braquial com o esfigmomanômetro, refletem a pressão local – Figuras 9 e 10.

A pressão local na artéria carótida é tida como uma boa estimativa da pressão arterial central que é a mesma da aorta ascendente. Foram fornecidos, então, os dados utilizados para a medida da rigidez arterial. Em nosso estudo, a rigidez arterial foi avaliada pela velocidade de onda de pulso (VOP)¹⁶⁴.

Assim como para a avaliação da EMI, a rigidez arterial também teve a qualidade da medida expressa na tela do equipamento em forma de desvio-padrão (DP). Aguardou-se um mínimo de seis batimentos com DP considerado adequado (DP inferior a 30 para rigidez arterial) para aquisição e processamento da imagem. Os valores da VOP utilizados nas análises foram referentes ao percentil 75 da amostra (valores contidos no terceiro quartil), sendo considerados elevados os valores que se encontraram acima deste percentil¹⁶⁵.

A pressão de pulso (PP), por sua vez, foi obtida pela diferença entre a PA sistólica e a PA diastólica.

Figuras 7 e 8 - Aquisição da imagem para a avaliação da rigidez arterial.

Figuras 9 e 10 - Ondas de Pulso aferidas nas artérias carótidas.

3.7 Avaliação do Escore de Cálcio Coronário e presença de calcificação na aorta ascendente e/ou descendente pela Tomografia

As pacientes foram submetidas à aferição do escore de cálcio em tomógrafo com 64 fileiras de detectores, do modelo Aquilion (Toshiba Medical, Toshiogi, Japão), sem uso de contraste, não sendo necessário o jejum, de acordo com o protocolo padrão de estudos, que inclui:

- Posicionamento do paciente em decúbito dorsal horizontal;
- Colocação de eletrodos para o registro eletrocardiográfico durante a realização do exame;

- Obtenção de imagem inicial que permite a identificação precisa da situação do coração no interior da caixa torácica;
- Aquisição de imagens com 3,0 mm de espessura (média espessura), sem intervalo entre si, interessando à área da silhueta cardíaca e ao segmento ascendente da aorta torácica;
- A duração do exame é em torno de 10 a 15 minutos.

A medida do escore de cálcio coronário e a identificação de calcificação na aorta ascendente ou descendente foram realizadas em estação de trabalho computadorizada com programas específicos para este fim. A presença de calcificação aórtica foi definida como qualquer calcificação detectada na aorta ascendente ou descendente.

A presença do cálcio foi aferida quando sua densidade na artéria estava acima de 130 Housfield units (HU) em, ao menos, três pixels contínuos ($>1 \text{ mm}^2$) na mesma coronária e/ou na aorta. O escore de cálcio coronário consistiu na soma dos escores individuais das artérias coronárias direita e esquerda. O resultado foi dado como positivo na presença de escore de cálcio (Agatston) maior do que zero¹³⁵.

O escore de cálcio também foi analisado dividido em categorias: zero (ausência de cálcio nas artérias coronárias), escore de cálcio entre 1-100, entre 100-400 e maior que 400. Também foi avaliado segundo os critérios do estudo MESA, considerando-se positivos os exames que exibem escore de cálcio acima do percentil 75 para idade, sexo e etnia¹⁰⁰.

3.8 Avaliação da aterosclerose subclínica

No presente estudo, foi considerada aterosclerose subclínica a presença de, ao menos, uma das condições a seguir: EMI aumentada nas artérias carótidas, presença de placas ateroscleróticas nas artérias carótidas, presença de rigidez arterial (VOP aumentada) aferida nas artérias

carótidas, presença de calcificação na aorta ascendente e/ou descendente ou a presença de escore de cálcio maior que zero.

Para a determinação da intensidade ou da carga do acometimento individual pela aterosclerose, considerou-se o número de “sítios” acometidos, como se segue: carótidas (EMI aumentada e/ou placas ateroscleróticas), aorta (presença de calcificação), coronárias (escore de cálcio > 0) e a rigidez arterial (VOP). Observe-se que, para esta análise, foi considerada a rigidez arterial como um “sítio” de acometimento, por refletir um dano vascular subclínico de caráter funcional, pois a pressão local na artéria carótida é tida como uma boa estimativa da pressão arterial central que é a mesma da aorta ascendente. Esses exames avaliam uma grande variedade de características da anatomia e fisiologia vascular, refletindo, assim, o processo patológico da aterosclerose.

3.9 Análise estatística

3.9.1 Cálculo do tamanho da amostra

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado no Laboratório de Epidemiologia e Estatística (LEE) do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, e levou em consideração a prevalência de aterosclerose subclínica em mulheres na pós-menopausa de 55% em estudos de EMI e presença de placas ao Doppler de carótidas, e 36% ao Escore de Cálcio pela Tomografia de tórax^{112,131,146,166}.

Para estimar a prevalência da doença utilizamos, a proporção de 50%, visto que esta é a proporção que resultará na maior variabilidade, com uma precisão de 15%, 5% de nível de significância, e poder de 90% necessitaríamos de uma amostra de 114 pacientes.

3.9.2 Análises estatísticas

As variáveis contínuas foram expressas em média $\pm$ desvio-padrão ou em mediana com o valor mínimo e máximo, conforme o dado avaliado. As variáveis qualitativas foram expressas em valor absoluto e porcentagens. Para variáveis categóricas, foi usado o teste do Qui-quadrado ou teste exato de Fisher e, para as variáveis contínuas, o teste de Wilcoxon, ou, no caso de mais de duas categorias, o teste de Kruskal-Wallis. Estas análises foram realizadas a fim de verificar a relação entre os dados clínicos e laboratoriais, e de expressão gênica com a presença da aterosclerose subclínica.

A correlação entre os resultados dos métodos diagnósticos com os dados clínicos, laboratoriais e de expressão gênica deu-se pela correlação de Pearson ou Spearman (dados paramétricos ou não paramétricos).

Foi calculada a sensibilidade, especificidade, VPP (valor preditivo positivo), VPN (valor preditivo negativo) dos testes diagnósticos a fim de se identificar uma possível hierarquia clínica para a solicitação desses. O desempenho do ERF em diagnosticar a presença da aterosclerose subclínica foi avaliado por uma curva ROC (*receiver operating characteristic*), determinando o valor com a melhor sensibilidade e especificidade, e, também, a área sob a curva (AUC – *area under curve*), que corresponde à medida resumo do desempenho do teste.

Utilizamos, posteriormente, um modelo de regressão logística ajustado que levou em consideração as variáveis que mostraram significância estatística e as que estiveram próximas da significância na análise univariada para obtermos os determinantes da presença da aterosclerose subclínica. Após, realizamos o método de *stepwise backward* para obtermos o modelo reduzido. Da mesma forma, realizamos modelos de regressão logística ajustados para avaliarmos individualmente os determinantes do escore de cálcio coronário > 0 , do aumento da rigidez arterial (VOP), da EMI carotídea aumentada, da presença de placas nas artérias carótidas, na artéria subclávia direita e calcificação na aorta.

A variabilidade interobservador foi realizada para as medidas da EMI carotídea e para a VOP pelo método de Bland e Altman, em que a diferença entre as medidas de cada observador e suas as médias foram apresentadas graficamente. Foi calculada a média das diferenças e o nível dos limites de concordância em 95%, considerando-se dois desvios-padrão da diferença¹⁶⁷. Também foi calculado o coeficiente de correlação de concordância (CCC) para as medidas dos observadores. O cálculo do CB (coeficiente de “bias”) tem como objetivo manter a inclinação da reta em torno de 45°. Para caracterizar o CCC, é necessário correlacioná-lo com o coeficiente de correlação de Pearson. Seus escores variam de -1 a +1, com os valores maiores refletindo uma concordância forte. Foi realizado o teste pareado de Wilcoxon para avaliar a diferença entre as médias dos examinadores^{168,169}.

Para as análises, o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

3.10 Aspectos éticos

3.10.1 Termo de consentimento

O termo de consentimento está anexado conforme as determinações do Comitê de Ética em Pesquisa desta Instituição (Anexo C).

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IDPC com o número de protocolo 3850.

3.10.2 Condições de segurança

O ultrassom é uma técnica que não utiliza radiação e não apresenta efeitos adversos agudos ou crônicos.

A Tomografia Computadorizada para a realização do escore de cálcio é uma técnica que não utiliza contraste, o que reduz a possibilidade de complicações. A dose de radiação utilizada para este fim, no protocolo utilizado na nossa instituição, é inferior a 1 mSv, que é menor do que exposição anual média consequente à radiação ambiental. Não há relatos na literatura referente a efeitos adversos consequentes a este tipo de exposição.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

Foram encaminhadas para avaliação clínica 162 pacientes (p) que aceitaram participar do estudo. Destas, treze não foram incluídas, nove por estarem em uso de estatinas e quatro em terapia de reposição hormonal (TRH).

Cento e quarenta e nove pacientes preencheram o termo de consentimento livre e esclarecido. Onze pacientes foram excluídas do estudo: em quatro, os exames foram compatíveis com diabetes, em duas, com diabetes e hipotireoidismo, em três, com hipotireoidismo, sendo que destas, uma também apresentou o escore de Framingham calculado como alto risco, além de uma que apresentava triglicérides acima de 400mg/dL, e uma que não foi submetida à tomografia.

4.1 Características clínicas e laboratoriais

Os dados referentes às características clínicas e antropométricas estão apresentados nas Tabelas 1 e 2. A idade média foi de $56,15 \pm 4,93$ anos e IMC de $27,24 \pm 4,95$ (kg/m²). O tempo médio de pós-menopausa foi de $8,25 \pm 5,97$ anos, a idade na menopausa, $48,08 \pm 5,17$ anos, e o ERF foi de $2,64 \pm 2,13$ (mediana: 2; mínimo: 1 e máximo: 14).

Tabela 1 – Variáveis clínicas e dados antropométricos.

Parâmetro	Média ± DP	Mediana (valor mínimo e máximo)
Idade (anos)	56,15 ± 4,93	56 (43 – 65)
Peso (kg)	67,81 ± 12,32	65,5 (43 – 104)
Altura (cm)	157,93 ± 7,1	157 (140 – 176)
IMC (kg/m ²)	27,24 ± 4,95	26,9 (17,4 – 43,3)
Cintura (cm)	87,79 ± 10,29	86 (62 – 112)
Quadril (cm)	103,88 ± 9,3	103 (81 -139)
Relação cintura/quadril	0,84 ± 0,06	0,84 (0,71 – 1,03)
Tempo pós-menopausa (anos)	8,25 ± 5,97	6 (1 – 26)
Idade na menopausa (anos)	48,08 ± 5,17	48 (36 – 58)
Pressão arterial sistólica (mmHg)	127,43 ± 15,93	120 (100 – 170)
Pressão arterial diastólica (mmHg)	83,7 ± 7,69	80 (70 – 100)
ERF (%)	2,64 ± 2,13	2 (1 – 14)

NOTA: IMC: Índice de massa corporal; ERF: Escore de risco de Framingham;
DP: Desvio-padrão

Quanto às características clínicas, houve predomínio da raça branca (55,1%). Quarenta e quatro pacientes (31,9%) apresentavam história familiar de DAC, dentre elas, dezoito (13%) preencheram os critérios para DAC precoce. Após o resultado dos exames laboratoriais, foram encontradas 69 pacientes (50%) com critérios para dislipidemia. Setenta e cinco pacientes (54,3%) foram consideradas hipertensas, sendo que 35p (25,36% da amostra e 46,7% das hipertensas) encontravam-se em uso de medicamentos anti-hipertensivos. Quarenta e cinco pacientes (32,6%) preencheram os critérios para síndrome metabólica.

O IMC foi apresentado em valores absolutos e dividido em três categorias: 48p foram consideradas eutróficas (34,8%), 61p com sobrepeso (44,2%) e 29p (21%) obesas.

Tabela 2 – Características clínicas.

Parâmetro		N (%) Total=138
Raça	Branca	76 (55,1%)
	Negra	54 (39,1%)
	Amarela	8 (5,8%)
HAS		75 (54,3%)
Tabagismo		30 (21,7%)
Ex-tabagismo		33 (23,9%)
HF DAC		44 (31,9%)
HF DAC precoce		18 (13%)
Dislipidemia		69 (50%)
Prática de exercícios físicos		46 (33,3%)
Estresse psicológico		72 (52,2%)
Álcool		38 (27,5%)
Risco baixo ERF (< 5%)		117 (84,8%)
Risco Intermediário ERF (5 a 20%)		21 (15,2%)
Síndrome Metabólica		45 (32,6%)

NOTA: HF DAC: História familiar de doença arterial coronária; ERF: escore de risco de Framingham.

Os valores encontrados nos exames laboratoriais encontram-se listados na tabela 3.

Tabela 3 – Valores dos exames laboratoriais.

Dado laboratorial	Valor médio $\pm$ DP
Glicemia (mg/dL)	89,96 $\pm$ 8,22
Hemoglobina (g/dL)	13,68 $\pm$ 1,02
Fibrinogênio (mg/dL)	320,86 $\pm$ 64,93
Colesterol total (mg/dL)	219,79 $\pm$ 34,79
HDL- c (mg/dL)	58,62 $\pm$ 15,72
LDL- c (mg/dL)	136,43 $\pm$ 33,22
VLDL-c (mg/dL)	24,84 $\pm$ 11,95
Colesterol não HDL	161,17 $\pm$ 35,14
Triglicérides (mg/dL)	124,12 $\pm$ 59,77
Cálcio (mmol/L)	9,23 $\pm$ 0,39
Apo A1 (mg/dL)	152,04 $\pm$ 23,63
Apo B (mg/dL)	102,74 $\pm$ 23,69
Relação Apo B/Apo A1	0,70 $\pm$ 0,21
Relação alb/creat urinária (mg/g)	19,74 $\pm$ 26,95
LH (mUI/ml)	31,13 $\pm$ 11,18
FSH (mg/dL)	79,38 $\pm$ 26,82
Progesterona (ng/mL)	0,33 $\pm$ 0,32
Estrogênio (pg/mL)	14,7 $\pm$ 11,3
Testosterona (ng/mL)	23,3 $\pm$ 16,9
PCR-us mg/L	3,14 $\pm$ 2,6
HOMA-IR	1,55 $\pm$ 0,91
Óxido nítrico (μ Mol)	8,5 $\pm$ 4,84

NOTA: HDL-c: HDL-colesterol; LDL-c: LDL-colesterol; VLDL-c: VLDL-colesterol; Apo A1: apolipoproteína A1; Apo B: apolipoproteína B; Relação Apo B/Apo A1: relação apolipoproteína B/apolipoproteína A1; Relação alb/creat urinária: relação albumina/creatinina urinária; LH: hormônio luteinizante; FSH: hormônio folículo estimulante; PCR-us: proteína C reativa ultrassensível; HOMA- IR (*homeostatic model assessment*).

4.2 Avaliação da aterosclerose subclínica

4.2.1 Prevalência e distribuição da aterosclerose subclínica

Os dados referentes à avaliação das artérias carótidas (EMI e placas ateroscleróticas), da rigidez arterial e da tomografia encontram-se na Tabela 4.

Observou-se que, das 138 pacientes, 63 (45,7%) apresentavam EMI de carótidas acima do percentil 75, segundo o normograma do estudo MESA (Anexo B). Placas ateroscleróticas nas artérias carótidas estavam presentes em 52 pacientes (37,7% do total).

Das 138 pacientes, a tomografia apresentou cálcio coronário > 0 em 33p (23,9%). Utilizando a classificação do escore de cálcio coronário acima do percentil 75, de acordo com o estudo MESA, foram 21 pacientes (15,2%). Quando subdividimos o cálcio coronário em igual a 0, entre 1 e 100 e maior que 100, obtivemos a seguinte distribuição: 105p (76,1%), 28p (20,3%) e 5p (3,6%), respectivamente, sendo que nenhuma paciente apresentou cálcio coronário maior que 400. Foram detectadas calcificações na aorta ascendente e/ou descendente em 63p (45,7%).

O percentil 75 da população estudada, para a análise da velocidade de onda de pulso (VOP), foi de 9,2 m/s, portanto, 35 pacientes encontravam-se (25,4%) com VOP acima deste valor.

Tabela 4 – Prevalência de aterosclerose subclínica – exames positivos (%).

Exame positivo	n(%)
EMI carotídea aumentada	63 (45,7%)
Placa artéria carótida	52 (37,7%)
EMI aumentada e/ou placa carotídea	86 (62,3%)
Escore de Cálcio > 0	33 (23,9%)
Calcificação na aorta	63 (45,7%)
VOP > 9,2 m/s	35 (25,4%)

NOTA: EMI: Espessura mediointimal; VOP: Velocidade de onda de pulso.

Observou-se que a distribuição da aterosclerose subclínica foi variável, estando, muitas vezes, presente simultaneamente em mais de um local, por exemplo, placa na carótida e calcificação na aorta na mesma paciente e/ou em forma de aumento da rigidez arterial, elevando, assim, a intensidade do acometimento.

No caso das artérias carótidas, o acometimento foi em forma de EMI aumentada e/ou presença de placa aterosclerótica, assim considerada como aterosclerose carotídea, para a análise da intensidade do acometimento. A presença de uma e/ou outra totalizou 86p (62,3%).

O acometimento da aterosclerose subclínica se deu como se segue: um sítio em 44 pacientes (31,9%), dois em 39p (28,3%), três em 21p (15,2%) e quatro em 8p (5,8%). Vinte e seis pacientes (18,8%) não apresentaram alteração em nenhum sítio avaliado, conforme a figura 1.

Figura 11 - Aterosclerose subclínica – intensidade do acometimento

O escore de risco de Framingham e a aterosclerose subclínica se dispuseram da seguinte forma: 117p (84,8%) foram classificadas como de baixo risco. Destas, 94p (80,3%) apresentavam algum tipo de acometimento vascular subclínico. Das 21p (15,2%) classificadas como de risco intermediário, 18p (85,7%) apresentavam acometimento vascular subclínico – Figura 12.

Figura 12 – Aterosclerose subclínica e Escore de Risco de Framingham (ERF).

4.2.2 Marcadores relacionados à presença de aterosclerose subclínica

Na tabela 5, estão descritas as variáveis que envolvem a relação entre os dados clínicos e a presença de aterosclerose subclínica. Notou-se que os pacientes com aterosclerose subclínica exibiram idade mais elevada, assim como o IMC, o ERF, o tempo de pós-menopausa, a relação cintura/quadril, a PAS, PAD e a PP.

Na tabela 6, podemos observar a relação entre os dados laboratoriais e a presença de aterosclerose subclínica. Houve associação significativa com maiores valores de glicemia e relação Apo B/Apo A1, e menores de HDL-c, Apo A1 e LH.

Tabela 5 – Associação dos dados clínicos com a aterosclerose subclínica (AS).

Variável	AS ausente n = 26	AS presente n = 112	p
Idade	53,5 ± 4,71	56,8 ± 4,78	0,005
ERF	2,22 ± 1,7	2,79 ± 2,3	0,019
Rel c/q	0,82 ± 0,08	0,85 ± 0,06	0,035
PAS	118,5 ± 12,6	129,5 ± 16,9	<0,001
PAD	79,6 ± 8,2	84,6 ± 7,3	0,003
PP	38,9 ± 7,7	44,9 ± 12,4	0,025
IMC	26,6 ± 3,5	27,6 ± 5,2	0,039
TM	6,27 ± 5,3	8,71 ± 6,0	0,019

NOTA: ERF: escore de risco de Framingham; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso; IMC: índice de massa corporal; TM: tempo de pós-menopausa.

Tabela 6 - Associação entre os dados laboratoriais e a aterosclerose subclínica.

Variável	AS ausente n = 26	AS presente n = 112	p
Glicemia	86,7 ± 7,86	90,7 ± 8,15	0,019
HDL-c	63,5 ± 15,3	57,5 ± 15,7	0,042
Apo A1	162,4 ± 30,9	149,7 ± 21,6	0,008
Rel Apo B/Apo A1	0,62 ± 0,25	0,72 ± 0,2	0,01
LH	35,9 ± 10,9	30 ± 11	0,007

NOTA: LH: hormônio luteinizante; HDL-c: HDL-colesterol; Apo A1: apolipoproteína A1; Rel Apo B/Apo A1: relação apolipoproteína B/apolipoproteína A1.

Também a presença de aterosclerose subclínica relacionou-se com a presença de HAS ($p=0,002$; OR: 4,2) na análise univariada.

Quando observamos por número de sítios acometidos pela aterosclerose subclínica, houve uma correlação positiva com o ERF, ou seja, este foi maior conforme aumentou o número de sítios acometidos ($r=0,37$; $p<0,001$), como demonstra a tabela 7.

O ERF apresentou uma área sob a curva (AUC) de 0,643 para a detecção da aterosclerose subclínica, com o melhor nível identificado em 2% de risco em 10 anos, com sensibilidade de 68% e especificidade de 42% – Figura 13.

Figura 13 – Curva ROC do ERF como preditor de aterosclerose subclínica.

Notou-se, também, que houve uma correlação positiva entre o número de sítios acometidos pela aterosclerose subclínica e a idade, a circunferência da cintura, a relação cintura/quadril, a PAS, PAD, PP, níveis séricos de NO, relação albumina/creatinina urinária, Apo B e relação Apo B/Apo A1. Também houve uma correlação inversa com os níveis de LH – tabela 7.

Tabela 7 – Correlação entre a intensidade da aterosclerose subclínica com dados clínicos e laboratoriais.

Variável	r	p
Idade	0,38	<0,001
ERF	0,37	<0,001
TM	0,28	0,001
Cintura	0,17	0,043
Rel c/q	0,24	0,005
PAS	0,32	<0,001
PAD	0,23	0,006
PP	0,26	0,002
Rel alb/creat	0,22	0,012
Apo B	0,20	0,02
Rel ApoB/ApoA1	0,22	0,011
NO	0,20	0,026
LH	-0,24	0,006

NOTA: ERF: escore de risco de Framingham; TM: tempo de pós-menopausa; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso; Rel alb/creat: relação albumina/creatinina urinária; Apo B: apolipoproteína B; Rel Apo B/Apo A1: relação apolipoproteína B/apolipoproteína A1; NO: óxido nítrico; LH: hormônio luteinizante.

4.2.3 Determinantes da presença de aterosclerose subclínica pela regressão logística

No modelo de regressão logística, a idade, assim como a PAS e a Apo A1, foram variáveis que se associaram de forma independente à presença de aterosclerose subclínica, conforme apresentado na tabela 8. A relação ApoB/ApoA1 esteve próxima à significância estatística.

Tabela 8 – Determinantes da presença de aterosclerose subclínica pela regressão logística.

Variável	OR	IC 95%	p
Idade	1,144	1,032 – 1,369	p=0,011*
PAS	1,041	1,003 – 1,081	p=0,034*
Apo A	0,973	0,952 – 0,994	p=0,011*
Rel Apo B/Apo A1	1,023	0,999 – 1,047	p=0,062

NOTA: OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confiança; PAS: pressão arterial sistólica; Apo A1: apolipoproteína A1; Rel Apo B/Apo A1: relação apolipoproteína B/apolipoproteína A1 * Valores p<0,05.

4.3 Detecção da aterosclerose subclínica pelos exames de imagem

4.3.1 Avaliação do escore de Cálcio Arterial Coronário (CAC)

4.3.1.1 Marcadores da presença de CAC > 0

Na tabela 9, foram descritas as relações entre os dados clínicos, laboratoriais e demais exames presença do CAC > 0. Notou-se que a idade, o ERF, a relação cintura/quadril, a PAS e a PAD estavam significativamente aumentados nas pacientes com CAC > 0, enquanto os valores da hemoglobina e da progesterona encontravam-se reduzidos.

Tabela 9 – Variáveis associadas com a presença de CAC > 0.

Variável	CAC = 0 n=105	CAC > 0 n=33	p
Idade	55,7 ± 4,8	57,8 ± 5,2	0,03*
ERF	2,37 ± 1,7	3,48 ± 2,97	0,031*
Rel c/q	0,84 ± 0,07	0,86 ± 0,06	0,049*
PAS	125,8 ± 15,2	132,7 ± 17,2	0,018*
PAD	83 ± 7,6	85,9 ± 7,9	0,043*
Hb	13,8 ± 0,96	13,25 ± 1,1	0,01*
Progesterona	0,36 ± 0,32	0,26 ± 0,3	0,039*
EMI carótidas	0,69 ± 0,13	0,78 ± 0,2	0,024*

NOTA: CAC: calcificação arterial coronária; ERF: escore de risco de Framingham; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; LH: hormônio luteinizante; EMI: espessura medointimal.

Observou-se, ainda, que a EMI carotídea apresentava-se significativamente aumentada nas pacientes com CAC > 0 (tabela 9).

As pacientes com risco intermediário pelo ERF apresentaram mais chance de CAC > 0 ($p=0,048$; OR=2,9), assim como aquelas com placas nas artérias carótidas ($p=0,025$; OR: 2,51), na análise univariada.

4.3.1.2 Correlação do CAC com os dados clínicos e laboratoriais

Na tabela 10, observa-se que houve correlação positiva entre o escore de cálcio e a idade, o ERF, a PAS e a PAD, tendendo a aumentar conforme o aumento da PP e da relação cintura/quadril. No entanto, houve correlação inversa com os valores da hemoglobina sérica, do LH e da progesterona.

Tabela 10 – Correlação do CAC com dados clínicos e laboratoriais.

Variável	r	p
Idade	0,20	0,017*
ERF	0,20	0,022*
Rel c/q	0,16	0,067
PAS	0,21	0,014*
PAD	0,17	0,045*
PP	0,16	0,055
Hb	-0,20	0,017*
LH	-0,18	0,038*
Progesterona	-0,18	0,032*

NOTA: ERF: escore de risco de Framingham; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso; Hb: hemoglobina. LH: hormônio luteinizante. * Valores $p < 0,05$.

4.3.1.3 Determinantes da presença de CAC > 0 pela regressão logística

Na tabela 11, encontram-se os resultados da regressão logística que foi realizada considerando a idade como variável de controle. Observou-se que a maior relação cintura/quadril, o tabagismo e a presença de calcificação aórtica, assim como um nível mais baixo de hemoglobina, associaram-se de forma independente à presença do CAC > 0.

Tabela 11 – Determinantes do CAC > 0 pela regressão logística (modelo controlado pela idade).

Variável	OR	IC 95%	p
Rel c/q	1,082	1,004 – 1,167	p=0,040
Hb	0,447	0,275 – 0,728	p=0,001
Tabagismo	3,434	1,044 – 11,301	p=0,042
Calcificação na aorta	2,822	1,025 – 7,770	p=0,045

NOTA: OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confiança; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; Hb: hemoglobina.

4.3.2 Avaliação da espessura mediointimal (EMI) carotídea

4.3.2.1 Marcadores da EMI carotídea aumentada

A EMI aumentada relacionou-se com valores mais elevados da PAS, PP, do ácido úrico, da VOP e do CAC, conforme mostrado na tabela 12.

Tabela 12 – Variáveis associadas com a presença de EMI carotídea aumentada.

Variável	EMI normal n=75	EMI aumentada n=63	p
PAS	123,5 ± 13,5	132,1 ± 17,4	0,005
PP	40,7 ± 8,8	47,3 ± 14	0,004
Ácido úrico	4,2 ± 1,1	4,5 ± 0,9	0,029
CAC	9,1 ± 48,2	14,5 ± 54,7	0,01
VOP	7,45 ± 2,0	8,21 ± 2,2	0,03

NOTA: PAS: pressão arterial sistólica; PP: pressão de pulso; CAC: calcificação arterial coronária; VOP: velocidade de onda de pulso;

Ainda na análise univariada, as pacientes com CAC > 0 (p=0,009; OR: 3,12), com diagnóstico de dislipidemia (p=0,016; OR: 2,44), as hipertensas (p=0,001; OR: 3,29) e as portadoras de síndrome metabólica (p=0,028; OR: 2,37) apresentaram maior chance de exibir EMI carotídea aumentada.

4.3.2.2 Correlação da EMI carotídea com dados clínicos e laboratoriais

Na tabela 13, encontram-se os dados referentes à correlação entre os valores da EMI carotídea, e os dados clínicos e antropométricos. Observou-se uma correlação positiva com a idade, ERF, tempo de pós-menopausa, IMC, circunferência da cintura, relação cintura/quadril, PAS, PAD e PP.

Quanto aos exames laboratoriais, a EMI carotídea também se correlacionou positivamente com o nível sérico do ácido úrico e da insulina, e negativamente com o LH.

Tabela 13 - Correlação da EMI carotídea com dados clínicos e laboratoriais.

Variável	r	p
Idade	0,35	<0,001
TM	0,23	0,007
ERF	0,23	0,008
IMC	0,18	0,034
Cintura	0,20	0,018
Rel c/q	0,17	0,044
PAS	0,35	<0,001
PAD	0,19	0,028
PP	0,34	<0,001
Ácido úrico	0,26	0,003
LH	-0,18	0,032
Insulina	0,23	0,008

NOTA: ERF: escore de risco de Framingham; TM: tempo de pós-menopausa; IMC: índice de massa corporal; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso; LH: hormônio luteinizante.

Houve correlação entre a EMI das artérias carótidas direita e esquerda: $0,709 \pm 0,214\text{mm}$ e $0,709 \pm 0,158\text{mm}$ ($r=0,64$; $p<0,001$), respectivamente.

4.3.2.3 Determinantes da EMI carotídea aumentada pela regressão logística

Foi realizada a regressão logística e o modelo analisado, considerando a idade como variável de controle. Observou-se que o escore de cálcio > 0 , a PAS e a presença de dislipidemia associaram-se de forma independente com a EMI carotídea aumentada, conforme a Tabela 14.

Tabela 14 – Determinantes da EMI carotídea aumentada pela regressão logística (modelo controlado pela idade).

Variável	OR	IC 95%	p
CAC > 0	2,817	1,099 - 7,221	p=0,031
PAS	1,036	1,009 – 1,063	p=0,009
Dislipidemia	2,886	1,349 – 6,172	p=0,006

NOTA: OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confiança; CAC: calcificação arterial coronária; PAS: pressão arterial sistólica.

4.3.3 Avaliação da presença de placas nas artérias carótidas

Observou-se associação entre a presença de placas nas artérias carótidas com valores maiores da idade, SRF, idade na menopausa e níveis de estradiol, assim com houve associação com maiores valores da EMI de carótidas e da subclávia direita, do CAC e da VOP, conforme demonstrado na tabela 15.

Tabela 15 – Variáveis associadas à presença de placas nas artérias carótidas.

Variável	Placa não n=86	Placa sim n=52	p
Idade	55 ± 4,8	58,1 ± 4,6	0,001
ERF	2,42 ± 2,1	3,0 ± 2,1	0,03
IM	47,5 ± 5,3	49,1 ± 4,8	0,034
Estradiol	13,5 ± 10,1	16,7 ± 11,8	0,049
EMI carótida	0,62 ± 0,08	0,82 ± 0,16	<0,001
EMI subclávia	1,19 ± 0,47	1,35 ± 0,75	0,021
CAC	9,13 ± 48,24	14,52 ± 54,72	0,01
VOP	7,45 ± 0,94	8,2 ± 2,22	0,012

NOTA: ERF: escore de risco de Framingham; IM: idade na menopausa; LH: hormônio luteinizante; EMI: espessura mediointimal; CAC: calcificação arterial coronária; VOP: velocidade de onda de pulso.

4.3.3.1 Determinantes da presença de placas nas artérias carótidas pela regressão logística

O modelo de regressão logística mostrou que a idade e a EMI carotídea associaram-se de forma independente com a presença das placas nas artérias carótidas, conforme se observa na tabela 16.

Tabela 16 - Determinantes da presença de placas nas artérias carótidas pela regressão logística.

Variável	OR	IC 95%	p
Idade	1,131	1,036 -1,234	p=0,006
EMI carotídea	1,035	1,006 – 1,065	p=0,018

NOTA: OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confiança; EMI: espessura mediointimal.

4.3.4 Avaliação da aterosclerose carotídea (presença de EMI aumentada e/ou placa aterosclerótica)

A aterosclerose carotídea se associou com valores maiores da idade, do ácido úrico, NO e Apo B. (tabela 17). Podemos, ainda, na tabela 17, observar que valores maiores da VOP e do CAC também se associaram à presença da aterosclerose carotídea.

Tabela 17 – Variáveis associadas à presença de aterosclerose carotídea.

Variável	EMI/placa não n=52	EMI/placa sim n=86	p
NO	8,16 ± 5,7	8,7 ± 4,3	0,034
Apo B	98,1 ± 25,1	105,5 ± 22,5	0,037
Ácido úrico	4,1 ± 0,96	4,5 ± 1	0,019
VOP	7,4 ± 2,2	8 ± 2,1	0,021
CAC	4,52 ± 21,3	15,87 ± 62,4	0,01

NOTA: Apo B: apolipoproteína B; VOP: velocidade de onda de pulso; CAC: calcificação arterial coronária.

Também foi observado, na análise univariada, que as pacientes com síndrome metabólica (p=0,039; OR= 2,43) e as pacientes hipertensas (p=0,014; OR=2,49) têm mais chance de apresentar aterosclerose carotídea.

4.3.4.1 Determinantes da presença de aterosclerose carotídea pela regressão logística

Considerando a idade como variável de controle, o modelo de regressão logística mostrou que o escore de cálcio > 0, o nível de ácido úrico e a presença de dislipidemia associaram-se de forma independente com a aterosclerose carotídea. A presença de HAS mostrou-se próxima da significância estatística, conforme apresentado na tabela 18.

Tabela 18 - Determinantes da presença de aterosclerose carotídea pela regressão logística (modelo controlado pela idade).

Variável	OR	IC 95%	p
CAC > 0	3,613	1,250 – 10,449	p=0,018*
Ácido úrico	1,622	1,065 – 2,468	p=0,034*
Dislipidemia	2,208	1,020 – 4,781	p=0,044*
HAS	2,127	0,982 – 4,609	p=0,056

NOTA: OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confiança; CAC: calcificação arterial coronária; HAS: hipertensão arterial sistêmica. * Valores p<0,05.

4.3.5 Avaliação da rigidez arterial pela VOP

4.3.5.1 Marcadores da presença de VOP > 9,2 m/s

A presença da VOP > 9,2 m/s apresentou relação com a idade mais elevada, maior ERF, relação cintura/quadril, PAS, PAD e PP. Houve relação com menores valores da altura (tabela 19).

Ainda, na tabela 19, vemos que valores mais elevados da EMI carotídea e da relação albumina/creatinina urinária também foram encontrados nas pacientes com a VOP > 9,2 m/s.

Tabela 19 – Variáveis associadas à presença de VOP > 9,2 m/s.

Variável	VOP ≤ 9,2cm/s n=103	VOP > 9,2cm/s n=35	p
Idade	55,3 ± 4,6	58,6 ± 5,7	0,001
ERF	2,42 ± 2,2	3,29 ± 1,7	< 0,001
Rel c/q	0,84 ± 0,07	0,86 ± 0,05	0,019
Altura	158,7 ± 7,6	155,6 ± 4,9	0,034
PAS	123,2 ± 12,9	140 ± 17,5	<0,001
PAD	82,6 ± 7,3	87 ± 7,9	0,009
PP	40,6 ± 9,3	53 ± 13,7	<0,001
Rel Alb/Creat	16,6 ± 18,9	28,8 ± 41,4	0,001
EMI carótidas	0,68 ± 0,13	0,79 ± 0,2	0,001

NOTA: ERF: escore de risco de Framingham; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso; Rel alb/creat: relação albumina/creatinina urinária; EMI: espessura medointimal.

Observou-se, na análise univariada, que as pacientes com síndrome metabólica tiveram maior chance de apresentar VOP > 9,2 m/s ($p=0,011$; OR: 2,98), o mesmo aconteceu em relação à HAS ($p=0,03$; OR: 2,65).

4.3.5.2 Correlação entre os valores da VOP com os dados clínicos e laboratoriais

Na tabela 20, podemos notar que houve correlação positiva entre os valores da VOP com a idade, ERF, IMC, circunferência da cintura, relação cintura/quadril, idade na menopausa, PAS, PAD e PP. Porém, observou-se que há uma correlação inversa entre os valores da VOP e a altura da paciente.

Os valores da VOP também aumentaram conforme aumentaram os valores da glicemia sérica, da insulina e da relação albumina/creatinina urinária, assim como diminuíram em relação aos valores do LH (tabela 21).

Tabela 20 – Correlação dos valores da VOP com as variáveis clínicas.

Variável	r	p
Idade	0,39	<0,001
Altura	-0,22	0,01
IM	0,32	<0,001
ERF	0,36	<0,001
IMC	0,25	0,004
Cintura	0,22	0,009
Rel c/q	0,26	0,002
PAS	0,61	<0,001
PAD	0,37	<0,001
PP	0,54	<0,001

NOTA: IM: idade na menopausa; ERF: escore de risco de Framingham; IMC: índice de massa corporal; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso.

Tabela 21 - Correlação dos valores da VOP com dados laboratoriais.

Variável	r	p
Glicemia	0,29	0,001
Insulina	0,20	0,019
Rel Alb/Creat	0,23	0,009
LH	-0,23	0,007

NOTA: Rel alb/creat: relação albumina/creatinina urinária; LH: hormônio luteinizante.

4.3.5.3 Determinantes da presença de VOP > 9,2 m/s pela regressão logística

Os determinantes da presença da VOP > 9,2 m/s foram avaliados por um modelo de regressão logística que mostrou que a idade e a PAS associaram-se de forma independente com a VOP > 9,2 m/s, conforme a tabela 22.

Tabela 22 - Determinantes da presença de VOP > 9,2 m/s pela regressão logística.

Variável	OR	IC 95%	p
Idade	1,185	1,054 -1,331	p=0,004
PAS	1,087	1,365 – 6,418	p=0,006

NOTA: OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confiança; PAS: pressão arterial sistólica.

4.3.6 Avaliação da presença de calcificação na aorta (CA)

A presença de calcificação na aorta ascendente e/ou descendente esteve relacionada com o aumento da idade, ERF, tempo da pós-menopausa, também com níveis séricos mais elevados de hemoglobina, leucócitos, Apo B, relação Apo B/Apo A1 e NO (tabela 23). Ainda, a presença de CA relacionou-se com valores maiores da EMI carotídea, EMI da artéria subclávia direita e CAC.

Tabela 23 – Variáveis associadas à presença de calcificação na aorta (CA) ascendente e/ou descendente.

Variável	CA não n=75	CA sim n=63	p
Idade	54,6 ± 4,6	58 ± 4,7	<0,001
ERF	2,11 ± 1,7	3,3 ± 2,5	<0,001
TM	6,3 ± 4,9	10,6 ± 6,4	<0,001
Hb	13,5 ± 0,93	13,9 ± 1,1	0,003
ApoB	99,6 ± 24,2	106,5 ± 22,7	0,047
Rel ApoB/ApoA1	0,67 ± 0,21	0,74 ± 0,21	0,049
Leucócitos	5790,4±1704,6	6652,9±1800,4	0,002
NO	7,7 ± 4,3	9,4 ± 5,3	0,045
EMI carótidas	0,67 ± 0,13	0,75 ± 0,18	0,001
CAC	3,57 ± 18	21,14 ± 72,3	0,01
EMI subclávia	1,13 ± 0,37	1,43 ± 0,79	0,008

NOTA: ERF: escore de risco de Framingham; TM: tempo de pós-menopausa; Hb: hemoglobina; Apo B: apolipoproteína B; Rel Apo B/Apo A1: relação apolipoproteína B/apolipoproteína A1; NO: óxido nítrico; CAC: calcificação arterial coronária; EMI: espessura mediointimal.

Na análise univariada, as pacientes com CA tinham mais história familiar de ICo precoce ($p=0,021$; $OR=3,64$) e risco intermediário pelo ERF ($p=0,055$; $OR: 2,77$), esta última próxima à significância estatística.

4.3.6.1 Determinantes da presença de calcificação na aorta (CA) ascendente e/ou descendente pela regressão logística

Os determinantes da presença de CA foram avaliados por um modelo de regressão logística ajustado, utilizando a idade como variável de controle, e mostrou que o tempo de pós-menopausa, o nível de leucócitos, a hemoglobina e a EMI carotídea associaram-se de forma independente com a presença de CA, conforme a tabela 24.

Tabela 24 - Determinantes da presença de calcificação na aorta ascendente e/ou descendente pela regressão logística (modelo controlado pela idade).

Variável	OR	IC 95%	p
TM	1,185	1,065 – 1,320	$p=0,002$
Leucócitos	1,001	1,000 – 1,001	$p=0,001$
Hb	2,352	1,435 – 3,855	$p=0,001$
EMI carótidas	1,067	1,022 – 1,115	$p=0,003$

NOTA: OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confiança; TM: tempo de pós-menopausa; Hb: hemoglobina, EMI: espessura mediointimal.

4.4 Avaliação da artéria subclávia direita

A presença de placa aterosclerótica na artéria subclávia direita foi observada em 53 pacientes (38,4%), 37 destas (69,8%) também apresentavam aterosclerose carotídea.

4.4.1 Avaliação da EMI na artéria subclávia direita

O valor médio da EMI da artéria subclávia direita, encontrado no presente estudo, foi de $1,27 \pm 0,61$ mm.

Na tabela 25, observamos que a EMI da artéria subclávia direita aumentou significativamente conforme aumentou a idade, o ERF, a PAS, a PP e a idade na menopausa.

Tabela 25 - Correlação EMI da artéria subclávia direita com dados clínicos e dados laboratoriais.

Variável	r	p
Idade	0,32	<0,001
IM	0,22	0,009
ERF	0,27	0,001
PAS	0,21	0,013
PP	0,17	0,046

NOTA: IM: idade na menopausa; ERF: escore de risco de Framingham; PAS: pressão arterial sistólica; PP: pressão de pulso;

4.4.2 Marcadores da presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita

Na tabela 26, observa-se que a presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita relacionou-se significativamente com a idade mais avançada, o ERF, PAS, VOP, a EMI carotídea e a EMI na artéria subclávia direita.

Tabela 26 – Variáveis associadas à presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita.

Variável	Placa não n=85	Placa sim n=53	p
Idade	55,1 ± 5,1	57,9 ± 4,1	0,001
ERF	2,29 ± 2,1	3,19 ± 2,1	0,001
PAS	124,8 ± 15,2	131,6 ± 16,3	0,015
EMI carótidas	0,68 ± 0,13	0,75 ± 0,19	0,012
VOP	7,5 ± 2,2	8,2 ± 2	0,015
EMI subclávia	0,96 ± 0,15	1,76 ± 0,74	<0,001

NOTA: ERF: escore de risco de Framingham; PAS: pressão arterial sistólica; EMI: espessura mediointimal; VOP: velocidade de onda pulso.

Na análise univariada, notou-se que as pacientes hipertensas tiveram uma chance maior de apresentar placa na origem da artéria subclávia direita ($p=0,014$; OR: 2,5), o mesmo aconteceu com as pacientes identificadas como risco intermediário pelo ERF ($p=0,006$; OR=4,0).

4.4.2.1 Determinantes da presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita pela regressão logística

O modelo de regressão logística mostrou que a idade e a PAS associaram-se de forma independente com a presença de placa na artéria subclávia direita, conforme se observa na tabela 27.

Tabela 27 - Determinantes da presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita pela regressão logística.

Variável	OR	IC 95%	p
Idade	1,110	1,023 -1,205	$p=0,013$
PAS	1,028	1,003 – 1,053	$p=0,027$

NOTA: OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confiança; PAS: pressão arterial sistólica.

4.5 Relação entre os métodos de imagem

A tabela 28 nos mostra a correlação entre os métodos de imagem. Notou-se que houve correlação positiva entre a EMI carotídea com o escore de CAC, com a VOP e com a EMI na artéria subclávia direita, que, por sua vez, se correlacionou com a VOP.

Tabela 28 – Correlação entre os métodos de imagem.

Variável	EMI carótida	EMI subclávia	VOP
EMI subclávia	r=0,22; p=0,011*	-	-
VOP	r=0,33; p<0,001*	r=0,23; p=0,006*	-
Escore CAC	r=0,20; p=0,019*	r=0,16; p=0,066	r=0,10; p=0,25

NOTA: EMI: espessura mediointimal; CAC: calcificação arterial coronária; VOP: velocidade de onda de pulso.* Valores p < 0,05.

Na análise univariada, observou-se que as pacientes com placas carotídeas exibiram maior chance de apresentar escore de cálcio coronário > 0 (OR=2,51; p=0,025) e placas na artéria subclávia direita (OR=2,19; p=0,32). Na regressão logística, a aterosclerose carotídea (placa e/ou EMI aumentada) associou-se de forma independente com presença do escore de cálcio > 0 (OR: 3,613; p=0,018) e a presença de placas, com a presença de EMI carotídea aumentada (OR=2,817; p=0,031).

A sensibilidade da presença de aterosclerose carotídea em prever a presença de CAC > 0 foi de 81,8%, com especificidade de 43,8%, valor preditivo negativo (VPN) de 88,5% e valor preditivo positivo (VPP) de 31,4%.

A presença de calcificação na aorta (CA) relacionou-se a uma chance maior da presença de aterosclerose carotídea (OR=2,37; p=0,022), de placas nas carótidas isoladamente (OR=2,19; p=0,035;) e placas na artéria subclávia (OR=2,06; p=0,053), porém esta última de forma não significativa, na análise univariada.

A sensibilidade da aterosclerose carotídea em prever a presença de CA foi de 73%, com especificidade de 46,7%, VPP de 53% e VPN de 67,3%.

Na regressão logística e presença de CA, se associou de forma independente com a presença do CAC > 0 (OR: 2,82; $p=0,045$). A CA foi capaz de prever a presença de CAC > 0 com uma sensibilidade de 33,3%, uma especificidade de 84%, um VPP de 63,6% e um VPN de 60%.

A EMI carotídea aumentada relacionou-se com uma maior chance de VOP > 9,2 m/s (OR=3,02; $p=0,01$) com uma sensibilidade de 36,5%, especificidade de 84%, VPP de 65,7% e VPN de 61,2%.

A presença de placas na artéria subclávia direita relacionou-se com a presença de placas na artérias carótidas (OR=2,19; $p=0,032$).

Os valores da EMI das artérias carótidas, do CAC e da rigidez arterial (VOP) encontram-se na tabela 29.

Tabela 29 – Valores da EMI das artérias carótidas, VOP e CAC (médios $\pm$ DP).

Variável	Média $\pm$ DP
EMI carotídea (mm)	0,709 $\pm$ 0,159
VOP m/s	7,79 $\pm$ 2,13
CAC	11,59 $\pm$ 51,18
NOTA: EMI: espessura mediointimal; VOP: velocidade de onda de pulso; CAC: calcificação arterial coronária.	

4.6 Avaliação dos dados clínicos e laboratoriais:

Quanto aos dados clínicos e laboratoriais, descreveremos os de maior relevância e suas relações.

4.6.1 Escore de risco de Framingham (ERF)

Dividindo-se o ERF em risco baixo e intermediário, observou-se que as pacientes identificadas como risco intermediário tinham maior tempo de pós-

menopausa, maior relação cintura/quadril, e maiores níveis de PAS, PAD, PP e idade – tabela 30.

Tabela 30 – Variáveis clínicas associadas ao ERF.

Variável	Risco < 5% n=117	Risco 5-20% n=21	p
Idade	55,8 ± 4,8	58,33 ± 5	0,044
TM	7,8 ± 5,7	10,9 ± 7,0	0,047
Rel c/q	0,84 ± 0,06	0,88 ± 0,05	0,012
PAS	125,2 ± 14,6	140 ± 17,6	<0,001
PAD	83,1 ± 7,7	87,1 ± 7,2	0,025
PP	42,1 ± 10,4	52,9 ± 15,2	0,001

NOTA: TM: tempo de pós-menopausa; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso.

Também as pacientes com risco intermediário apresentaram maior relação albumina/creatinina urinária, níveis de leucócitos, VLDL-c, triglicérides, colesterol não HDL, Apo B e relação ApoB/Apo A1. E menores níveis de HDL-c e FSH – tabela 31.

Tabela 31 – Variáveis laboratoriais associadas ao ERF.

Variável	Risco <5% n=117	Risco 5-20% n=21	p
Rel Alb/Creat	16,04 ± 16	39,17 ± 53,4	0,008
Leucócitos	6054,8 ± 1773,8	6904,8 ± 1783,4	0,046
HDL-c	60,2 ± 15,7	49,86 ± 12,8	0,007
VLDL-c	22,7 ± 9,1	36,6 ± 18,3	0,001
Triglicérides	113 ± 45,4	182 ± 90,7	0,001
Apo B	100,2 ± 21,6	116,9 ± 29,8	0,009
Rel ApoB/ApoA1	0,67 ± 0,19	0,83 ± 0,23	0,008
FSH	81,3 ± 27,4	68,7 ± 20,7	0,044
Col não HDL	157,6 ± 33,3	181 ± 39	0,015

NOTA: Rel alb/creat: relação albumina/creatinina urinária; HDL-c: HDL-colesterol; VLDL-c: VLDL-colesterol; Apo B: apolipoproteína B; Rel Apo B/Apo A1: relação apolipoproteína B/apolipoproteína A1; FSH: hormônio folículo estimulante.

Com relação à presença de aterosclerose subclínica, vemos, na tabela 32, que as pacientes com risco intermediário apresentavam mais sítios acometidos que aquelas com baixo risco. Da mesma forma, as pacientes

com risco intermediário apresentaram maiores valores de EMI carotídea, EMI da artéria subclávia direita e de CAC.

Tabela 32 – Relação entre o ERF e a aterosclerose subclínica.

Variável	Risco <5% n=117	Risco 5-20% n=21	p
Aterosc. Subclínica	1,47 ± 1,07	2,14 ± 1,31	0,022
EMI carotídea	0,69 ± 0,13	0,81 ± 0,26	0,042
EMI subclávia	1,18 ± 0,42	1,76 ± 1,13	0,007
CAC	11,2 ± 54,5	13,8 ± 26,9	0,015

NOTA: EMI: espessura mediotintal; VOP: velocidade de onda de pulso; CAC: calcificação arterial coronária.

O ERF correlacionou-se também com uma série de variáveis clínicas e laboratoriais, conforme observamos nas tabelas 25 e 26.

Observa-se, na tabela 33, que o ERF aumentou conforme aumentou a idade, o tempo de pós-menopausa, a circunferência da cintura, a relação cintura/quadril, a PAS e a PAD.

Também o colesterol total, LDL-c, VLDL-c, triglicérides, colesterol não HDL, Apo B, relação ApoB/ApoA1 e a relação albumina/creatinina urinária se correlacionaram positivamente com o aumento do ERF. O ERF se correlacionou negativamente com os níveis de HDL-c, FSH e Apo A1, como pode ser visto na tabela 34.

Tabela 33 – Correlação do ERF com as variáveis clínicas:

Variável	r	p
Idade	0,31	<0,001
TM	0,23	0,006
Cintura	0,22	0,011
Rel c/q	0,23	0,006
PAS	0,45	<0,001
PAD	0,29	<0,001
PP	0,40	<0,001

NOTA: ERF: escore de risco de Framingham; TM: tempo de pós-menopausa; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso.

Tabela 34 – Correlação do ERF com as variáveis laboratoriais.

Variável	r	p
Colest. Total	0,23	0,006
HDL-c	-0,37	<0,001
LDL-c	0,28	0,001
VLDL	0,37	<0,001
Triglicérides	0,37	<0,001
Rel. Alb/Creat	0,23	0,007
Colesterol não HDL	0,40	<0,001
FSH	-0,22	0,01
Apo A1	-0,27	0,002
Apo B	0,41	<0,001
Rel. ApoB/ApoA1	0,43	<0,001

NOTA: HDL-c: HDL-colesterol; LDL-c: LDL-colesterol; VLDL-c: VLDL-colesterol; Rel alb/creat urinária: relação albumina/creatinina urinária; Apo A1: apolipoproteína A1; Apo B: apolipoproteína B; Relação Apo B/Apo A1: relação apolipoproteína B/apolipoproteína A1.

Observa-se, ainda, na análise qualitativa, que as pacientes com risco intermediário pelo ERF apresentaram mais chance de ser portadoras de síndrome metabólica ($p=0,001$; OR: 5,55), e o mesmo aconteceu com as portadoras de HAS ($p=0,002$; OR: 6,31) e dislipidemia ($p=0,016$; OR: 3,86).

4.6.2 Síndrome metabólica

As relações entre as variáveis clínicas e laboratoriais com a presença de síndrome metabólica estão demonstradas nas tabelas 35 e 36.

Notou-se que a presença de síndrome metabólica (SM) se relacionou com maiores valores do peso, IMC, SRF, circunferência da cintura, relação cintura/quadril, PAS, PAD e PP. Também se observou níveis mais elevados do colesterol não HDL, VLDL-c, triglicérides, Apo B, relação ApoB/ApoA1, glicemia, relação albumina/creatinina urinária, insulina e HOMA – IR – nas pacientes com síndrome metabólica. Em contrapartida, notou-se que a SM se relacionou com valores mais baixos de HDL-c, Apo A1, LH e FSH.

Tabela 35 – Variáveis clínicas associadas à síndrome metabólica (SM).

Variável	SM não n=93	SM sim n=45	p
Peso	66 ± 12,1	71,5 ± 12,1	0,016
IMC	26,4 ± 4,8	29 ± 4,9	0,002
ERF	2,03 ± 1,8	3,89 ± 2,3	<0,001
Cintura	85,5 ± 10,6	92,6 ± 7,7	<0,001
Rel c/q	0,83 ± 0,06	0,88 ± 0,05	<0,001
PAS	124,5 ± 14,3	133,4 ± 17,6	0,002
PAD	82,4 ± 7,4	86,4 ± 7,7	0,005
PP	42,2 ± 10,8	47 ± 13,5	0,026

NOTA: ERF: escore de risco de Framingham; IMC: índice de massa corporal; Rel. c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; PP: pressão de pulso.

Tabela 36 – Variáveis laboratoriais associadas à síndrome metabólica (SM).

Variável	SM não n=93	SM sim n=45	p
Rel Alb/Creat	16,8 ± 19,1	26 ± 38,2	0,041
HDL-c	64,5 ± 14,6	46,5 ± 10	<0,001
VLDL-c	20,9 ± 9,5	33 ± 12,4	<0,001
Triglicérides	104,5 ± 47,5	164,7 ± 62,3	<0,001
Apo A1	157,3 ± 23,2	141,2 ± 20,8	<0,001
Apo B	98,4 ± 23,5	111,8 ± 22	0,001
Rel Apo B/Apo A1	0,65 ± 0,2	0,81 ± 0,26	<0,001
FSH	84,3 ± 26,1	69,3 ± 25,7	0,001
LH	32,6 ± 11	28,1 ± 11,9	0,037
Glicemia	88,6 ± 7,2	92,7 ± 9,5	0,022
Col não HDL	155,3 ± 35,3	173,2 ± 32	0,004
Insulina	6,3 ± 3,4	8,2 ± 3,9	<0,001
HOMA IR	1,38 ± 0,77	1,9 ± 1,06	<0,001

NOTA: Rel alb/creat urinária: relação albumina/creatinina urinária; HDL-c: HDL-colesterol; VLDL-c: VLDL-colesterol; Apo A1: apolipoproteína A1; Apo B: apolipoproteína B; Rel Apo B/Apo A1: relação apolipoproteína B/apolipoproteína A1; FSH: hormônio folículo estimulante; LH: hormônio luteinizante; HOMA-IR (*homeostatic model assessment*).

Quanto à presença de aterosclerose subclínica, as pacientes com síndrome metabólica exibiram mais sítios acometidos que as sem síndrome metabólica. Da mesma forma, os valores da EMI carotídea e da VOP foram maiores nas pacientes com síndrome metabólica – tabela 37.

Tabela 37 – Relação entre síndrome metabólica (SM) e aterosclerose subclínica.

Variável	SM não n=93	SM sim n=45	p
Aterosc. Subclínica	1,42 ± 1,1	1,89 ± 1,1	0,02
EMI carotídea	0,68 ± 0,13	0,76 ± 0,19	0,01
VOP	7,52 ± 2,2	8,37 ± 1,9	0,005

NOTA: EMI: espessura mediointimal; VOP: velocidade de onda de pulso; CAC: calcificação arterial coronária.

4.6.3 Tempo de pós-menopausa (TM) e idade na menopausa (IM)

Observou-se uma correlação positiva entre o tempo de pós-menopausa com a idade a relação cintura/quadril. Enquanto o nível sérico do cálcio, LH, testosterona, o peso, a altura e a idade na menopausa foram menores na paciente com maior tempo de pós-menopausa – tabela 38.

Tabela 38 – Correlação entre o tempo de pós-menopausa com dados clínicos e laboratoriais.

Variável	r	p
Idade	0,61	<0,001
IM	-0,49	<0,001
Peso	-0,20	0,02
Altura	-0,20	0,016
Rel c/q	0,27	0,019
Cálcio	-0,20	0,019
Testosterona	-0,21	0,013
LH	-0,17	0,045

NOTA: IM: idade na menopausa; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; Vit D: vitamina D; LH: hormônio luteinizante.

Na tabela 39, nota-se que a idade na menopausa se correlacionou positivamente com o HDL-c, o ácido úrico, a ApoA, a EMI da artéria subclávia direita, a VOP e a idade. A correlação foi negativa o TM e nível de estradiol.

Tabela 39 – Correlação entre a idade na menopausa com dados clínicos e laboratoriais.

Variável	r	p
Idade	0,29	<0,001
TM	-0,49	<0,001
HDL-c	0,24	0,005
Ácido úrico	0,20	0,018
Apo A	0,24	0,005
Estradiol	-0,17	0,047
EMI subclávia	0,22	0,009
VOP	0,32	<0,001

NOTA: TM: tempo de pós-menopausa; Apo A: apolipoproteína A; EMI: espessura medointimal; VOP: velocidade de onda de pulso.

4.6.4 Idade e Índice de Massa Corporal (IMC)

A idade correlacionou-se com outras variáveis além das já citadas anteriormente. Quanto maior a idade, maiores foram a PAS, PP, colesterol total e HDL-c, e menores foram os valores da altura e do LH. Na tabela 40, podemos observar a correlação entre estas variáveis, as demais variáveis que se correlacionaram com a idade já foram apresentadas nos tópicos acima.

Tabela 40 – Correlação entre a idade com dados clínicos e laboratoriais.

Variável	r	p
PAS	0,28	<0,001
PP	0,25	0,003
Colesterol total	0,17	0,043
HDL-c	0,20	0,02
Altura	-0,17	0,05
Estradiol	-0,18	0,04
LH	-0,17	0,046
Testosterona	-0,19	0,025

NOTA: PAS: pressão arterial sistólica; PP: pressão de pulso; HDL-c: HDL-colesterol; LH: hormônio luteinizante.

O IMC, quando categorizado (eutróficas, portadoras de sobrepeso e obesas), apresentou diferença entre algumas variáveis.

As pacientes com sobrepeso e as obesas apresentaram maior PAS ($p=0,02$ e $p=0,001$, respectivamente) que as pacientes consideradas eutróficas. Com relação à PAD, as obesas apresentaram maior PAD que as com sobrepeso ($p=0,002$).

As pacientes com sobrepeso e as obesas apresentaram menores níveis HDL-c ($p=0,006$ e $p=0,002$, respectivamente) quando comparadas às eutróficas, assim como maiores níveis de VLDL-c ($p=0,004$ e $p=0,005$), triglicérides ($p=0,004$ e $p=0,05$) e PCR us ($p=0,001$ e $p=0,006$). Já os valores da insulina e do HOMA-IR foram maiores nas pacientes obesas e com sobrepeso que nas eutróficas (todos com $p<0,001$).

Os valores de FSH e progesterona foram menores nas pacientes obesas quando comparadas com as eutróficas e com as com sobrepeso ($p<0,001$ e $p=0,02$, respectivamente, para o FSH e, $p=0,03$ e $p=0,02$, para a progesterona). O LH foi menor nas obesas quando comparadas com as eutróficas ($p=0,004$).

4.7 Expressão de mRNA dos genes *TNFA*, *IL6*, *ESR1* e *NOS3*

A expressão de mRNA dos genes *TNFA*, *IL6*, *ESR1* e *NOS3* foi medida em leucócitos de sangue periférico de 115 pacientes cujas amostras foram adequadas para a análise. Foi avaliada a relação entre a expressão desses genes com a presença da aterosclerose subclínica e individualmente com o escore de CAC, calcificação aórtica, EMI carotídea, presença de placas nas artérias carótidas, EMI da artéria subclávia direita e presença de placas na artéria subclávia direita.

A regressão logística não mostrou associação independente entre os dados de expressão gênica e os dados dos exames de imagem. Abaixo, estão os resultados referentes à análise univariada.

4.7.1 Expressão de mRNA do *TNFA*

Na figura 14, podemos observar que houve uma maior expressão do mRNA do *TNFA* nas pacientes com aterosclerose subclínica ($p=0,014$). Maior expressão foi observada nas pacientes com aterosclerose carotídea ($p=0,001$), EMI carotídea aumentada ($p=0,011$) e dislipidemia ($p=0,013$). Os valores da expressão nas pacientes com VOP > 9,2 m/s ($p=0,086$) e nas portadoras de síndrome metabólica ($p=0,056$) foram próximos da significância estatística.

Figura 14 - Diferença entre os valores da expressão do mRNA do gene do *TNFA* e a presença de aterosclerose subclínica (A), EMI carotídea (B), aterosclerose carotídea (C), VOP > 9,2m/s (D), síndrome metabólica (E) e dislipidemia (F). Legenda: EMI: espessura mediointimal; VOP: velocidade de onda de pulso.

Conforme observado na tabela 41, a expressão de mRNA do *TNFA* apresentou correlação positiva com o ERF, LDL-c, colesterol não HDL, Apo B e a EMI carotídea, e negativa com o cálcio sérico.

Tabela 41 - Correlação entre os valores de expressão do mRNA do *TNFA* com os dados clínicos, laboratoriais e aterosclerose subclínica.

Variável	r	p
ERF	0,20	0,022
LDL-c	0,19	0,044
Cálcio	-0,19	0,045
Apo B	0,23	0,012
Colesterol não HDL	0,22	0,017
EMI carotídea	0,25	0,007

NOTA: TNF α : fator de necrose tumoral alfa; ERF: escore de risco de Framingham; LDL-c: LDL-colesterol; Apo B: apolipoproteína B; EMI: espessura mediointimal.

4.7.2 Expressão de mRNA do *IL6*

Na figura 15, nota-se maior expressão de mRNA do *IL6* nas pacientes com aterosclerose subclínica ($p=0,041$) e, individualmente, naquelas com VOP > 9,2 m/s ($p=0,019$) e EMI carotídea aumentada ($p=0,019$), além das portadoras de dislipidemia ($p=0,002$).

Figura 15 - Diferenças entre os valores da expressão do mRNA do *IL6* e a presença de aterosclerose subclínica (A), EMI carotídea (B), VOP > 9,2m/s (C), e dislipidemia (D). Legenda; EMI: espessura mediointimal; VOP: velocidade de onda de pulso.

De acordo com a tabela 42, a expressão de mRNA do *IL6* mostrou correlação positiva com a idade na menopausa, circunferência da cintura, relação cintura/quadril e EMI carotídea. Também se correlacionou positivamente com o colesterol total, LDL-c, colesterol não HDL e Apo B, e teve correlação inversa com o cálcio sérico.

Tabela 42 - Correlação entre os valores de expressão do mRNA do *IL6* com os dados clínicos, laboratoriais e aterosclerose subclínica.

Variável	r	p
IM	0,19	0,044
Cintura	0,18	0,05
Rel c/q	0,19	0,041
Colesterol total	0,32	0,001
LDL-c	0,34	<0,001
Cálcio	-0,20	0,031
Apo B	0,25	0,007
Coolest. não HDL	0,35	<0,001
EMI carotídea	0,20	0,01

NOTA: IM: idade na menopausa; Rel c/q: relação entre a circunferência da cintura e do quadril; LDL-c: LDL-colesterol; Apo B: apolipoproteína B; EMI: espessura mediointimal.

4.7.3 Expressão de mRNA do *NOS3*

Na tabela 43, nota-se que a expressão de mRNA do *NOS3* apresentou correlação positiva com o colesterol total, LDL-c, colesterol não HDL, glicemia e fibrinogênio, e os valores da EMI carotídea. Não foi observada correlação entre o óxido nítrico sérico e os valores da expressão de mRNA do *NOS3* ($p=0,31$).

Não foi observada relação da expressão do *NOS3* com as demais variáveis clínicas, laboratoriais e de aterosclerose subclínica testadas.

Tabela 43 - Correlação entre os valores de expressão de mRNA do *NOS3* com os dados laboratoriais e aterosclerose subclínica.

Variável	r	p
Colesterol total	0,21	0,027
LDL-c	0,24	0,01
Glicemia	0,23	0,015
Fibrinogênio	0,24	0,011
Colesterol não HDL	0,20	0,036
EMI carotídea	0,24	0,01

NOTA: LDL-c: LDL colesterol; EMI: espessura mediointimal.

4.7.4 Expressão de mRNA do *ESR1*

A expressão de mRNA do *ESR1* apresentou correlação positiva com a expressão dos genes *TNFA*, *IL6*, *NOS3* ($p < 0,05$) como se observa na tabela 36. Não foi detectada relação entre a expressão de mRNA do *ESR1* com outras variáveis clínicas, laboratoriais e dos exames de imagem no presente estudo.

4.8 Variabilidade interobservador

Foram comparadas 22 medidas da EMI carotídea, 22 medidas da VOP e 22 medidas da EMI da artéria subclávia direita por dois examinadores diferentes. A média das diferenças para EMI carotídea foi de $0,0078 \pm 0,0249$ mm (IC 95%: $-0,0032 - 0,0189$ mm; $p=0,24$), para a VOP foi de $0,0455 \pm 0,262$ m/s ($-0,0710 - 0,1619$ m/s; $p=0,57$) e para a subclávia direita foi de $0,0127 \pm 0,048$ mm (IC 95%: $-0,0086 - 0,034$ mm; $p=0,082$). Os resultados pela avaliação pelo CCC encontram-se, a seguir, na tabela 44. Os gráficos de Bland-Altman e de dispersão encontram-se no Apêndice.

Tabela 44 – Variabilidade Interobservador – CCC.

Variável	CCC	CB	IC95% CCC
EMI carótidas	0,9698	0,9839	0,9431 - 0,9841
VOP	0,9810	0,9980	0,9565 – 0,9918
EMI subclávia direita	0,9934	0,9995	0,9843 – 0,9972

NOTA: CCC: coeficiente de correlação de concordância; Cb: coeficiente de “bias”; IC: intervalo de confiança.

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou um grupo de mulheres assintomáticas, na pós-menopausa, com ERF baixo e intermediário, e mostrou que a prevalência da aterosclerose subclínica, caracterizada pela presença de, pelo menos, uma das seguintes condições: CAC > 0, calcificação na aorta (CA) ascendente e/ou descendente, aterosclerose carotídea (EMI aumentada e/ou placa aterosclerótica nas artérias carótidas) ou rigidez arterial (VOP) aumentada, foi surpreendentemente alta: 81,2%. Mesmo quando se subdividiu o grupo em risco baixo e intermediário, a prevalência se manteve maior que 80% nos dois grupos (80,3% e 85,7%, respectivamente).

Se levarmos em consideração somente a prevalência da aterosclerose carotídea em nosso estudo, já seriam 62,3% e CAC > 0, 23,9%. A prevalência da aterosclerose carotídea concorda com os achados de Naqvi *et al.*¹⁷⁰. Estes autores descreveram a prevalência da aterosclerose subclínica (CAC > 0, EMI aumentada ou presença de placas carotídeas) em 136 pacientes assintomáticos. Avaliando o ERF em categorias de risco (<10%; 10 a 20% e >20%), obtiveram a seguinte distribuição: dentre os pacientes com baixo risco (103p com risco <10%), 41%, 50%, 59%, e 66%, apresentavam, respectivamente, CAC > 0, EMI aumentada, placa carotídea e EMI e/ou placa carotídea, e, em 33p com risco intermediário e alto, a prevalência foi de 70%, 81%, 87% e 87% para as mesmas variáveis. Em relação ao nosso estudo, a maior prevalência do CAC > 0 pode ter sido devido à presença de homens (57%), à categorização de risco (< 5% e 5 a 20%) e maior variação da idade.

Lambrinoudaki *et al.*¹³¹ avaliaram em 120p na pós-menopausa, entre 41 a 60 anos, com risco baixo e intermediário pelo SCORE, a EMI e presença de placas ateroscleróticas nas artérias carótidas e femorais, e a VOP carotídeo-femoral, e encontraram prevalência total de 55% de

aterosclerose subclínica, sendo 47,4% nas mulheres de baixo risco (< 2%) e 73,5% nas de risco intermediário (entre 2% e 4,9%). Encontraram associação independente da aterosclerose subclínica com a PAS e com o tempo de pós-menopausa. Os autores sugerem que a elevada prevalência encontrada se deve às pacientes não estarem em tratamento para HAS ou dislipidemia. Em nosso estudo, as pacientes não se encontravam em tratamento para dislipidemia, mas aquelas em tratamento para HAS não foram excluídas, inclusive porque o tratamento para HAS influencia no ERF, aumentando-o. A diferença de prevalência encontrada poderia ser explicada pelos sítios analisados, em nosso estudo, a artéria femoral não foi avaliada, assim como o estudo de Lambrinoudaki *et al.* não avaliou o CAC ou a CA, também houve a questão da população estudada, nesse caso, grega, o que difere por diversos aspectos da nossa população, inclusive na dieta.

Em nosso trabalho, as pacientes com aterosclerose subclínica apresentaram idade mais elevada, assim como maior IMC, ERF, maiores tempo de pós-menopausa, relação cintura/quadril, PAS, PAD, PP, glicemia e relação ApoB/ApoA1, e menores valores de HDL-c e ApoA1. Estes resultados mostram a associação da presença da aterosclerose em nossas pacientes com diversos fatores de risco e concordam com diversas diretrizes de prevenção cardiovascular que mostram a importância do controle desses a fim de se evitar um evento futuro^{5,54,59,86,133,171}.

Observamos, em nosso estudo, uma associação independente da presença da aterosclerose subclínica com a idade, a PAS e com menores concentrações de ApoA1. As apolipoproteínas (ApoA1 e ApoB) têm despertado muito interesse como preditores do risco cardiovascular e sua concentração plasmática têm sido descrita, para esta avaliação, como melhor do que as concentrações de lípides, refletindo o número de partículas pró e antiaterogênicas¹⁷²⁻¹⁷⁴. O estudo AMORIS (*Apolipoprotein – Related Mortality Risk Study*) avaliou mais de 170 mil pacientes e mostrou que, tanto o aumento da ApoB e da relação ApoB/ApoA1 quanto a redução da ApoA1, se relacionaram com a ocorrência de IAM¹⁷⁵. A relação ApoB/ApoA1 também se mostrou fortemente associada à ocorrência de IAM no estudo

INTERHEART⁴⁷. Luc *et al.*¹⁷⁶ avaliaram a ocorrência de evento coronariano, relacionando-o com os valores de HDL-c, ApoA1 e lipoproteínas AI e AI:AIL (frações da HDL), concluindo que todas exibiam valores mais reduzidos nos pacientes com eventos, porém a Apo A1 foi o mais forte preditor independente. Huang *et al.*¹⁷⁷, avaliaram 6.069 chineses com mais de 40 anos e encontraram uma associação significativa entre valores elevados de ApoB e da relação ApoB/ApoA1 e a EMI carotídea aumentada. No *Cardiovascular Risk in Young Finns Study*, a ApoB e ApoA1 medidas em crianças e adolescentes refletiram um perfil que predispôs à presença de aterosclerose subclínica quando adultos¹⁷⁸.

Em nosso estudo, a presença de aterosclerose carotídea associou-se com concentração sérica mais elevada de ApoB na análise univariada, e de forma independente à presença de dislipidemia e níveis séricos maiores de ácido úrico. A EMI carotídea, além da dislipidemia, se relacionou de forma independente com a PAS e com o CAC > 0. A presença de placas carotídeas relacionou-se de forma independente com a EMI carotídea e com a idade mais elevada.

Em 274 mulheres do *Heathy Women Study* (HWS), a aterosclerose subclínica foi avaliada pelo CAC, CA e aterosclerose carotídea, estando presente em 45%, 72% e 55%, respectivamente. Porém, deve-se ressaltar que, neste estudo, 126p estavam em uso de TRH no momento da realização dos exames de imagem e que, apesar de assintomáticas, as pacientes não foram distribuídas por categorias de risco, podendo estar incluídas pacientes de alto risco¹⁷⁹. No nosso estudo, a prevalência da aterosclerose carotídea, calcificação na aorta e do CAC > 0 foi de 62,3%, 45,7% e 23,9%, respectivamente. De forma semelhante ao nosso estudo, houve maior prevalência da aterosclerose detectada nas carótidas e na aorta que nas artérias coronárias, e os autores do HWS sugerem que, nas mulheres, a doença poderia ser detectada mais precocemente nestes sítios que nas coronárias.

De forma semelhante, Karim *et al.*¹³⁶ relacionaram o ERF (NCEP/ATPIII) e a presença de aterosclerose subclínica avaliada em três

sítios (CAC, EMI carotídea e CA) em 498 homens e mulheres saudáveis, e encontraram uma prevalência de 69% de aterosclerose subclínica nos pacientes com risco baixo (<10%), 95% nos pacientes com risco intermediário (10 a 20%) e 100% nos de alto risco (>20%). Assim como em nosso estudo, o número de sítios acometidos aumentou conforme aumentou o ERF. Neste estudo, 90% das mulheres estavam na categoria de risco baixo, e 10% em risco intermediário, diferentemente dos homens que estavam 45% em risco baixo e 39% em risco intermediário. Em nosso estudo, 84,8% das pacientes foram classificadas como baixo risco e 15,2% com risco intermediário. Cabe enfatizar que a categorização do risco, nos dois estudos, foi diferente (baixo risco < 5% e risco intermediário entre 5 e 20%).

Também no estudo de Karim *et al.*¹³⁶, os homens tiveram 3,29 vezes mais chance de apresentar o CAC > 0 que as mulheres, assim como 1,64 vezes mais chance de EMI carotídea aumentada, mas não houve diferença entre os gêneros na avaliação de cálcio na aorta. Os autores sugerem que a DAC apareça nas mulheres numa fase posterior a que aparece nos homens, portanto, talvez devêssemos, nas mulheres, rastrear aterosclerose subclínica em outros sítios que não nas coronárias, inicialmente.

No nosso estudo, observamos a presença de associação independente entre a aterosclerose carotídea e o CAC > 0 (OR: 3,613; p=0,018), com uma sensibilidade de 81,8% e valor preditivo negativo (VPN) de 88,5%, o que sugere que a pesquisa da aterosclerose carotídea, num primeiro momento, seja mais interessante que a realização do CAC, por se tratar de um exame que não emite radiação e tem menor custo. Outros estudos também sugerem o mesmo^{136,170,179}.

Recentemente, Polak *et al.*¹¹³ mostraram em 5.445 pacientes do estudo MESA (*Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*) prevalência de 49,7% de CAC > 0 (41% nas mulheres) e 48,8% de placas nas carótidas. Dentre os pacientes com CAC = 0; 16,1% tornaram-se positivos num intervalo de 2,4 anos. Os autores observaram que a EMI na carótida interna e as placas carotídeas estavam associadas à progressão do CAC.

O *BioImage Study* avaliou 6.101 pacientes assintomáticos (56%, mulheres), e encontrou uma prevalência de placas carotídeas de 78%, CAC > 0 de 68%, além de ITB anormal em 10% e aneurisma da aorta abdominal (>30 mm de diâmetro) em 0,9%. Como diferencial, avaliou a carga das placas carotídeas com o ultrassom tridimensional e encontrou uma forte associação com o CAC¹⁸⁰. Diferentemente do nosso estudo, somente 21% dos participantes eram de baixo risco e 65% de risco intermediário, e os demais de alto risco, também a idade média foi maior (68,8 anos) e parte do grupo era formada por homens, o que poderia explicar a maior prevalência de placas carotídeas e CAC > 0.

Avaliando mulheres na pós-menopausa (n=272), Kuller *et al.*¹⁴⁶ acompanharam o surgimento de cálcio coronário num período de 6 anos. Das 155 pacientes que tinham CAC = 0 no exame basal, 36% apresentaram surgimento de CAC no período, que esteve relacionado à presença de calcificação aórtica (CA) e placas carotídeas na ocasião do exame basal. Por conta da forte associação de CA com o surgimento do CAC, os autores sugerem que, em mulheres mais jovens, em que a prevalência do CAC é baixa, a identificação de CA poderia ser usada como marcador de aterosclerose, pois se relaciona com fatores de risco e já foi identificado como preditor de risco para DAC, inclusive de mortalidade^{109,147}.

Santos *et al.*¹⁴⁷, avaliando 8.401 pacientes assintomáticos (69%, homens), encontraram uma prevalência de CA em 22%. Observaram que o CAC foi mais prevalente nos pacientes com CA que nos sem CA (77% e 49%, respectivamente – $p<0,001$). Também observaram que a CA foi mais prevalente nas mulheres que nos homens (16% e 8%, respectivamente – $p<0,001$). Em nosso estudo, a presença de CA associou-se de forma independente com a presença de CAC > 0 (OR: 2,822; $p=0,045$), com uma sensibilidade de 33,3%, especificidade de 84%, VPP de 63,6% e VPN de 60%.

Recentemente, Stamatelopoulos *et al.*¹⁸¹ demonstraram que o gênero não foi um determinante da presença de aterosclerose carotídea (EMI e/ou placas carotídeas). Comparando homens e mulheres na pós-menopausa,

assintomáticos do ponto de vista cardiovascular, a prevalência da aterosclerose carotídea foi de 63,2% nos homens e 65,8% nas mulheres ($p=0,81$), e a presença de placas carotídeas foi de 31,6% nos homens e 28,9% nas mulheres ($p=0,80$), demonstrando que as mulheres na menopausa, de fato, devem ser criteriosamente avaliadas quanto ao risco de apresentar DCV, ou seja, devem ser mais bem estratificadas¹⁸¹. No nosso estudo, a prevalência da aterosclerose carotídea nas mulheres na pós-menopausa foi semelhante, de 62,3% e de placas nas carótidas de 37,7%.

Eleid *et al.*⁶⁰ avaliaram 441 pacientes assintomáticos, não diabéticos por parâmetros clínicos e laboratoriais, e relacionaram com a presença de EMI alterada e/ou placas carotídeas. Observou que a aterosclerose carotídea estava presente em 42% de todos os pacientes e em 38% dos com risco baixo pelo ERF ($n=336$) sem haver, entretanto, diferença significativa na prevalência quanto ao gênero. Este estudo foi composto com 70% de homens e a idade média das mulheres foi de 51,9 anos, mais baixa que em nosso estudo (56,2 anos).

Sutton-Tyrrell *et al.*¹¹² demonstraram que há diferença na prevalência de placas nas artérias carótidas entre as mulheres na pré e na pós-menopausa (25% *versus* 54%, respectivamente; $p<0,001$), e que a EMI das artérias carótidas também é maior nas mulheres na pós-menopausa (0,69mm e 0,77mm, respectivamente – $p<0,001$).

A distribuição do CAC foi estudada na população brasileira por Santos *et al.*¹⁴⁴ que a comparou com a da população portuguesa e norte-americana, num total de 17.563p. Os autores observaram uma prevalência de CAC > 0 nas mulheres de 38% na população brasileira, 12% na portuguesa e 41% na norte-americana, e sugerem que as diferenças poderiam ser atribuídas a fatores genéticos, dieta e estilo de vida. Em nosso estudo, a prevalência do CAC > 0 foi de 23,9%, porém compreendeu apenas mulheres de risco baixo e intermediário, não incluindo, por exemplo, as diabéticas que, no estudo de Santos *et al.*, foram 12% das brasileiras incluídas.

Várias categorizações de risco são utilizadas na literatura a partir do cálculo do ERF^{54,63,69,70}. Em nosso estudo, apenas 15,2% das pacientes

foram classificadas como risco intermediário (risco de 5 a 20%). Ressalta-se que, se utilizássemos a categorização de risco sugerida no NCEP/ATPIII, apenas duas pacientes seriam classificadas como risco intermediário (risco entre 10 a 20%), sendo que 98,6% seriam classificadas como baixo risco⁵⁴.

Em recente atualização do *American Heart Association/American College of Cardiology* (AHA/ACC) para avaliação das mulheres, é sugerido que a abordagem dessas deveria ser feita por categorias de risco considerando como alto risco, além daquelas com doença cardiovascular manifesta, as com doença renal crônica, diabetes e com risco calculado $\geq 10\%$ ⁵⁹. O mesmo é sugerido na V Brasileira Diretriz de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose, recentemente publicada¹⁷¹. Podemos observar, em nosso grupo de pacientes, que, mesmo se considerássemos apenas aquelas com risco abaixo de 10%, continuaríamos com uma prevalência semelhante de aterosclerose subclínica (80,9%). Na avaliação sugerida pelo AHA/ACC, seriam consideradas “em risco” as tabagistas, as hipertensas tratadas ou não, com dislipidemia tratada ou não, com história familiar de DAC precoce, obesidade, sedentarismo, dieta inadequada, síndrome metabólica, evidência de doença aterosclerótica subclínica, baixo desempenho no teste ergométrico, doença autoimune do colágeno, história de pré-eclâmpsia, hipertensão na gestação e diabetes gestacional. Ou seja, somente pela presença de aterosclerose subclínica já teríamos 80,9% das pacientes “em risco”, sem considerarmos as demais condições.

O ERF é o algoritmo mais utilizado na prática clínica na estratificação de risco de DAC e de DCV, e adotado por várias diretrizes para traçar metas de abordagem clínica e terapêutica^{41,54,86}. Porém, no presente estudo, o ERF não se mostrou um preditor independente da presença de aterosclerose subclínica. A alta prevalência dessa em nossas pacientes reforça a necessidade de aprimorar a estratificação de risco. A associação de marcadores de risco, especialmente os exames de imagem, possibilitaram identificar as pacientes que, mesmo categorizadas como baixo risco pelo ERF, apresentavam acometimento vascular subclínico.

A rigidez arterial, avaliada pela VOP, tem sido identificada por diversos estudos um preditor independente de eventos cardiovasculares^{122,126,182}. Em nosso estudo, o percentil 75 da amostra foi o valor de 9,2 m/s, próximo ao encontrado no estudo de Lambrinoudaki *et al.*¹³¹, que obteve o valor de 9,5 m/s, também em mulheres na pós-menopausa.

Taniwaki *et al.*³⁷ encontraram correlação entre a VOP e a EMI carotídea. Krantz *et al.*¹⁸³ avaliaram a rigidez arterial em 177 pacientes, sendo 67% mulheres e 67% de origem latina. Relacionou, então, esta população, com fatores de risco, EMI carotídea e marcadores inflamatórios. Somente a VOP apresentou associação independente com a EMI carotídea. Em nosso estudo, a presença de maior EMI carotídea aumentou a chance de VOP > 9,2 m/s (OR=3,02; p=0,01). Também a VOP se relacionou com a presença de EMI aumentada, e placas nas carótidas e com a calcificação aórtica. Mas se associou de forma independente somente com a idade e a PAS. Houve, ainda, correlação positiva entre os valores da VOP e a EMI das carótidas e da artéria subclávia direita.

Coutinho *et al.*¹²⁸ avaliaram a VOP em 812 pacientes (58%, mulheres e 71%, hipertensos) e relacionaram com a presença de dano subclínico em órgão-alvo, estando independentemente associada à presença de CAC, doença arterial obstrutiva periférica (ITB), cerebral (pela ressonância nuclear magnética), mas não com a relação albumina/creatinina urinária. Em nosso estudo, a maior relação albumina/creatinina relacionou-se com a VOP somente na análise univariada. A medida da VOP foi realizada com dois métodos diferentes (tonometria e *carotid stiffness*) por Giannarelli *et al.*¹¹⁹ em 183 pacientes, e seus valores foram maiores nos pacientes diabéticos e nos hipertensos comparados ao controle. A rigidez arterial avaliada nas carótidas, assim como em nosso estudo, associou-se de forma independente com a idade e a PAS, mas também se relacionou com a PAD e presença de dislipidemia.

Lebrun *et al.*¹⁸⁴ avaliaram 385 mulheres na pós-menopausa e encontraram uma relação positiva da VOP com o IMC, a pressão arterial média, diabetes e triglicérides. O HDL-c e a altura das pacientes estiveram

inversamente relacionados. Também em nosso estudo, na análise univariada, a VOP relacionou-se inversamente com a altura das pacientes e com maiores valores do IMC, o ERF, glicemia de jejum, PAS, PAD e PP.

Devemos lembrar que, quando avaliamos a rigidez arterial e a EMI, estamos diante de alterações funcionais e estruturais da parede do vaso, que estão envolvidas no processo aterosclerótico, porém não são necessariamente aterosclerose. A EMI aumentada pode ocorrer tanto pela hipertrofia da média como espessamento da íntima, e podem estar relacionados à idade e HAS. O mesmo acontece com a rigidez arterial. No entanto, ambos são considerados marcadores substitutos, sendo largamente usados em estudos que envolvem a aterosclerose e o risco de eventos cardiovasculares^{111,113,131}

Estudos da prevalência de uma doença, em geral, podem variar nos seus resultados de acordo com a população que está sendo avaliada. Um problema para um estudo de prevalência de aterosclerose em nosso país é carecer, até o momento, de grandes estudos populacionais que mostrem os parâmetros de normalidade da população brasileira. Portanto, variações quanto a resultados aplicados aos métodos diagnósticos podem ocorrer, pois derivam de estudos e diretrizes internacionais, americanas e europeias, que não, necessariamente, refletem a realidade da nossa população. Em andamento, encontra-se o estudo ELSA (*Brazilian Longitudinal Study of Adult Health*) envolvendo 15.105p que abarca, além de dados clínicos, antropométricos e laboratoriais, a medida da EMI carotídea, a VOP, avaliação ecocardiográfica, dentre outros exames¹⁸⁵.

Apesar de, muitas vezes, durante um exame ultrassonográfico das artérias carótidas, o examinador se deparar com a presença de placa aterosclerótica na origem ou no segmento proximal da artéria subclávia direita, pouco se sabe sobre seu significado clínico na avaliação do risco cardiovascular. Assim como pouco se conhece quanto a sua relação com outros marcadores de aterosclerose, como a presença de placas ateroscleróticas em outros sítios e os demais fatores de risco. Não encontramos na literatura outro estudo que tivesse avaliado pela

ultrassonografia tanto a EMI como a presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita e sua relação com dados clínicos, laboratoriais e de imagem nas mulheres na pós-menopausa.

Em nosso estudo, a espessura mediointimal e a presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita se relacionaram com a idade, o ERF e a PAS. A EMI da artéria subclávia direita também se correlacionou com a idade da menopausa, com a PAD e a pressão de pulso. A idade e a PAS, por sua vez, associaram-se de forma independente com a presença de placas na artéria subclávia direita. A prevalência de placas na artéria subclávia direita foi de 38,4%. Prasad *et al.*¹⁴⁹ avaliaram 1.387 pacientes assintomáticos e encontraram uma de prevalência de 31,7% de calcificação em artérias subclávias na tomografia computadorizada sem contraste, que se relacionou com a idade, o tabagismo, HAS e calcificação em outros leitos vasculares (aorta, carótidas, coronárias, artérias renais e ilíacas), assim como se associou à presença da rigidez arterial aferida pela pressão de pulso¹⁴⁹. Devemos salientar que ausência de calcificação à tomografia não exclui totalmente a presença de placas ateroscleróticas, no entanto, a ultrassonografia é capaz visualizar as placas ateroscleróticas, sendo elas calcificadas ou não.

EMI da artéria subclávia direita, em nosso estudo, se relacionou com a EMI de carótidas, com a velocidade de onda de pulso, com a presença de placas carotídeas e calcificação aórtica. A presença de placas na artéria subclávia direita se relacionou com a EMI, e placas carotídeas e com a VOP.

Engelhorn *et al.*¹⁴⁸ estudaram a EMI na origem da artéria subclávia direita, e encontraram correlação entre esta medida e a EMI carotídea. Estes autores discutem uma possível explicação para o aparecimento do espessamento mediointimal na artéria subclávia direita, em que uma maior angulação na origem desta artéria levaria a um aumento da velocidade do fluxo, aumentando o estresse da superfície endotelial e das forças de cisalhamento. Estas alterações contribuiriam para o desenvolvimento do EMI e, posteriormente, da placa aterosclerótica naquela região¹⁴⁸.

Dentre os exames laboratoriais realizados em nosso trabalho, avaliamos o comportamento dos hormônios sexuais em relação à presença da aterosclerose subclínica.

No presente estudo, nenhum hormônio sexual se relacionou de forma independente com a presença de aterosclerose subclínica, porém, na análise univariada, alguns se relacionaram com os exames de imagem. Observou-se que o FSH, apesar de estar em níveis elevados, compatíveis com o estado de pós-menopausa, apresentou valores menores nas pacientes com maior ERF, síndrome metabólica, e VOP. O *Melbourne Women's Midlife Health Project* mostrou que, entre 46 e 54 anos, os níveis de FSH aumentam e, após os 56 anos, se achatam. Neste estudo, o IMC foi inversamente proporcional aos valores do FSH¹⁸⁶. Em nosso estudo, as concentrações séricas de FSH, LH e progesterona foram menores conforme aumentou o IMC¹⁸⁰. O mesmo observamos com o LH sérico que, mesmo em níveis mais elevados, valores menores se relacionaram com o CAC > 0, EMI carótidas, a VOP e a síndrome metabólica. Butler *et al.*¹⁸⁷ revisaram vários estudos sobre as alterações hormonais que ocorrem durante a perimenopausa e pós-menopausa, e citam que, na pós-menopausa mais tardia (maior que 5 anos), o FSH se mantém elevado, mas, após longos períodos, pode vir a diminuir. Como o LH normalmente acompanha o FSH, é possível que seus valores se reduzam com o tempo. De fato, em nosso estudo, o LH, o estradiol e a testosterona reduziram com a idade mais avançada que, por sua vez, pode ter influenciando na presença da aterosclerose subclínica.

Creatsa *et al.*¹⁸⁸ avaliaram 120 mulheres, na pós-menopausa, assintomáticas do ponto de vista cardiovascular. E associaram marcadores de aterosclerose subclínica com hormônios sexuais. Estes autores concluíram que níveis de testosterona e androgênios livres foram preditores independentes da EMI carotídea aumentada, sendo os androgênios livres, apenas da VOP. Assim como em nosso estudo, os valores de LH, na análise univariada, foram inversamente proporcionais à EMI carotídea, mas, em

nosso estudo, não encontramos correlação entre níveis de testosterona e a aterosclerose subclínica.

A relação entre a calcificação da aorta abdominal com os hormônios sexuais, foi avaliada em um subestudo do MESA, com 881 mulheres na pós-menopausa e 978 homens, encontrando relação apenas com a globulina ligadora de hormônios sexuais (SHBG – *sex hormone binding globulin*)¹⁸⁹. Como em nosso estudo, não houve relação entre a calcificação aórtica com níveis de testosterona ou estrogênio. O mesmo grupo avaliou 1.947 mulheres na pós-menopausa quanto à relação entre os hormônios sexuais, a EMI carotídea e a presença de CAC, e encontraram uma associação positiva e independente dos níveis séricos de testosterona com a EMI carotídea e inversa com a SHBG. O estradiol e a dehidroepiandrosterona não se associaram com EMI carotídea. Também neste estudo, os hormônios sexuais não se relacionaram com a presença de cálcio coronário. Em nosso estudo, os níveis de estrogênio e testosterona não se relacionaram com a EMI carotídea ou o CAC, encontramos associação, na análise univariada, com menores níveis de LH e progesterona nas pacientes com CAC > 0 (hormônios não mensurados neste estudo do grupo do MESA)¹⁹⁰.

Dentre os diversos exames realizados em nosso estudo, nos chamou a atenção o nível sérico do óxido nítrico. Valores mais elevados se associaram com a presença de aterosclerose carotídea e placas na aorta, assim como houve correlação positiva com o número de sítios acometidos pela aterosclerose subclínica. Uma explicação seria que, na evolução da aterosclerose, tanto podemos ter redução da sua biodisponibilidade como da bioatividade, em que a ação reduzida do NO pode ocorrer por diversos mecanismos, como: 1) alteração no acoplamento entre o receptor da membrana e o NO, dificultando sua liberação; 2) comprometimento da difusão em que, na presença de lesões ateroscleróticas que provoquem o espessamento da camada neoíntima, o NO teria dificuldade em atingir as células-alvo; e 3) reduzida sensibilidade das células-alvo ao NO. Além disso, sabe-se que a eNOS, funcionalmente normal, inibe a aterogênese pela produção do NO, porém tem sido aventada a possibilidade de, em certas

circunstâncias, como em presença de dislipidemia e aterosclerose, a eNOS se tornar disfuncionante e produzir superóxido causando um desarranjo no NO¹⁹¹. Chatterjee *et al.*²³ demonstraram que o NO pode ter tanto um efeito antiaterogênico quanto pró-aterogênico dependendo do curso da progressão da doença. Altos níveis de NO podem levar à injúria endotelial, pois o peroxinitrito, que é o produto da interação do NO com superóxido, pode ser produzido em grande quantidade pelas lesões ateroscleróticas.

O endotélio forma uma interface dinâmica entre a parede arterial e o sangue, sua disfunção está relacionada com a aterosclerose, HAS e falência cardíaca³⁸. Os estudos mostram que a geração de NO pelo endotélio, a partir da ativação da NOS3 (eNOS), resulta em vasodilatação, inibição da agregação plaquetária, da proliferação e migração de células musculares lisas, adesão de leucócitos e o estresse oxidativo^{192,193}.

Gomez-Fernandez *et al.*¹⁹⁴ avaliaram a expressão de mRNA do gene *NOS3*, a atividade da NOS3 e também a EMI da artéria radial de pacientes com insuficiência renal crônica (IRC), comparados com o grupo controle, observaram uma maior EMI e maior expressão de mRNA do gene *NOS3* nos pacientes com insuficiência renal crônica, mas não notaram diferença da atividade da NOS3 em relação aos controles. Em nosso estudo, avaliamos a expressão de mRNA do gene *NOS3* em leucócitos e observamos correlação positiva com a EMI carotídea. A pesquisa da expressão de mRNA do gene da *NOS3* em células sanguíneas já foi realizada por outros autores. De Frutos *et al.*¹⁹⁵ avaliaram, em neutrófilos humanos, a expressão do mRNA do gene *NOS3* e da NOS3 em pacientes com IAM, demonstrando uma relação inversa com o aumento dos níveis séricos de TNF α . A atividade da NOS3 no endotélio pode estar alterada em diversas situações como na aterosclerose e no diabetes²⁵. De fato, tem sido descrito que muitos dos fatores de risco levam ao estresse oxidativo, causam disfunção endotelial e predispõem a aterosclerose¹⁹².

No desenvolvimento da aterosclerose, a inflamação tem papel fundamental⁴⁴. As citocinas inflamatórias (como o TNF α , a IL6), moléculas de adesão e a PCR têm sido relacionadas com a aterosclerose²⁶⁻²⁸. Porém,

pouco se sabe sobre a relação entre a expressão dos genes do *TNFA* e *IL6*, e a presença de aterosclerose subclínica. Em nosso estudo, apesar da expressão desses genes não se relacionar de forma independente com aterosclerose subclínica, houve associação na análise univariada.

A expressão dos genes do *TNFA* e do *IL6* relacionou-se com a presença da aterosclerose subclínica e individualmente com a EMI carotídea aumentada. Houve relação, também, com a presença de dislipidemia e menores níveis de cálcio sérico. A expressão do *TNFA* se correlacionou com o ERF, com o LDL-c e Apo B. A expressão do *IL6*, por sua vez, se correlacionou com a idade na menopausa, com a relação cintura/quadril, colesterol total, LDL-c e Apo B.

Assim como em nosso estudo, Kempf *et al.*¹⁹⁶ avaliaram a expressão do gene do *TNFA* e *IL6* em leucócitos de sangue periférico, porém em pacientes com IAM, e observaram que a expressão do *TNFA* foi maior nos pacientes com IAM que nos controles, mas a expressão do *IL6*, por sua vez, não foi diferente entre eles. Outros estudos avaliaram a expressão do *IL6* em outros tecidos. Seino *et al.*²⁷ relataram uma expressão do *IL6* 10 a 40 vezes maior em artérias coronárias ateroscleróticas que nas normais, o que foi observado, também, por outros autores¹⁹⁷. Estudos experimentais com aorta de ratos também mostraram expressão do *IL6*¹⁹⁸. O papel dos receptores de *IL6* e *TNFα* foi estudado nas mulheres, sendo observado que estes se associaram à reatividade vascular (dilatação fluxo - mediada), à EMI carotídea e à VOP, o mesmo não aconteceu com as concentrações plasmáticas de *IL6* e *TNFα*, sugerindo que a expressão destes receptores poderia ser melhor indicadora do dano vascular precoce¹⁹⁹. Portanto, como em nosso estudo, a expressão do *TNFA* e do *IL6* parece estar, de fato, relacionada com a presença de aterosclerose.

A relação entre a expressão do mRNA do gene do *ESR1* e a presença de aterosclerose subclínica não foi identificada em nosso estudo. Algumas possibilidades podem estar relacionadas a este resultado. Tanto o *REα* quanto do *REβ* se expressam na parede arterial de homens e de mulheres, assim como em outros tecidos²⁰⁰. A expressão de mRNA em leucócitos de

sangue periférico, como realizado no presente trabalho, já foi descrita por alguns autores^{201,202}. Porém, um estudo mostrou que, em se tratando de leucócitos, dependendo da célula avaliada, a expressão, tanto do RE α quanto do RE β , pode variar, o que talvez dificulte a análise dos resultados²⁰².

Em nosso estudo, foi avaliada a expressão do gene do *ESR1*, relativo ao RE α . Em uma análise de artérias coronárias de mulheres após a morte, Losordo *et al.*²⁰³, mostram que não somente havia RE nas células musculares lisas, mas também relacionaram a sua presença à ausência de aterosclerose. Também avaliando células musculares de coronárias, aorta e ilíacas, Hodges *et al.*²⁰⁴ encontraram que RE β se expressam mais que os RE α , além disso, se relacionaram à presença de calcificação coronária independentemente da idade²⁰⁵. Talvez, em sangue periférico, também o RE β se expresse mais que o RE α e se relacione com a presença da aterosclerose.

Em nosso meio, não encontramos outro estudo que tenha avaliado a prevalência da aterosclerose subclínica, em mulheres na pós-menopausa, por diversos métodos de imagem, relacionando-os com dados clínicos, laboratoriais e genéticos.

Limitações:

Uma das limitações deste estudo pode ser a amostra a qual foi relativamente pequena, o que pode prejudicar a detecção de algumas associações. Também por se tratar de um grupo específico, mulheres na pós-menopausa, os resultados restringem-se à população estudada.

Como já comentado anteriormente, é possível que a população brasileira, pela sua miscigenação racial, situação socioeconômica e hábitos de vida (alimentação, prática de exercícios físicos, entre outros), apresente diferentes parâmetros de normalidade para exames clínico-laboratoriais e da imagem, mas ainda carecemos de estudos populacionais para defini-los.

Enfim, este é um estudo transversal, o seguimento destas pacientes poderá nos mostrar se os achados clínicos, laboratoriais e a presença de aterosclerose subclínica, de fato, implicarão na ocorrência de eventos cardiovasculares.

Perspectivas:

Os resultados do presente estudo nos mostram que mulheres brasileiras, na pós-menopausa, com risco baixo e intermediário (ERF) possam estar subdiagnosticadas quanto ao risco cardiovascular, por conta da alta prevalência de aterosclerose subclínica.

Atualmente, os modelos de estratificação de risco sugerem a avaliação por exames de imagem em casos com risco intermediário. Nosso estudo mostrou uma alta prevalência da aterosclerose subclínica mesmo em mulheres com baixo risco, sugerindo que essas também devam ser avaliadas mais criteriosamente.

Novos estudos devem ser realizados para avaliar a ocorrência de eventos cardiovasculares em médio e longo prazo neste grupo, e sistematizar a custo-efetividade da realização de exames de imagem em pacientes de baixo risco.

Avaliar se o acometimento aterosclerótico da subclávia direita, além de se relacionar com fatores de risco e outros exames de imagem, também se relacionam com a ocorrência de eventos.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Principal:

A prevalência da aterosclerose subclínica foi de 81,2% nas mulheres na pós-menopausa com risco baixo e intermediário pelo escore de Framingham.

Secundárias:

1. A espessura mediointimal e a presença de placas ateroscleróticas na artéria subclávia direita relacionaram-se com valores mais elevados da idade, do escore de risco de Framingham e da pressão arterial sistólica;
2. Houve associação entre maior expressão do mRNA dos genes *TNFA* e *IL6* com a presença de aterosclerose subclínica. A expressão do mRNA do gene *NOS3* correlacionou-se positivamente com a espessura mediointimal carotídea.

7 ANEXOS

ANEXO A - Exames Laboratoriais: Valores de Referência e Métodos Utilizados

Nome do Exame	Valores de Referência	Método	Material
Ácido úrico	Masculino: 3,4 a 7,0 mg/dL Feminino: 2,4 a 5,7 mg/dL	Enzimático – Uricase	Soro
Apolipoproteína A	Masculino: 94 a 178 mg/dL Feminino: 101 a 199 mg/dL	Nefelometria	Soro
Apolipoproteína B	Masculino: 52 a 109 mg/dL Feminino: 49 a 103 mg/dL	Nefelometria	Soro
Colesterol	Acima de 19 anos: Desejáveis: < 200 mg/dL Limitrofes: 200 a 239 mg/dL Elevados: > 239 mg/dL	Colorimétrico – Peroxidase	Soro
Colesterol HDL	Acima de 19 anos Baixo: < a 40 mg/dL Desejável: > a 60 mg/dL	Colorimétrico – Enzimático	Soro
Colesterol LDL	Acima de 19 anos: Ótimo: < a 100 mg/dl Desejável: 100 a 129 mg/dl Limítrofe: 130 a 159 mg/dl Elevado: 160 a 189 mg/dl Muito Elevado: > a 189 mg/dl	Eq. De Friedwald	Soro
Cortisol	6,7 a 22,6 ug/dL	Quimioluminescência	Soro
Creatinina	Adulto: 0,70 a 1,5mg/dL	Colorimétrico - Jaffé	Soro
Estradiol	Masculino: < 75,0 pg/mL Feminino: F.Folicular: 24,0 a 114,0 pg/mL Pico: 62,0 a 534,0 pg/mL F. Lutea: 80,0 a 273,0 pg/mL Pós-Menop.: < 88,0 pg/mL	Quimioluminescência	Soro
Fibrinogênio	180 a 350 mg/dL	Klauss modificado	Plasma
FSH – Hormônio folículo estimulante	Masculino = 1,27 a 19,26 mul/mL Feminino Folicular = 3,85 a 8,78 mul/mL Pico = 4,54 a 22,51 mul/mL F. Lutea = 1,79 a 5,12 mul/mL Pos- Menopausa = 16,74 a 113,59 mul/mL Gestante= < 0,30 mul/mL	Quimioluminescência	Soro
Glicose	60 até 100 mg/dL	Colorimétrico enzimático	Soro ou plasma

Nome do Exame	Valores de Referência	Método	Material
Hemoglobina Glicosilada	Final da Pub. e Adultos Jovens: Inferior a 7,0% Idosos: os valores devem ser individualizados	HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência)	Sangue Total EDTA
Insulina Basal	1,9 a 23,0 uIU/ml	Quimioluminescência	Soro
LH	Masculino = 1,24 a 8,62 mUI/mL Feminino Folicular = 2,12 a 10,89 mUI/mL Pico = 19,18 a 103,00 mUI/mL Gestante = < 1,50 mUI/mL F. Lutea = 1,20 a 12,86 mUI/mL Pos- Menopausa = 10,87 a 58,64 mUI/mL Crianças = < 6,00 mUI/mL	Quimioluminescência	Soro
PCR	Inferior a 0,8 mg/dL Sensibilidade do teste: 0,05 mg/dL	Nefelometria e/ou Aglutinação	Soro
Potássio	3,5 a 5,6 mmol/L	Eletrodo íon-seletivo	Soro
Sódio	136 a 146 mmol/L	Eletrodo íon-seletivo	Soro
Testosterona total	RN : Até 39,00 uIU/mL 2a semana a 1 mes: 0,34 a 16,00 uIU/mL 1 mes a 5 anos : 0,34 a 9,00 uIU/mL 6 a 18 anos : 0,34 a 6,00 uIU/mL Adultos : 0,34 a 5,60 uIU/mL	Quimioluminescência	Soro
TGO/AST	Feminino: até 40 U/L Masculino: até 50 U/L	Cinético – IFCC	
TGP/ALT	Masculino: até 50 U/L Feminino: até 40 U/L	Cinético – IFCC	
Triglicérides	Desejáveis: < a 150 mg/dL Limitrofe: 150 a 200 mg/dL Elevado: 201 a 499 mg/dL Muito elevado: > 500 mg/dL	Colorimétrico - Peroxidase	Soro
TSH	RN : Até 39,00 uIU/mL 2a semana a 1 mes: 0,34 a 16,00 uIU/mL 1 mes a 5 anos : 0,34 a 9,00 uIU/mL 6 a 18 anos : 0,34 a 6,00 uIU/mL Adultos : 0,34 a 5,60 uIU/mL	Quimioluminescência	Soro
T4 livre	0,54 a 1,60 ng/dL	Quimioluminescência	Soro

ANEXO B – Normograma de valores da EMI do estudo MESA (*Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*)⁴⁹.

Mean far wall-right																
Age, y/percentile	White male				White female				Black male				Black female			
	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84
25th	0.52	0.57	0.65	0.72	0.51	0.55	0.65	0.72	0.58	0.61	0.71	0.74	0.55	0.60	0.65	0.71
50th	0.62	0.68	0.77	0.83	0.58	0.65	0.75	0.83	0.67	0.74	0.85	0.85	0.64	0.71	0.76	0.83
75th	0.71	0.81	0.92	0.97	0.67	0.76	0.87	0.93	0.80	0.92	0.99	1.02	0.74	0.81	0.92	0.96

Mean far wall-left																
Age, y/percentile	Chinese male				Chinese female				Hispanic male				Hispanic female			
	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84
25th	0.54	0.56	0.62	0.66	0.55	0.54	0.59	0.67	0.53	0.60	0.65	0.71	0.51	0.57	0.65	0.63
50th	0.64	0.70	0.73	0.79	0.60	0.63	0.71	0.77	0.62	0.67	0.78	0.81	0.58	0.69	0.76	0.78
75th	0.73	0.83	0.92	0.98	0.70	0.77	0.84	0.96	0.73	0.82	0.90	0.92	0.67	0.77	0.87	0.92

Mean far wall-left																
Age, y/percentile	Chinese male				Chinese female				Hispanic male				Hispanic female			
	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84
25th	0.55	0.57	0.62	0.69	0.49	0.52	0.58	0.64	0.55	0.61	0.68	0.72	0.51	0.58	0.62	0.68
50th	0.63	0.70	0.72	0.84	0.58	0.63	0.71	0.76	0.64	0.72	0.80	0.86	0.58	0.68	0.72	0.77
75th	0.73	0.84	0.86	0.97	0.67	0.72	0.87	0.94	0.75	0.85	0.98	0.97	0.68	0.79	0.86	0.91

Mean far wall-left																
Age, y/percentile	White male				White female				Black male				Black female			
	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84	45-54	55-64	65-74	75-84
25th	0.54	0.57	0.67	0.71	0.50	0.55	0.63	0.70	0.56	0.63	0.69	0.72	0.54	0.59	0.63	0.68
50th	0.63	0.69	0.81	0.85	0.58	0.64	0.73	0.80	0.69	0.75	0.82	0.85	0.63	0.67	0.76	0.78
75th	0.78	0.82	0.95	1.00	0.67	0.75	0.85	0.94	0.81	0.92	0.99	1.02	0.73	0.80	0.90	0.91

ANEXO C - Termo de Consentimento do Estudo Aprovado pelo CEP.**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****“PREVALÊNCIA DA ATEROSCLEROSE SUBCLÍNICA EM MULHERES NA PÓS-MENOPAUSA COM RISCO CARDIOVASCULAR BAIXO E INTERMEDIÁRIO ESTIMADO PELO ESCORE DE FRAMINGHAM”****CENTRO: INSTITUTO DANTE PAZZANESE DE CARDIOLOGIA****INVESTIGADOR: Dra. Ana Cláudia Gomes Pereira Petisco****NÚMERO DO PACIENTE:** _____**INICIAIS DO PACIENTE:** _____**OBJETIVO DESTE ESTUDO**

Você está sendo convidada para participar deste estudo para avaliarmos o seu risco cardiovascular por meio de ultrassom, tomografia e exames laboratoriais, obtendo dados que possam no futuro estimar a chance de eventos adversos (infarto, morte e acidente vascular cerebral).

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Caso você queira participar deste estudo, realizaremos um exame de ultrassom, uma tomografia computadorizada, uma coleta de exames de sangue e um exame de urina.

RISCOS E DESCONFORTOS

Trata-se de ultrassom das artérias carótidas e subclávia direita, que não necessitam de nenhum preparo. Para a coleta do sangue, deve estar em jejum de pelo menos 12 horas, pode sentir o desconforto da picada da agulha e os riscos inerentes a uma coleta de sangue normal, sendo mais comum o sangramento local. Em relação à tomografia computadorizada, será exposto à radiação mínima, sem evidência atual de efeito adverso ou necessidade de preparo para o exame.

Um pouco do sangue coletado durante o estudo será conservado e guardado, sendo utilizado para analisar os genes relacionados às doenças do coração. Se a senhora concordar, seu sangue ficará guardado no laboratório, por, no máximo, 5 anos.

A senhora concorda que seu sangue seja guardado?

Sim, eu concordo () Não, eu não concordo () – mesmo que a senhora não concorde que parte do seu sangue seja armazenado, a senhora poderá participar do estudo.

BENEFÍCIOS POTENCIAIS

O estudo em questão proporciona uma coleta de dados do ultrassom, tomografia e exames laboratoriais que permitirá avaliar no futuro o risco de pacientes que estão em condições semelhantes a sua para eventos cardiovasculares adversos.

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. Seu médico será informado de sua participação neste estudo e estaremos à disposição dele para prestar qualquer esclarecimento.

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.

Os membros da equipe de pesquisa podem encerrar sua participação no programa de pesquisa após análise das razões pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Instituição. O motivo será explicado a você e pode ser devido a alguma alteração médica que possa colocá-la em risco de complicações se continuar a participar, cancelamento do estudo pela coordenação do estudo, por você não cumprir as orientações dadas pela equipe de pesquisa ou outras questões administrativas. Caso isso venha a acontecer seu tratamento continuará sendo feito pelo seu médico.

TRATAMENTO MÉDICO

O seu tratamento regular no Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia será mantido normalmente.

O serviço de pronto-socorro do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia estará pronto a recebê-lo e tratá-lo em caso de intercorrências, também entrando em contato com o médico responsável pelo estudo caso necessário.

Em caso de dúvida a respeito da pesquisa entre em contato com Dra. Ana Cláudia Gomes Pereira Petisco imediatamente no telefone 5085-6060.

Ao assinar este termo você não abre mão de nenhum direito legal.

SOLICITAÇÃO DE INFORMAÇÕES ADICIONAIS

O investigador clínico, Dra. Ana Cláudia Gomes Pereira Petisco, tel: 5085-6060 irá responder às 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 5085-4040. 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.

_____	_____	____:____ h
Assinatura do Paciente	Data	Hora
_____	_____	____:____ h
Testemunha (se necessário)	Data	Hora
_____	_____	____:____ h
Assinatura do Investigador	Data	Hora

8 REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de atenção à mulher no climatério/menopausa; 2008 [citado 9 de dez 2013]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_climaterio.pdf.
2. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Síntese de indicadores sociais: uma análise das condições de vida da população brasileira; 2010 [citado 9 dez 2013]. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/indicadoresminimos/sinteseindicsoais2010/SIS_2010.pdf.
3. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Associação Brasileira do Climatério. I Diretriz brasileira sobre prevenção de doenças cardiovasculares em mulheres climatéricas e a influência da terapia de reposição hormonal (TRH). *Arq Bras Cardiol*. 2008;91(Supl.1):1-23.
4. Sallam T, Watson KE. Predictors of cardiovascular risk in women. *Womens Health (Lond Engl)*. 2013;9(5):491-8.
5. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, Albus C, Benlian P, Boysen G, Cifkova R, Deaton C, Ebrahim S, Fisher M, Germano G, Hobbs R, Hoes A, Karadeniz S, Mezzani A, Prescott E, Ryden L, Scherer M, Syvnne M, Scholte op Reimer WJ, Vrints C, Wood D, Zamorano JL, Zannad F; European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR); ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J*. 2012;33(13):1635-701.
6. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med*. 2002;346(5):340-52.
7. Woodard GA, Brooks MM, Barinas-Mitchell E, Mackey RH, Matthews KA, Sutton-Tyrrell K. Lipids, menopause, and early atherosclerosis in study of women's health across the nation heart women. *Menopause*. 2011;18(4):376-84.

8. Eaker ED, Thom T, Castelli WP. Coronary heart disease in women. *Soz Praventivmed.* 1988;33(1):10-6.
9. Stramba-Badiale M, Fox KM, Priori SG, Collins P, Daly C, Graham I, Jonsson B, Schenck-Gustafsson K, Tendera M. Cardiovascular diseases in women: a statement from the policy conference of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2006;27(8):994-1005.
10. Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, Sapp SK, Ohman EM, Brener SJ, Ellis SG, Lincoff AM, Topol EJ. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA.* 2003;290(7):898-904.
11. Rathore SS, Chen J, Wang Y, Radford MJ, Vaccarino V, Krumholz HM. Sex differences in cardiac catheterization: the role of physician gender. *JAMA.* 2001;286(22):2849-56.
12. Shlipak MG, Elmouchi DA, Herrington DM, Lin F, Grady D, Hlatky MA; Heart and Estrogen/progestin Replacement Study Research Group. The incidence of unrecognized myocardial infarction in women with coronary heart disease. *Ann Intern Med.* 2001;34(11):1043-7.
13. Reddy KS. Cardiovascular disease in non-Western countries. *N Engl J Med.* 2004;350(24):2438-40.
14. Santos RD, Nasir K. Insights into atherosclerosis from invasive and non-invasive imaging studies: should we treat subclinical atherosclerosis? *Atherosclerosis.* 2009;205(2):349-56.
15. Mendelsohn ME, Karas RH. Protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med.* 1999;340(23):1801-11.
16. Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Haggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology.* 1997;138(3):863-70.
17. Zhu BT, Han GZ, Shim JY, Wen Y, Jiang XR. Quantitative structure-activity relationship of various endogenous estrogen metabolites for human estrogen receptor alpha and beta subtypes: Insights into the structural determinants favoring a differential subtype binding. *Endocrinology.* 2006;147(9):4132-50.

18. Borggreve SE, De Vries R, Dullaart RP. Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin: cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. *Eur J Clin Invest.* 2003;33(12):1051-69.
19. Mendelsohn ME. Protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *Am J Cardiol.* 2002;89(12A):12E-18E.
20. Kim KH, Moriarty K, Bender JR. Vascular cell signaling by membrane estrogen receptors. *Steroids.* 2008;73(9-10):864-9.
21. Nickenig G, Strehlow K, Wassmann S, Baumer AT, Albory K, Sauer H, Bohm M. Differential effects of estrogen and progesterone on AT1 receptor expression in vascular smooth muscle cells. *Circulation.* 2000;102(15):1828-33.
22. Chambliss KL, Yuhanna IS, Mineo C, Liu P, German Z, Sherman TS, Mendelsohn ME, Anderson RG, Shaul PW. Estrogen receptor alpha and endothelial nitric oxide synthase are organized into a functional signaling module in caveolae. *Circ Res.* 2000;87(11):E44-52.
23. Chatterjee A Black SM, Catravas JD. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascul Pharmacol.* 2008;49(4-6):134-40.
24. Insull W Jr. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *Am J Med.* 2009;122(1 Suppl):S3-S14.
25. Quyyumi AA. Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease. *Am J Med.* 1998;105(1A):32S-39S.
26. Pfeilschifter J, Koditz R, Pfohl M, Schatz H. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endoc Reviews.* 2002;23(1):90-119.
27. Seino Y, Ikeda U, Ikeda M, Yamamoto K, Misawa Y, Hasegawa T, Kano S, Shimada K. Interleukin 6 gene transcripts are expressed in human atherosclerotic lesions. *Cytokine.* 1994;6(1):87-91.

28. Barath P, Fishbein MC, Cao J, Berenson J, Helfant RH, Forrester JS. Tumor necrosis factor gene expression in human vascular intimal smooth muscle cells detected by in situ hybridization. *Am J Pathol*. 1990;137(3):503-9.
29. Yoshihara R, Utsunomiya K, Gojo A, Ishizawa S, Kanazawa Y, Matoba K, Taniguchi K, Yokota T, Kurata H, Yokoyama J, Urashima M, Tajima N. Association of polymorphism of estrogen receptor-alpha gene with circulating levels of adiponectin in postmenopausal women with type 2 diabetes. *J Atheroscler Thromb*. 2009;16(3):250-5.
30. Devaraj S, Singh U, Jialal I. The evolving role of C-reactive protein in atherothrombosis. *Clin Chem*. 2009;55(2):229-38.
31. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C: Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*. 2004;109(3):433-8.
32. Hu G, Qiao Q, Tuomilehto J, Balkau B, Borch-Johnsen K, Pyorala K; for the DECODE Study Group. Prevalence of the metabolic syndrome and its relation to all-cause and cardiovascular mortality in nondiabetic European men and women. *Arch Intern Med*. 2004;164(10):1066-76.
33. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA*. 2002;288(21):2709-16.
34. de Koning L, Merchant AT, Pogue J, Anand SS. Waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of cardiovascular events: meta-regression analysis of prospective studies. *Eur Heart J*. 2007;28(7):850-6.
35. Jeppesen J, Hansen TW, Rasmussen S, Ibsen H, Torp-Pedersen C, Madsbad S. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular disease: a population-based study. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49(21):2112-9.
36. American Heart Association. Atherosclerosis; 2012 [cited 2013 Sep 27]: Available from: http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/Cholesterol/WhyCholesterolMatters/Atherosclerosis_UCM_305564_Article.jsp.

37. Taniwaki H, Kawagishi T, Emoto M, Shoji T, Kanda H, Maekawa K, Nishizawa Y, Morii H. Correlation between the intima-media thickness of the carotid artery and aortic pulse-wave velocity in patients with type 2 diabetes. Vessel wall properties in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1999;22(11):1851-7.
38. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(2):257-65.
39. Vogel RA. Coronary risk factor, endothelial function and atherosclerosis: a review. *Clin Cardiol*. 1997;20(5):426-32.
40. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115(10):1285-95.
41. Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FA, Bertolami MC, Afiune Neto A, Souza AD, Lottenberg AM, Chacra AP, Faludi AA, Loures-Vale AA, Carvalho AC, Duncan B, Gelonese B, Polanczyk C, Rodrigues Sobrinho CR, Scherr C, Karla C, Armaganijan D, Moriguchi E, Saraiva F, Pichetti G, Xavier HT, Chaves H, Borges JL, Diamant J, Guimarães JI, Nicolau JC, dos Santos JE, de Lima JJ, Vieira JL, Novazzi JP, Faria Neto Jr, Torres KP, Pinto Lde A, Bricarello L, Bodanese LC, Introcaso L, Malachias MV, Izar MC, Magalhães ME, Schmidt MI, Scartezini M, Nobre M, Foppa M, Forti NA, Berwanger O, Gebara OC, Coelho OR, Maranhão RC, dos Santos-Filho RD, Costa RP, Barreto S, Kaiser S, Ihara S, Carvalho Td, Martinez TL, Relvas WG, Salgado W; Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol*. 2007;88(Suppl 1):2-19.
42. Jensen J, Nilas L, Christiansen C. Influence of menopause on serum lipids and lipoproteins. *Maturitas*. 1990;12(4):321-31.
43. Ansell BJ, Fonarow GC, Fogelman AM. The paradox of dysfunctional high-density lipoprotein. *Curr Opin Lipidol*. 2007;18(4):427-34.

44. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105(9):1135-43.
45. Evangelista, R. Velocidade de onda de pulso arterial: um marcador da rigidez arterial e a sua aplicabilidade na prática clínica. *Rev Port Cardiol*. 2011;30(9):699-702.
46. Dzau VJ, Antman EM, Black HR, Hayes DL, Manson JE, Plutzky J, Popma JJ, Stevenson W. The cardiovascular disease continuum validated: clinical evidence of improved patient outcomes: part I: Pathophysiology and clinical trial evidence (risk factors through stable coronary artery disease). *Circulation*. 2006;114(25):2850-70.
47. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigos J, Lisheng L; INTERHEART Study Investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;364(9438):937-52.
48. Ohman EM, Bhatt DL, Steg PG, Goto S, Hirsch AT, Liao CS, Mas JL, Richard AJ, Röther J, Wilson PW; REACH Registry Investigators. The REduction of Atherothrombosis for Continued Health (REACH) Registry: an international, prospective, observational investigation in subjects at risk for atherothrombotic events-study design. *Am Heart J*. 2006;151(4):786.e1-10.
49. Piegas LS, Avezum A, Pereira JC, Neto JM, Hoepfner C, Farran JA, Ramos RF, Timerman A, Esteves JP; AFIRMAR Study Investigators. Risk factors for myocardial infarction in Brazil. *Am Heart J*. 2003;146(2):331-8.
50. Avezum A, Piegas LS, Pereira JC. [Risk factors associated with acute myocardial infarction in the São Paulo metropolitan region: a developed region in a developing country]. *Arq Bras Cardiol*. 2005;84(3):206-13.
51. Cooney MT, Dudina AL, Graham IM. Value and limitations of existing scores for the assessment of cardiovascular risk: a review for clinicians. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(14):1209-27.
52. Dawber TR, Meadors GF, Moore FE Jr. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am J Public Health*. 1951;41(3):279-81.

53. D'Agostino RB Sr, Grundy S, Sullivan LM, Wilson P; CHD Risk Prediction Group. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation. *JAMA*. 2001;286(2):180-7.
54. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106(25):3143-421.
55. Lauer MS. Primary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease: the high public burden of low individual risk. *JAMA*. 2007;297(12):1376-8.
56. Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. The distribution of 10-Year risk for coronary heart disease among US adults: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey III. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(10):1791-6.
57. Schlendorf KH, Nasir K, Blumenthal RS. Limitations of the Framingham risk score are now much clearer. *Prev Med*. 2009;48(2):115-6.
58. Mosca L, Banka CL, Benjamin EJ, Berra K, Bushnell C, Dolor RJ, Ganiats TG, Gomes AS, Gornik HL, Gracia C, Gulati M, Haan CK, Judelson DR, Keenan N, Kelepouris E, Michos ED, Newby LK, Oparil S, Ouyang P, Oz MC, Petitti D, Pinn VW, Redberg RF, Scott R, Sherif K, Smith SC Jr, Sopko G, Steinhorn RH, Stone NJ, Taubert KA, Todd BA, Urbina E, Wenger NK; Expert Panel/Writing Group; American Heart Association; American Academy of Family Physicians; American College of Obstetricians and Gynecologists; American College of Cardiology Foundation; Society of Thoracic Surgeons; American Medical Women's Association; Centers for Disease Control and Prevention; Office of Research on Women's Health; Association of Black Cardiologists; American College of Physicians; World Heart Federation; National Heart, Lung, and Blood Institute; American College of Nurse Practitioners. Evidence-based guidelines for cardiovascular disease prevention in women: 2007 update. *Circulation*. 2007;115(11):1481-501.

59. Mosca L, Benjamin EJ, Berra K, Bezanson JL, Dolor RJ, Lloyd-Jones DM, Newby LK, Piña IL, Roger VL, Shaw LJ, Zhao D, Beckie TM, Bushnell C, D'Armiento J, Kris-Etherton PM, Fang J, Ganiats TG, Gomes AS, Gracia CR, Haan CK, Jackson EA, Judelson DR, Kelepouris E, Lavie CJ, Moore A, Nussmeier NA, Ofili E, Oparil S, Ouyang P, Pinn VW, Sherif K, Smith SC Jr, Sopko G, Chandra-Strobos N, Urbina EM, Vaccarino V, Wenger NK. Effectiveness-based guidelines for the prevention of cardiovascular disease in women--2011 update: a guideline from the American Heart Association. *Circulation*. 2011;123(11):1243-62.
60. Eleid MF, Lester SJ, Wiedenbeck TL, Patel SD, Appleton CP, Nelson MR, Humphries J, Hurst RT. Carotid ultrasound identifies high risk subclinical atherosclerosis in adults with low Framingham risk scores. *J Am Soc Echocardiogr*. 2010;23(8):802-8.
61. Michos ED, Nasir K, Braunstein JB, Rumberger JA, Budoff MJ, Post WS, Blumenthal RS. Framingham risk equation underestimates subclinical atherosclerosis risk in asymptomatic women. *Atherosclerosis*. 2006;184(1):201-6.
62. Nasir K, Michos ED, Blumenthal RS, Raggi P. Detection of high-risk young adults and women by coronary calcium and National Cholesterol Education Program Panel III guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(10):1931-6.
63. Pasternak RC, Abrams J, Greenland P, Smaha LA, Wilson PW, Houston-Miller N. 34th Bethesda Conference: Task force #1--Identification of coronary heart disease risk: is there a detection gap? *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(11):1863-74.
64. Shah PK. Screening asymptomatic subject for subclinical atherosclerosis. Can we, does it matter, and should we? *J Am Coll Cardiol*. 2010;56(2):98-105.
65. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, Najjar SS, Rembold CM, Post WS; American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr*. 2008;21(2):93-111.

66. Yeboah J, McClelland RL, Polonsky TS, Burke GL, Sibley CT, O'Leary D, Carr JJ, Goff DC, Greenland P, Herrington DM. Comparison of novel risk markers for improvement in cardiovascular risk assessment in intermediate-risk individuals. *JAMA*. 2012;308(8):788-95.
67. Gaziano JM, Wilson PW. Cardiovascular risk assessment in the 21st century. *JAMA*. 2012;308(8):816-7.
68. Davidson MH, Ballantyne CM, Jacobson TA, Bittner VA, Braun LT, Brown AS, Brown WV, Cromwell WC, Goldberg RB, McKenney JM, Remaley AT, Sniderman AD, Toth PP, Tsimikas S, Ziajka PE, Maki KC, Dicklin MR. Clinical utility of inflammatory markers and advanced lipoprotein testing: advice from an expert panel of lipid specialists. *J Clin Lipidol*. 2011;5(5):338-67.
69. International Atherosclerosis Society. An International Atherosclerosis Society position paper: global recommendations for the management of dyslipidemia; 2013 [cited 2013 Nov 13]. Available from: http://www.athero.org/download/IASPPGuidelines_FullReport_20131011.pdf.
70. Hsia J, Rodabough RJ, Manson JE, Liu S, Freiberg MS, Graettinger W, Rosal MC, Cochrane B, Lloyd-Jones D, Robinson JG, Howard BV; Women's Health Initiative Research Group. Evaluation of the American Heart Association cardiovascular disease prevention guideline for women. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2010;3(2):128-34.
71. Lloyd-Jones DM, Leip EP, Larson MG, D'Agostino RB, Beiser A, Wilson PW, Wolf PA, Levy D. Prediction of lifetime risk for cardiovascular disease by risk factor burden at 50 years of age. *Circulation*. 2006;113(6):791-8.
72. Berry JD, Dyer A, Cai X, Garside DB, Ning H, Thomas A, Greenland P, Van Horn L, Tracy RP, Lloyd-Jones DM. Lifetime risks of cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2012;366(4):321-9.
73. Pencina MJ, D'Agostino RB Sr, Larson MG, Massaro JM, Vasan RS. Predicting the 30-year risk of cardiovascular disease: the framingham heart study. *Circulation*. 2009;119(24):3078-84.

74. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Münster (PROCAM) study. *Circulation*. 2002;105(3):310-5.
75. Empana JP, Ducimetière P, Arveiler D, Ferrières J, Evans A, Ruidavets JB, Haas B, Yarnell J, Bingham A, Amouyel P, Dallongeville J; PRIME Study Group. Are the Framingham and PROCAM coronary heart disease risk functions applicable to different European populations? The PRIME Study. *Eur Heart J*. 2003;24(21):1903-11.
76. Empana JP, Ducimetière P, Arveiler D, Ferrières J, Evans A, Ruidavets JB, Haas B, Yarnell J, Bingham A, Amouyel P, Dallongeville J; PRIME Study Group. Are the Framingham and PROCAM coronary heart disease risk functions applicable to different European populations? The PRIME Study. *Eur Heart J*. 2003;24(21):1903-11.
77. Hippisley-Cox J, Coupland C, Vinogradova Y, Robson J, May M, Brindle P. Derivation and validation of QRISK, a new cardiovascular disease risk score for the United Kingdom: prospective open cohort study. *BMJ*. 2007;335(7611):136.
78. Hippisley-Cox J, Coupland C, Vinogradova Y, Robson J, Minhas R, Sheikh A, Brindle P. Predicting cardiovascular risk in England and Wales: prospective derivation and validation of QRISK2. *BMJ*. 2008;336(7659):1475-82.
79. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, De Bacquer D, Ducimetière P, Jousilahti P, Keil U, Njølstad I, Oganov RG, Thomsen T, Tunstall-Pedoe H, Tverdal A, Wedel H, Whincup P, Wilhelmsen L, Graham IM; SCORE project group. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J*. 2003;24(11):987-1003.
80. Ridker PM, Paynter NP, Rifai N, Gaziano M, Cook NR. C-reactive protein and parental history improve global cardiovascular risk prediction: the Reynolds Risk Score for men. *Circulation*. 2008;118(22):2243-51.
81. Ridker PM, Buring JE, Rifai N, Cook NR. Development and validation of improved algorithms for assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. *JAMA*. 2007;297(6):611-9.

82. Smith SC Jr, Jackson R, Pearson TA, Fuster V, Yusuf S, Faergeman O, Wood DA, Alderman M, Horgan J, Home P, Hunn M, Gundy SM. Principles for national and regional guidelines on cardiovascular disease prevention: a scientific statement from the World Heart and Stroke Forum. *Circulation*. 2004;109(25):3112-21.
83. Toth PP. Subclinical atherosclerosis: what it is, what it means and what we can do about it. *Int J Clin Pract*. 2008;62(8):1246-54.
84. Peters SA, den Ruijter HM, Bots ML, Moons KG. Improvements in risk stratification for the occurrence of cardiovascular disease by imaging subclinical atherosclerosis: a systematic review. *Heart*. 2012;98(3):177-84.
85. Tomiyama H, Yamashina A. Non-invasive vascular function tests: their pathophysiological background and clinical application. *Circ J*. 2010;74(1):24-33.
86. Greenland P, Alpert JS, Beller GA, Benjamin EJ, Budoff MJ, Fayad ZA, Foster E, Hlatky MA, Hodgson JM, Kushner FG, Lauer MS, Shaw LJ, Smith SC Jr, Taylor AJ, Weintraub WS, Wenger NK, Jacobs AK; American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2010 ACCF/AHA guideline for assessment of cardiovascular risk in asymptomatic adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2010;122(25):e584-636.
87. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2007;115(4):459-67.
88. Van Bortel LM. Is arterial stiffness ready for daily clinical practice? *J Hypertens*. 2006;24(2):281-3.
89. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, Csiba L, Desvarieux M, Ebrahim S, Fatar M, Hernandez Hernandez R, Jaff M, Kownator S, Prati P, Rundek T, Sitzer M, Tardif JC, Taylor A, Vicaute E, Woo KS, Zannad F, Zureik M. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis*. 2007;23(1):75-80.

90. Strandness E. *Doppler colorido nas doenças vasculares*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
91. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986;74(6):1399-406.
92. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, Clegg LX. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997;146(6):483-94.
93. Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, Sharrett AR, Shahar E, Nieto FJ, Rosamond WD, Evans G. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol*. 2000;151:478-87
94. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factors for myocardial infarction and stroke in older adults. *N Eng J Med*. 1999;340(1):14-22.
95. Baldassarre D, Amato M, Bondioli A, Sirtori CR, Tremoli E. Carotid artery intima-media thickness measured by ultrasonography in normal clinical practice correlates well with atherosclerosis risk factors. *Stroke*. 2000;31(10):2426-30.
96. Crouse JR. Gender, lipoproteins, diet and cardiovascular risk. *Lancet*. 1989;1(8633):318-20.
97. Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range. Prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke*. 2006;37(1):87-92.
98. Lorenz MW, Schaefer C, Steinmetz H, Sitzer M. Is carotid intima media thickness useful for individual prediction of cardiovascular risk? Ten-year results from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Eur Heart J*. 2010;31(16):2041-8.

99. Bild DE, Bluemke DA, Burke GL, Detrano R, Diez Roux AV, Folsom AR, Greenland P, Jacob DR Jr, Kronmal R, Liu K, Nelson JC, O'Leary D, Saad MF, Shea S, Szklo M, Tracy RP. Multi-ethnic study of atherosclerosis: objectives and design. *Am J Epidemiol.* 2002;156(9):871-81.
100. McClelland RL, Chung H, Detrano R, Post W, Kronmal RA. Distribution of coronary artery calcium by race, gender, and age: results from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Circulation.* 2006;113(1):30-7.
101. Folsom AR, Kronmal RA, Detrano RC, O'Leary DH, Bild DE, Bluemke DA, Budoff MJ, Liu K, Shea S, Szklo M, Tracy RP, Watson KE, Burke GL. Coronary artery calcification compared with carotid intima-media thickness in the prediction of cardiovascular disease incidence: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Arch Intern Med.* 2008;168(12):1333-9.
102. Bauer M, Delaney JA, Möhlenkamp S, Jöckel KH, Kronmal RA, Lehmann N, Mukamal KJ, Moebus S, Polak JF, Dragano N, Budoff MJ, Erbel R, McClelland RL; Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis; Investigator Group of the Heinz Nixdorf Recall Study. Comparison of factors associated with carotid intima-media thickness in the Multi-ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) and the Heinz Nixdorf Recall Study (HNR). *J Am Soc Echocardiogr.* 2013;26(6):667-73.
103. Baldassarre D, Hamsten A, Veglia F, de Faire U, Humphries SE, Smit AJ, Giral P, Kurl S, Rauramaa R, Mannarino E, Grossi E, Paoletti R, Tremoli E; IMPROVE Study Group. Measurements of carotid intima-media thickness and of interadventitia common carotid diameter improve prediction of cardiovascular events: results of the IMPROVE (Carotid Intima Media Thickness [IMT] and IMT-Progression as Predictors of Vascular Events in a High Risk European Population) study. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(16):1489-99.
104. Bots ML, Sutton-Tyrrell K. Lessons from the past and promises for the future for carotid intima-media thickness. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(17):1599-604.
105. Polak JF, Pencina MJ, Pencina KM, O'Donnell CJ, Wolf PA, D'Agostino RB Sr. Carotid-wall intima-media thickness and cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2011;365(3):213-21.

106. Den Ruijter HM, Peters SA, Anderson TJ, Britton AR, Dekker JM, Eijkemans MJ, Engström G, Evans GW, de Graaf J, Grobbee DE, Hedblad B, Hofman A, Holewijn S, Ikeda A, Kavousi M, Kitagawa K, Kitamura A, Koffijberg H, Lonn EM, Lorenz MW, Mathiesen EB, Nijpels G, Okazaki S, O'Leary DH, Polak JF, Price JF, Robertson C, Rembold CM, Rosvall M, Rundek T, Salonen JT, Sitzer M, Stehouwer CD, Witteman JC, Moons KG, Bots ML. Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: a meta-analysis. *JAMA*. 2012;308(8):796-803.
107. Nambi V, Chambless L, He M, Folsom AR, Mosley T, Boerwinkle E, Ballantyne CM. Common carotid artery intima-media thickness is as good as carotid intima-media thickness of all carotid artery segments in improving prediction of coronary heart disease risk in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Eur Heart J*. 2012;33(2):183-90.
108. Nambi V, Brunner G, Ballantyne CM. Ultrasound in cardiovascular risk prediction: don't forget the plaque! *J Am Heart Assoc*. 2013;2(2):e000180.
109. van der Meer IM, Bots ML, Hofman A, del Sol AI, van der Kuip DA, Witteman JC. Predictive value of noninvasive measures of atherosclerosis for incident myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation*. 2004;109(9):1089-94.
110. Nambi V, Chambless L, Folsom AR, He M, Hu Y, Mosley T, Volcik K, Boerwinkle E, Ballantyne CM. Carotid intima-media thickness and presence or absence of plaque improves prediction of coronary heart disease risk: the ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) study. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(15):1600-7.
111. Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Carotid plaque, compared with carotid intima-media thickness, more accurately predicts coronary artery disease events: a meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2012;220(1):128-33.
112. Sutton-Tyrrell K, Lassila HC, Meilahn E, Bunker C, Matthews KA, Kuller LH. Carotid atherosclerosis in premenopausal and postmenopausal women and its association with risk factors measured after menopause. *Stroke*. 1998;29:1116-21.

113. Polak JF, Tracy R, Harrington A, Zavodni AE, O'Leary DH. Carotid artery plaque and progression of coronary artery calcium: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *J Am Soc Echocardiogr.* 2013;26(5):548-55.
114. Dogan S, Plantinga Y, Dijk JM, van der Graaf Y, Grobbee DE, Bots ML. Manual B-mode versus automated radio-frequency carotid intima-media thickness measurements. *J Am Soc Echocardiogr.* 2009;22(10):1137-44.
115. Safar ME. Peripheral pulse pressure, large arteries and microvessels. *Hypertension.* 2004;44(2):121-2.
116. Cohn JN, Finkelstein S, McVeigh G, Morgan D, LeMay L, Robinson J, Mock J. Noninvasive pulse wave analysis for the early detection of vascular disease. *Hypertension.* 1995;26(3):503-8.
117. Kelly RP, Haywood C, Ganis J, Daley J, Aviola A, O'Rourke M. Non-invasive registration of the arterial pressure waveform using high fidelity applanation tonometry. *J Vasc Med Biol.* 1989;1:142-9.
118. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J.* 2006;27(21):2588-605.
119. Giannarelli C, Bianchini E, Bruno RM, Magagna A, Landini L, Faita F, Gemignani V, Penno G, Taddei S, Ghiadoni L. Local carotid stiffness and intima-media thickness assessment by a novel ultrasound-based system in essential hypertension. *Atherosclerosis.* 2012;223(2):372-7.
120. Safar ME, Bortoloto LA. Perfil da pressão arterial ao longo da árvore arterial e genética da hipertensão. *Arq Bras Cardiol.* 2006;86(3):166-9.
121. Liao D, Arnett DK, Tyroler HA, Riley WA, Chambless LE, Szklo M, Heiss G. Arterial stiffness and the development of hypertension. The ARIC Study. *Hypertension.* 1999;34(2):201-6.
122. Mattace-Raso FU, van der Cammen TJ, Hofman A, van Popele NM, Bos ML, Schalekamp MA, Asmar R, Reneman RS, Hoeks AP, Breteler MM, Witteman JC. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. *Circulation.* 2006;113(5):657-63.

123. Chae CU, Pfeffer MA, Glynn RJ, Mitchell GF, Taylor JO, Hennekens CH. Increased pulse pressure and risk of heart failure in the elderly. *JAMA*. 1999;281(7):634-9.
124. Vaccarino V, Berger AK, Abramson J, Black HR, Setaro JF, Davey JA, Krumholz HM. Pulse pressure and risk of cardiovascular events in the systolic hypertension in the elderly program. *Am J Cardiol*. 2001;88(9):980-6.
125. Blacher J, Pannier B, Guerin AO, Marchais SJ, Safar ME, London GM. Carotid arterial stiffness as a predictor of cardiovascular and all-cause mortality in end-stage renal disease. *Hypertension*. 1998;32(3):570-4.
126. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(13):1318-27.
127. Mitchell GF, Hwang SJ, Vasan RS, Larson MG, Pencina MJ, Hamburg NM, Vita JA, Levy D, Benjamin EJ. Arterial stiffness and cardiovascular events: The Framingham Heart Study. *Circulation*. 2010;121(4):505-11.
128. Coutinho T, Turner ST, Kullo IJ. Aortic pulse wave velocity is associated with measures of subclinical target organ damage. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2011;4(7):754-61.
129. Rossi P, Francès Y, Kingwell BA, Ahimastos AA. Gender differences in artery wall biomechanical properties throughout life. *J Hypertens*. 2011;29(6):1023-33.
130. Park JS, Nam JS, Cho MH, Yoo JS, Ahn CW, Jee SH, Lee HS, Cha BS, Kim KR, Lee HC. Insulin resistance independently influences arterial stiffness in normotensive postmenopausal women. *Menopause*. 2010;17(4):779-84.
131. Lambrinoudaki I, Armeni E, Georgiopoulos G, Kazani M, Kouskouni E, Creatsa M, Alexandrou A, Fotiou S, Papamichael C, Stamatelopoulos K. Subclinical atherosclerosis in menopausal women with low to medium calculated cardiovascular risk. *Int J Cardiol*. 2013;164(1):70-6.
132. Reference Values for Arterial Stiffness' Collaboration. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values'. *Eur Heart J*. 2010;31(19):2338-50.

133. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redón J, Zanchetti A, Böhm M, Christiaens T, Cifkova R, De Backer G, Dominiczak A, Galderisi M, Grobbee DE, Jaarsma T, Kirchhof P, Kjeldsen SE, Laurent S, Manolis AJ, Nilsson PM, Ruilope LM, Schmieder RE, Sirnes PA, Sleight P, Viigimaa M, Waeber B, Zannad F; Task Force Members. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens*. 2013;31(7):1281-357.
134. Grupo de Estudos de Ressonância e Tomografia Cardiovascular (GERT) do Departamento de Cardiologia Clínica da Sociedade Brasileira de Cardiologia, Rochitte CE, Pinto IM, Fernandes JL, Filho CF, Jatene A, Carvalho AC, Ribeiro JP, Ramires JA, Oliveira SA, Cattani CA, Jasinowodolinsk D, Lucchesi F, Rocha FB, Pedroti FC, Szarf G, Monte GU, Kuroki IR, Andrade J, Filho JR, Correia LC, Avila LF, Hadlich M, Zapparoli M, Barbosa M, Mugnaini ML, Siqueira MH, Uellendhal MM, Neto MA, Schwarzman PR, Filho RD, Loureiro R, Filho RK, Vieira Rde M. [Icardiovascular magnetic resonance and computed tomography guidelines of the Brazilian Society of Cardiologia - Executive summary]. *Arq Bras Cardiol*. 2006;87(3):e48-59.
135. Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M Jr, Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol*. 1990;15(4):827-32.
136. Karin R, Hodis HN, Detrano R, Chao-ran L, Chi-hua L, Mack WJ. Relation of Framingham Risk Score to subclinical atherosclerosis evaluated across three arterial sites. *Am J Cardiol*. 2008;102(7):825-30.
137. Greenland P, Bonow RO, Brundage BH, Budoff MJ, Eisenberg MJ, Grundy SM, Lauer MS, Post WS, Raggi P, Redberg RF, Rodgers GP, Shaw LJ, Taylor AJ, Weintraub WS, Harrington RA, Abrams J, Anderson JL, Bates ER, Grines CL, Hlatky MA, Lichtenberg RC, Lindner JR, Pohost GM, Schofield RS, Shubrooks SJ Jr, Stein JH, Tracy CM, Vogel RA, Wesley DJ; American College of Cardiology Foundation Clinical Expert Consensus Task Force (ACCF/AHA Writing Committee to Update the 2000 Expert Consensus Document on Electron Beam Computed Tomography); Society of Atherosclerosis Imaging and Prevention; Society of Cardiovascular Computed Tomography. ACCF/AHA 2007 clinical expert consensus document on coronary artery calcium scoring by computed tomography in global

cardiovascular risk assessment and in evaluation of patients with chest pain: a report of the American College of Cardiology Foundation Clinical Expert Consensus Task Force (ACCF/AHA Writing Committee to Update the 2000 Expert Consensus Document on Electron Beam Computed Tomography). *Circulation*. 2007;115(3):402-26.

138. Greenland P, Labree L, Azen SP, Doherty TM, Detrano R. Coronary Artery Calcium score combined with Framingham Score for risk prediction in asymptomatic individuals. *JAMA*. 2004;291(2):210-5.
139. Arad Y, Goodman KS, Roth M, Newstein D, Guerci AD. Coronary calcification, coronary disease risk factors, C-reactive protein, and atherosclerotic cardiovascular disease events: the St. Francis Heart Study. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(1):158-65.
140. Pletcher MJ, Tice JA, Pignone M, Browner WS. Using the coronary artery calcium score to predict coronary heart disease events: asymptomatic review and meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2004;164(12):1285-92.
141. Detrano R, Guerci AD, Carr JJ, Bild DE, Burke G, Folsom AR, Liu K, Shea S, Szklo M, Bluemke DA, O'Leary DH, Tracy R, Watson K, Wong ND, Kronmal RA. Coronary calcium as a predictor of coronary events in four racial or ethnic groups. *N Engl J Med*. 2008;358(13):1336-45.
142. Kavousi M, Elias-Smale S, Rutten JH, Leening MJ, Vliegenthart R, Verwoert GC, Krestin GP, Oudkerk M, de Maat MP, Leebeek FW, Mattace-Raso FU, Lindemans J, Hofman A, Steyerberg EW, van der Lugt A, van den Meiracker AH, Witteman JC. Evaluation of newer risk markers for coronary heart disease risk classification: a cohort study. *Ann Intern Med*. 2012;156(6):438-44.
143. Sekikawa A, Curb JD, Edmundowicz D, Okamura T, Choo J, Fujiyoshi A, Masaki K, Miura K, Kuller LH, Shin C, Ueshima H. Coronary artery calcification by computed tomography in epidemiologic research and cardiovascular disease prevention. *J Epidemiol*. 2012;22(3):188-98.
144. Santos RD, Nasir K, Rumberger JA, Budoff MJ, Braunstein JB, Meneghelo R, Barreiros M, Pereirinha A, Carvalho JA, Blumenthal RS, Raggi P. Difference in atherosclerosis burden in different nations and continents assessed by coronary artery calcium. *Atherosclerosis*. 2006;187(2):378-84.

145. Santos RD, Meneghelo R, Chacra APM, TLR Martinez, Ramirez JA, Carvalho JAM, Detection of subclinical atherosclerosis by electron beam tomography in females with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Heart*. 2004;90(1):92-4.
146. Kuller LH, Mathews KA, Edmundowicz D, Chang Y. Incident coronary artery calcium among postmenopausal women. *Atherosclerosis*. 2008;200(2):278-85.
147. Santos RD, Rumberger JA, Budoff MJ, Shaw LJ, Orakzai SH, Berman D, Raggi P, Blumenthal RS, Nasir K. Thoracic aorta calcification detected by electron beam tomography predicts all-cause mortality. *Atherosclerosis*. 2010;209(1):131-5.
148. Engelhorn CA, Engelhorn AL, Cassou MF, Zanoni CC, Gosalan CJ, Ribas E, Pacholok A, Koehler MF. Intima-media thickness in the origin of right subclavian artery as an early marker of cardiovascular risk. *Arg Bras Cardiol*. 2006;87(5):609-14.
149. Prasad A, Wassel CL, Jensky NE, Allison MA. The epidemiology of subclavian artery calcification. *J Vasc Surg*. 2011;54(5):1408-13.
150. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. The menopausal transition. *Fertil Steril*. 2008;90(5 Suppl):S61-5.
151. Burger HG, Hale GE, Dennerstein L, Robertson DM. Cycle and hormone changes during perimenopause: the key role of ovarian function. *Menopause*. 2008;15(4 Pt 1):603-12.
152. World Health Organization. *Tobacco country profiles*. 2nd ed. Proceedings of the 12th World Conference on Tobacco or Health; 2003 Aug 3-9; Helsinki, Finland: WHO; 2003.
153. Stramari, LM, Kurtz M, Silva, LCC "Prevalence of and variables related to smoking among medical students at a university in the city of Passo Fundo, Brazil". *J Bras Pneumol*. 2009;35(5):442-8.
154. World Health Organization. Global Database on Body Mass Index. BMI Classification; [cited 2013 Nov 13]. Available from: http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html.

155. Andrade JP, Nobre F, Tavares A, Brandão AA, Sanjuliani AF, Nogueira AR. Sociedade Brasileira de Cardiologia/Sociedade Brasileira de Hipertensão/Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol.* 2010;95(1 supl.1):1-15.
156. International Diabetes Federation. IDF definition of the metabolic syndrome: frequently asked questions; [cited 2013 Oct 13]. Available from: <http://www.idf.org/metabolic-syndrome/faqs>.
157. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28(7):412-9.
158. Ikonomidis I, Stamatelopoulos K, Lekakis J, Vamvakou GD, Kremastinos DT. Inflammatory and non-invasive vascular markers: the multimarker approach for risk stratification in coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2008;199(1):3-11.
159. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499-502.
160. Braman RS, Hendrix SA. Nanogram nitrite and nitrate determination in environmental and biological materials by vanadium (III) reduction with chemiluminescence detection. *Anal Chem.* 1989;61(24):2715-8.
161. Bustin SA. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol.* 2000;25(2):169-93.
162. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻($\Delta\Delta C_T$) method. *Methods.* 2001;25(4):402-8.
163. Grant EG, Benson CB, Moneta GL, Alexandrov AV, Baker JD, Bluth EI. Carotid artery stenosis: gray-scale and Doppler US diagnosis – Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference. *Radiology.* 2003;229(2):340-6.
164. Simova I, Katova T, Kostova V, Hristova K, Dimitrov N. Reproducibility of arterial stiffness indices in different vascular territories and between different observers. *Echocardiography.* 2011;28(4):448-56.

165. van Popele NM, Mattace-Raso FU, Vliegenthart R, Grobbee DE, Asmar R, van der Kuip DA, Hofman A, de Feijter PJ, Oudkerk M, Witteman JC. Aortic stiffness is associated with atherosclerosis of the coronary arteries in older adults: the Rotterdam Study. *J Hypertens*. 2006;24(12):2371-6.
166. Lwanga SK; Lemeshow S. *Sample size determination in health studies: a practical manual*. Geneva, World Health Organization; 1991.
167. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Int J Nurs Stud*. 2010;47(8):931-6.
168. Chen CC, Barnhart HX. Assessing agreement with repeated measures for random observers. *Stat Med*. 2011;30(30):3546-59.
169. Lin LI. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics*. 1989;45(1):255-68.
170. Naqvi TZ, Mendoza F, Rafii, F, Gransar H, Guerra M, Lepor N, Berman DS, Shah P. High prevalence of ultrasound detected carotid atherosclerosis in subjects with low Framingham risk score: potential implications for screening for subclinical atherosclerosis. *J Am Soc Echocardiogr*. 23(8):809-15.
171. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, Fonseca FA, dos Santos JE, Santos RD, Bertolami MC, Faludi AA, Martinez TLR, Diamant J, Guimarães A, Forti N, Moriguchi E, Chagas ACP, Coelho OR, Ramires JAF; Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*. 2013;101(4supl. 1):1-22.
172. Lima LM, Carvalho M, Sousa MO. Apo B/apo A-I ratio and cardiovascular risk prediction. *Arq Bras Cardiol*. 2007;88(6):e187-90.
173. Chan DC, Watts GF. Apolipoproteins as markers and managers of coronary risk. *QJM*. 2006;99(5):277-8.
174. Walldius G, Jungner I. Apolipoprotein A-I versus HDL cholesterol in the prediction of risk for myocardial infarction and stroke. *Curr Opin Cardiol*. 2007;22(4):359-67.

175. Walldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit AH, Kolar W, Steiner E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet*. 2001;358(9298):2026-33.
176. Luc G, Bard JM, Ferrieres J, Evans A, Amouyel P, Arveiler D, Fruchart JC, Ducimetiere P. Value of HDL cholesterol, apolipoprotein A-I, lipoprotein A-I, and lipoprotein A-I/A-II in prediction of coronary heart disease: the PRIME Study. Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(7):1155-61.
177. Huang F, Yang Z, Xu B, Bi Y, Xu M, Xu Y, Lu J, Lin Y, Dai M, Zhou W, Wang W, Chen Y. Both serum apolipoprotein B and the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio are associated with carotid intima-media thickness. *PLoS One*. 2013;8(1):e54628.
178. Juonala M, Viikari JS, Kahonen M, Solakivi T, Helenius H, Jula A, Marniemi J, Taittonen L, Laitinen T, Nikkari T, Raitakari OT. Childhood levels of serum apolipoproteins B and A-I predict carotid intima-media thickness and brachial endothelial function in adulthood: the cardiovascular risk in young Finns study. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(4):293-9.
179. Sutton-Tyrrell K, Kuller LH, Matthews KA, Holubkov R, Patel A, Edmundowicz D, Newman A. Subclinical atherosclerosis in multiple vascular beds: an index of atherosclerotic burden evaluated in postmenopausal women. *Atherosclerosis*. 2002;160(2):407-16.
180. Sillesen H, Muntendam P, Adourian A, Entekin R, Garcia M, Falk E, Fuster V. Carotid plaque burden as a measure of subclinical atherosclerosis: comparison with other tests for subclinical arterial disease in the High Risk Plaque BioImage study. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2012;5(7):681-9.
181. Stamatelopoulos KS, Armeni E, Georgiopoulos G, Kazani M, Kyrkou K, Stellos K, Kolivras A, Alexandrou A, Creatsa M, Papamichael C, Lambrinoudaki I. Recently postmenopausal women have the same prevalence of subclinical carotid atherosclerosis as age and traditional risk factor matched men. *Atherosclerosis*. 2012;221(2):508-13.

182. Sehestedt T, Jeppesen J, Hansen TW, Wachtell K, Ibsen H, Torp-Pedersen C, Hildebrandt P, Olsen MH. Risk prediction is improved by adding markers of subclinical organ damage to SCORE. *Eur Heart J*. 2009;31(7):883-91.
183. Krantz MJ, Long CS, Hosokawa P, Karimkahani E, Dickinson M, Estacio RO, Masoudi FA, Havranek EP. Pulse wave velocity and carotid atherosclerosis in white and Latino patients with hypertension. *BMC Cardiovasc Disord*. 2011;11:15-22.
184. Lebrun CE, van der Schouw YT, Bak AA, de Jong FH, Pols HA, Grobbee DE, Lamberts SW, Bots ML. Arterial stiffness in postmenopausal women: determinants of pulse wave velocity. *J Hypertens*. 2002;20(11):2165-72.
185. Aquino EM, Barreto SM, Bensenor IM, Carvalho MS, Chor D, Duncan BB, Lotufo PA, Mill JG, Molina Mdel C, Mota EL, Passos VM, Schmidt MI, Szklo M. Brazilian longitudinal study of adult health (ELSA-Brasil): objectives and design. *Am J Epidemiol*. 2012;175(4):315-24.
186. Burger HG, Dudley EC, Hopper JL, Groome N, Guthrie JR, Green A, Dennerstein L. Prospectively measured levels of serum follicle-stimulating hormone, estradiol, and the dimeric inhibins during the menopausal transition in a population-based cohort of women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84(11):4025-30.
187. Butler L, Santoro N. The reproductive endocrinology of the menopausal transition. *Steroids*. 2011;76(7):627-35.
188. Creatsa M, Armeni E, Stamatelopoulos K, Rizos D, Georgiopoulos G, Kazani M, Alexandrou A, Dendrinou S, Augoulea A, Papamichael C, Lambrinoudaki I. Circulating androgen levels are associated with subclinical atherosclerosis and arterial stiffness in healthy recently menopausal women. *Metabolism*. 2012;61(2):193-20.
189. Michos ED, Vaidya D, Gapstur SM, Schreiner PJ, Golden SH, Wong ND, Criqui MH, Ouyang P. Sex hormones, sex hormone binding globulin, and abdominal aortic calcification in women and men in the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis*. 2008;200(2):432-8.

190. Ouyang P, Vaidya D, Dobs A, Golden SH, Szklo M, Heckbert SR, Kopp P, Gapstur SM. Sex hormone levels and subclinical atherosclerosis in postmenopausal women: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2009;204(1):255-6.
191. Kawashima S, Yokoyama M. Dysfunction of endothelial nitric oxide synthase and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(6):998-1005.
192. Forstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012;33(7):829-37, 37a-37d.
193. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109(23 Suppl 1):III27-32.
194. Gomez-Fernandez P, Perez-Requena J, Sanchez-Margalet V, Esteban J, Murillo-Carretero M, Almaraz-Jimenez M. [Vascular damage in chronic renal failure. The increase of vascular nitrotyrosine and cytokines accumulation is accompanied by an increase of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression]. *Nefrologia*. 2005;25(2):155-62.
195. De Frutos T, Sanchez de Miguel L, Farre J, Gomez J, Romero J, Marcos-Alberca P, Nuñez A, Rico L, López-Farré A. Expression of an endothelial-type nitric oxide synthase isoform in human neutrophils: modification by tumor necrosis factor-alpha and during acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37(3):800-7.
196. Kempf K, Haltern G, Futh R, Herder C, Muller-Scholze S, Gulker H, Martin S. Increased TNF-alpha and decreased TGF-beta expression in peripheral blood leukocytes after acute myocardial infarction. *Horm Metab Res*. 2006;38(5):346-51.
197. Ikeda U, Ito T, Shimada K. Interleukin-6 and acute coronary syndrome. *Clin Cardiol*. 2001;24(11):701.
198. Sukovich DA, Kauser K, Shirley FD, DeVecchio V, Halks-Miller M, Rubanyi GM. Expression of interleukin-6 in atherosclerotic lesions of male ApoE-knockout mice: inhibition by 17beta-estradiol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(9):1498-50.

199. Cortez-Cooper M, Meaders E, Stallings J, Haddow S, Kraj B, Sloan G, McCully KK, Cannon JG. Soluble TNF and IL-6 receptors: indicators of vascular health in women without cardiovascular disease. *Vasc Med*. 2013;18(5):282-9.
200. Meyer MR, Barton M. ERalpha, ERbeta, and gpER: novel aspects of oestrogen receptor signalling in atherosclerosis. *Cardiovasc Res*. 2009;83(4):605-10.
201. Stygar D, Masironi B, Eriksson H, Sahlin L. Studies on estrogen receptor (ER) alpha and beta responses on gene regulation in peripheral blood leukocytes in vivo using selective ER agonists. *J Endocrinol*. 2007;194(1):101-19.
202. Phiel KL, Henderson RA, Adelman SJ, Elloso MM. Differential estrogen receptor gene expression in human peripheral blood mononuclear cell populations. *Immunol Lett*. 2005;97(1):107-13.
203. Losordo DW, Kearney M, Kim EA, Jekanowski J, Isner JM. Variable expression of the estrogen receptor in normal and atherosclerotic coronary arteries of premenopausal women. *Circulation*. 1994;89(4):1501-10.
204. Hodges YK, Tung L, Yan XD, Graham JD, Horwitz KB, Horwitz LD. Estrogen receptors alpha and beta: prevalence of estrogen receptor beta mRNA in human vascular smooth muscle and transcriptional effects. *Circulation*. 2000;101(15):1792-8.
205. Christian RC, Liu PY, Harrington S, Ruan M, Miller VM, Fitzpatrick LA. Intimal estrogen receptor (ER) beta, but not ER alpha expression, is correlated with coronary calcification and atherosclerosis in pre- and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(7):2713-2.

APÊNDICES

APÊNDICES

Tabela 45 - Tabela completa de correlação entre os métodos de imagem e as variáveis clínicas e antropométricas (Correlação de Spearman).

Variável	EMI carótida	EMI subclávia	VOP	Escore Ca
Idade	P<0,001* r=0,39	p<0,001* r=0,32	p<0,001* r=0,39	p=0,017* r=0,20
TM	P=0,007* r=0,23	P=0,21 r= 0,11	p=0,093 r=0,14	p=0,14 r=0,13
IM	p=0,28 r=0,94	p=0,009* r=0,22	P<0,001* r=0,32	p=0,45 r=0,07
ERF	p=0,008* r=0,23	p=0,001* r=0,27	p<0,001* r=0,36	p=0,022* r=0,20
Altura	p=0,65 r=-0,04	p=0,37 r=-0,08	p=0,01* r= -0,22	p=0,39 r=-0,07
Peso	p=0,08 r=0,15	p=0,08 r=-0,15	p=0,34 r= 0,82	p=0,42 r=0,69
IMC	p=0,034* r=0,18	p=0,21 r= -0,11	p=0,004* r=0,25	p=0,23 r=0,10
Cintura	p=0,018* r=0,20	p=0,55 r=-0,05	p=0,009* r=0,22	p=0,096 r=0,14
Relação c/q	p=0,044* r=0,17	p=0,29 r=0,91	p=0,002* r=0,26	p=0,067 r=0,16
PA sistólica	P<0,001* r=0,35	p=0,013* r=0,21	p<0,001* r=0,61	p=0,014* r=0,21
PA diastólica	p=0,028* r=0,19	p=0,08 r=0,15	P<0,001* r=0,37	p=0,045* r=0,17
PP	P<0,001* r=0,34	p=0,046* r=0,17	p<0,001* r=0,54	p=0,055 r=0,16

NOTA: ERF: escore de risco de Framingham; TM: tempo da menopausa; IM: idade do início da menopausa; Relação C/Q: relação cintura/quadril; PP: pressão de pulso; IMC: índice de massa corporal. * Valores p < 0,05.

Tabela 46 – Tabela completa de correlação entre os métodos de imagem e as variáveis laboratoriais (Correlação de Spearman).

Variável	EMI carótida	EMI subclávia	VOP	Escore Ca
Hemoglobina	p=0,31 r=-0,09	p=0,39 r=0,73	p=0,85 r=0,17	p=0,017* r=-0,20
Fibrinogênio	p=0,21 r=0,11	p=0,33 r= 0,08	p=0,49 r=0,06	p=0,19 r=0,11
Glicemia	p=0,13 r=0,13	p=0,19 r=0,11	p=0,001* r=0,29	p=0,81 r=-0,21
Colesterol total	p=0,49 r=0,06	p=0,29 r=0,09	p=0,55 r=0,05	p=0,86 r=0,02
HDL-c	p=0,27 r=-0,09	p=0,52 r=0,06	p=0,18 r =0,11	p=0,78 r=-0,02
LDL-c	p=0,44 r=0,07	p=0,69 r=0,03	p=0,22 r= 0,11	p=0,48 r=0,06
VLDL	p=0,32 r=0,09	p=0,59 r= 0,05	p=0,39 r=0,07	p=0,19 r=0,11
Triglicérides	p=0,35 r=0,08	p=0,59 r= 0,05	p=0,42 r=0,07	p=0,17 r=-0,12
Ácido Úrico	p=0,003* r=0,26	p=0,18 r=0,12	p=0,15 r=0,12	p=0,54 r=-0,05
Cálcio	P=0,21 r=-0,11	p=0,39 r=0,07	p=0,49 r=-0,06	p=0,15 r=-0,12
Rel Alb/Cr	p=0,10 r=0,15	p=0,19 r=0,11	p=0,009* r=0,23	p=0,09 r=0,15
Apo A	p=0,59 r=-0,05	p=0,49 r=0,06	p=0,15 r=-0,12	p=0,44 r=-0,07
Apo B	p=0,16 r=0,12	p=0,057 r=0,16	p=0,17 r=0,12	p=0,93 r=-0,01
Rel. ApoB/ApoA1	p=0,13 r=-0,13	p=0,40 r=-0,07	p=0,06 r=-0,16	p=0,72 r=-0,03
LH	p=0,032* r=-0,09	p=0,53 r=-0,05	p=0,007* r=-0,23	p=0,038* r=-0,18
FSH	p=0,44 r=-0,07	p=0,72 r= 0,03	p=0,058 r=-0,16	p=0,31 r=-0,09
Estrogênio	p=0,13 r=0,13	p=0,19 r=0,11	p=0,001* r=0,29	p=0,81 r=-0,21
Progesterona	p=0,49 r=0,06	p=0,29 r=0,09	p=0,55 r=0,05	p=0,86 r=0,02
Testosterona	p=0,27 r=-0,09	p=0,52 r=0,06	p=0,18 r =0,11	p=0,78 r=-0,02
Insulina	p=0,008* r=0,23	p=0,94 r=-0,01	p=0,019* r= 0,20	p=0,19 r=0,11
NO	p=0,31 r=0,09	p=0,74 r= 0,03	p=0,95 r=-0,01	p=0,12 r=0,14
IL6	p=0,69 r=-0,04	p=0,83 r=-0,02	p=0,87 r=-0,02	p=0,012* r=0,22
TNFα	p=0,73 r=0,03	p=0,83 r=0,02	p=0,90 r=-0,01	p=0,036* r=-0,19

Figura 16 - Gráficos de concordância interobservador para as medidas da VOP, EMI carótídea e EMI da artéria subclávia direita (Bland-Altman e dispersão).

EMI carótidas (mm)

EMI subclávia (mm)

EMI subclávia (mm)