



Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Doutorado

**BIOMARCADORES LIPÍDICOS ASSOCIADOS À DOENÇA
ARTERIAL CORONARIANA (DAC):
CONTRIBUIÇÕES DA LIPIDÔMICA**

LÍVIA MARIANE CASTELO BRANCO REIS COUTINHO DE OLIVEIRA

São Luís

2019

LÍVIA MARIANE CASTELO BRANCO REIS COUTINHO DE OLIVEIRA

**BIOMARCADORES LIPÍDICOS ASSOCIADOS À DOENÇA
ARTERIAL CORONARIANA (DAC):
CONTRIBUIÇÕES DA LIPIDÔMICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós -
Graduação em Ciências da Saúde da
Universidade Federal do Maranhão,
como requisito parcial para obtenção do
título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador (a): Prof. Dr. José
Albuquerque de Figueiredo Neto.

São Luís

2019

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

DE OLIVEIRA, LÍVIA MARIANE CASTELO BRANCO REIS
COUTINHO .

BIOMARCADORES LIPÍDICOS ASSOCIADOS À DOENÇA ARTERIAL
CORONARIANA DAC: : CONTRIBUIÇÕES DA LIPIDÔMICA / LÍVIA
MARIANE CASTELO BRANCO REIS COUTINHO DE OLIVEIRA. - 2019.
125 f.

Orientador(a): JOSE ALBUQUERQUE DE FIGUEIREDO NETO.
Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde/cobs, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís, 2019.

1. Biomarcadores. 2. Doença arterial coronariana. 3.
Lipidômica. I. NETO, JOSE ALBUQUERQUE DE FIGUEIREDO. II.
Título.

CANDIDATA: Livia Mariane Castelo Branco Reis Coutinho de Oliveira

Título da Tese: Biomarcadores lipídicos associados à doença arterial coronariana (dac): contribuições da lipidômica.

A Banca Examinadora julgadora dos trabalhos de defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada 30 / 04 / 2019 , considerou o(a) candidato(a)

() APROVADO(A)

() REPROVADO(A)

1) Examinador _____

2) Examinador _____

3) Examinador _____

4) Examinador _____

5) Presidente _____

“Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade. Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que parecia impossível”

Charles Chaplin

Dedico este esforço à minha família.

AGRADECIMENTOS

Quando concluímos mais uma importante etapa em nossas vidas, verificamos com precisão quem são aqueles que estiveram presentes e colaboraram para mais esta vitória. São nossos mestres, amigos e familiares assim como instituições.

A Deus, pelo dom da existência e por me permitir a realização desse sonho.

Aos meus pais, José Mariano Reis e Eunice Reis, pelo amor, carinho, dedicação, apoio incondicional e por tudo o que vocês fizeram, fazem e farão sempre por mim.

Ao meu esposo, Zaqueu Coutinho de Oliveira, por ter suportado longos momentos em que estive ausente em formação, me possibilitou sonhar e correr atrás dos meus objetivos e que, acima de tudo, sempre acreditou na minha capacidade.

A todos os meus familiares que são a minha base e o meu porto seguro.

Ao Prof^o. Dr^o. José Albuquerque Figueiredo Neto, sua orientação segura fez com que meus obstáculos se tornassem verdadeiros desafios, que me fizeram amadurecer como pessoa e como profissional. Ensinou-me os passos mais importantes para o caminho da intelectualidade e da firmeza de posicionamento e decisão. Muito Obrigada!

A Coordenação do Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde – PPGSC/UFMA, Dr^a. Flávia Nascimento e Dr^o. Marcus Paes, por me ter concedido a oportunidade de formação e por me mostrarem que a seriedade e a dedicação são os únicos caminhos para o sucesso profissional.

Aos Professores do Doutorado em Ciências da Saúde pelo aprendizado e oportunidade de crescimento, especialmente Dr^a. Rosane Nassar Guerra.

A Joana Kátia Veras Rodrigues Sampaio Nunes, como amiga e companheira de percurso, pela amizade, pelo convívio, pela interajuda e esforço comum.

Aos funcionários administrativos do PPGCS/UFMA que foram sempre prestativos.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	<i>ix</i>
LISTA DE QUADROS E TABELAS	<i>xi</i>
LISTA DE FIGURAS	<i>xii</i>
RESUMO	<i>xiii</i>
ABSTRACT	<i>xiii</i>
1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 Aterosclerose	19
2.2 Doença Arterial Coronariana	21
2.3 Fatores de risco para doença arterial coronariana	21
2.4 Dislipidemias	26
2.5 Dosagens lipídicas em pacientes com doença arterial coronariana	27
2.6 Lipídios	28
2.7 Lipidômica	33
3 OBJETIVOS	37
3.1 Geral	37
3.2 Específicos	37
4 MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1 Tipo de estudo	38
4.2 Período e local do estudo	38
4.3 Cálculo da amostra	38
4.4 Critérios de Inclusão	38
4.5 Critérios de Não-Inclusão	38
4.6 Instrumento e Coleta de dados	39
4.6.1 Peso e altura	40
4.6.2 Circunferência abdominal	40
4.6.3 Circunferência de quadril	40
4.6.4 Pressão Arterial	40
4.6.5 Reclassificação de risco cardiovascular	41
4.7 Coleta das amostras sanguíneas	42

4.8 Exame Cineangiocoronariografia	43
4.9 Análise Lipidômica	44
4.9.1 Extração lipídica	44
4.9.2 Perfil lipídico(Espectrometria de massas – MALDI-TOF)	44
4.10 Análise estatística	45
4.11 Aspectos éticos	45
5 RESULTADOS	47
CAPÍTULO I – GLYCEROPHOSPHOLIPID PROFILES IN THE BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH CARDIOVASCULAR DISEASE – RELATED ATHEROSCLEROSIS	48
CAPÍTULO II – FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À PROGRESSÃO DA DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA EM PACIENTES SUBMETIDOS À CINEANGIOCORONARIOGRAFIA	76
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	100
REFERÊNCIAS	101
APÊNDICES	116
ANEXOS	120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Do inglês <i>arachidonic acid</i>
ACD	Artéria CoronáriaDireita
ACX	Artéria CoronáriaCircunflexa
ADA	Artéria Coronária DescendenteAnterior
AG	Ácidos Graxos
AHA	American Heart Association
ALA	Do inglês <i>α-linolenic acid</i>
APO	Apolipoproteína
AUC	Área abaixo da curva
AVE	Acidente Vascular Encefálico
Cer	Ceramida
CA	Circunferência abdominal
CQ	Circunferência de quadril
CT/HDL-c	Razão Colesterol total/Colesterol HDL
DAC	Doença Arterial Coronariana
DAG	Diacilglicerol
DCBVs	Doenças Cerebrovasculares
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DCV	Doença Cardiovascular
DIC	Doenças Isquêmicas do Coração
DM	Diabetes Mellitus
DP	Desvio-padrão
DM	Diabetes Mellitus
ERG	Escore de Risco Global
FFR	Reserva de Fluxo Fracionado
FHS	<i>Framingham Heart Study</i>
FR	Fator de Risco
FRCV	Fatores de Risco Cardiovascular
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HF+AVE	História Familiar Positiva Para Acidente Vascular Encefálico
HF+DM	História Familiar Positiva Para DiabetesMellitus
HF+HAS	História Familiar Positiva Para Hipertensão Arterial Sistêmica
HF+ICC	História Familiar Positiva Para Insuficiência Cardíaca Congestiva
HbA1C	Hemoglobina Glicada
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HexCer	Esfingóide
HUUPD	Hospital Universitário Unidade Presidente Dutra
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
ICC	Insuficiência Cardíaca Congestiva
ICP	Intervenções Coronarianas Percutâneas
IDL	Lipoproteína de Densidade Intermediária
IDF	Internacional Diabetes Federation
IMC	Índice de Massa Coporal
LDL	Lipoproteína De Baixa Densidade

LPA	Do inglês <i>Lysophosphatidic acid</i>
MALDI-TOF MS	Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry
MRFIT	Multiple Risk Factor Intervention Trial
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
PA, c	Do inglês <i>Glycerophosphoserine</i>
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PC	Do inglês <i>Glycerophosphocholine</i>
PE	Do inglês <i>Glycerophosphoethanolamine</i>
PI	Do inglês <i>Glycerophosphoinositol</i>
PLS-DA	do inglês <i>Partial Least Square – Discriminant Analysis</i>
PNCQ	Programa Nacional de Controle de Qualidade
ROC	Do inglês <i>Receiver operator characteristic</i>
SBAC	Sociedade Brasileira de Análises Clínicas
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SBHIC	Sociedade Brasileira de Hemodinâmica e Cardiologia Intervencionista
SCA	Síndrome Coronariana Aguda
SM	Síndrome metabólica
TCE	Tronco da Coronária Esquerda
TG	Triglicérides
UFMA	Universidade Federal do Maranhão
VIP	do inglês <i>Variable Influence on Projection</i>
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
WHO	World Health Organization

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1	Critérios diagnósticos de síndrome metabólica (definida com 3 ou mais critérios)	41
Quadro 2	Valores referenciais e de alvo terapêutico* do perfil lipídico (adultos > 20 anos).....	43
Quadro 3	Fatores agravantes do risco CV.....	43
Table 1	Characteristics of patients with CAD and without CAD, University Hospital Presidente Dutra, São Luís, Maranhão.....	57
Table 2	Plasma concentrations of molecular lipid species in coronary artery disease patients, University Hospital Presidente Dutra, São Luís, Maranhão.....	59
Tabela 1	Associação entre Doença Arterial Coronariana e as variáveis demográficas e clínicas dos pacientes submetidos à cineangiocoronariografia, no Hospital Universitário Presidente Dutra, São Luís, Maranhão, Brasil, 2018.....	91
Tabela 2	Associação entre Doença Arterial Coronariana e as variáveis antropométricas e laboratoriais dos pacientes submetidos à cineangiocoronariografia, no Hospital Universitário Presidente Dutra, São Luís, Maranhão, Brasil, 2018.....	92
Tabela 3	Associação das variáveis do estudo e a gravidade das lesões coronarianas dos pacientes com DAC no Hospital Universitário Presidente Dutra, São Luís, Maranhão, Brasil, 2018.....	94

LISTA DE FIGURAS

Figure 1	(A) PLS-DA score plots show the group separation according to components 1 and 2, indicating intrinsic lipidomic differences between the groups, which could be observed using the MALDI-TOF MS. (B) ROC curve built using VIP from PLS-DA. MALDI-TOF MS, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; PLS-DA, Partial Least Square - Discriminant Analysis; VIP, Variable Influence on Projection.....	61
Figure 2	Network interaction analysis (a) considering the lipids attributions of the study group and (b) control group. The Metscape plugin indicated three enhanced pathways: phosphatidylinositol phosphate, linoleate, and arachidonic acid metabolism. The lipids in greater abundance are represented by hexagons. Different relationships were observed with enzymes (squares), genes (circles), and associated reactions (diamonds).....	62
Figura 1	Escore de Framingham dos pacientes com DAC no Hospital Universitário Presidente Dutra, São Luís, Maranhão, Brasil, 2018.....	96

RESUMO

Introdução: A relação entre os níveis elevados de lipídios sanguíneos e a Doença Arterial Coronariana já está estabelecida, no entanto, a abordagem lipidômica possibilita a avaliação de outras espécies lipídicas que não são avaliadas pelas estratégias convencionais. **Objetivo:** Identificar os biomarcadores lipídicos associados com a Doença Arterial Coronariana, através da lipidômica. **Métodos e Resultados:** Estudo transversal que incluiu 292 pacientes submetidos consecutivamente à cineangiocoronariografia. Para a análise de lipidômica, realizou-se a extração de lipídios utilizando o protocolo de Bligh e Dyer e os dados de espectrometria de massa com dessorção a laser / ionização assistida por matriz foram avaliados com estatísticas multi e univariadas. Os lipídios identificados como biomarcadores potenciais de aterogênese foram identificados pela base de dados online Lipid Maps, seguida de análise de redes de vias metabólicas, utilizando o software Cytoscape. Os pacientes foram divididos em dois grupos: com Doença Arterial Coronariana significativa (n = 188) e sem Doença Arterial Coronariana significativa (n = 104). Houve diferenças entre os dois grupos em relação a idade, sexo, colesterol da lipoproteína de alta densidade, razão de triglicerídeos/colesterol da lipoproteína de alta densidade, razão de colesterol da lipoproteína de baixa densidade/colesterol da lipoproteína de alta densidade, Triglicerídeos e Apolipoproteína A. Ao aplicar a lipidômica e espectrometria de massa foram identificadas e quantificadas nove espécies lipídicas, destacando-se que sete espécies lipídicas Glicerofosfoetanolamina PE(O-46:5;P-46:4;P-49:3); Glicerofosfocolina PC(O-46:4;P-46:3); Glicerofosfitoinositol PI (O-43: 0); Glicerofosfoserina PA(O-43: 3) apresentaram concentrações aumentadas no grupo de pacientes com Doença Arterial Coronariana significativa. No grupo sem doença arterial coronariana foram observados aumento das espécies lipídicas: Glicerofosfoserina PS(20: 0) e ácido lisofosfático LPA (P-20: 0). **Conclusões:** A análise dos lipídios pela lipidômica identificou, no grupo estudado, a presença de metabólitos aumentados, determinando uma possível associação entre Doença Arterial Coronariana e elevação dessas espécies lipídicas. Tais metabólitos podem auxiliar no conhecimento da gênese da aterosclerose, que poderão no futuro, ser úteis na investigação de doenças cardiovasculares, especialmente a Doença Arterial Coronariana. Novos estudos são necessários para a confirmação desses dados.

Palavras-chave: Doença arterial coronariana. Biomarcadores. Lipidômica.

ABSTRACT

Background: The relationship between elevated blood lipid levels and coronary artery disease has already been established; however, the lipidic approach allows the evaluation of other lipid species that have not been evaluated using conventional strategies. Here, we attempted to identify the lipid biomarkers associated with Coronary Artery Disease, through the use of lipidomics. **Methods and Results:** A cross-sectional study was performed with 292 consecutive patients who underwent coronary angiography. For the lipid analysis, lipid extraction was performed using the Bligh and Dyer protocol. The mass spectrometry data with laser desorption / matrix-assisted ionization were evaluated with univariate and multivariate analysis. Lipids identified as potential biomarkers of atherogenesis were identified using the online Lipid Maps database, followed by analysis of metabolic pathways using Cytoscape software. Patients were divided into two groups: significant coronary artery disease (n = 188) and no significant coronary artery disease (n = 104). There were differences between the two groups regarding age, sex, high density lipoprotein cholesterol, high density lipoprotein cholesterol / triglyceride ratio, high density lipoprotein cholesterol / low density lipoprotein cholesterol ratio, triglycerides and apolipoprotein A. When lipidic and mass spectrometry were applied, nine lipid species were identified and quantified, with seven lipid species glycerophosphoethanolamine PE (O-46: 5; P-46: 4; P-49: 3); Glycerophosphocholine PC (O-46: 4, P-46: 3); Glycerophosphoinositol PI (O-43: 0); Glicerofosfoserina PA (O-43: 3) presented increased concentrations in the group of patients with significant Coronary Artery Disease. In the group without coronary artery disease increased lipid species were observed: glycerophosphoryl PS (20: 0) and lysophosphatidyl LPA (P-20: 0). **Conclusions:** The lipidic analysis by lipidomic identified, in the studied group, the presence of increased metabolites, determining a possible association between Coronary Artery Disease and elevation of these lipid species. Such metabolites may help in the knowledge of the genesis of atherosclerosis, which may in the future be useful in the investigation of cardiovascular diseases, especially Coronary Artery Disease. Further studies are needed to confirm this data.

Keywords: Coronary artery disease. Biomarkers. Lipidomics.

1 INTRODUÇÃO

A transição epidemiológica e a evolução das causas de morbimortalidade modificaram a prevalência de doenças infecciosas, comumente relacionadas às deficiências nutricionais, para doenças crônicas não-transmissíveis (DCNTs) a partir da década de 1960 (WHO, 2009; SCHMIDT et al., 2011).

Além das mortes prematuras, as DCNTs são responsáveis pela incapacidade laboral, redução das rendas familiares e redução da produtividade. Em 2008, em torno de 57 milhões de pessoas morreram no mundo em decorrência de alguma DCNT. No Brasil, em 2010, as Doenças cardiovasculares (DCVs) foram responsáveis por 73,9% dos óbitos (WHO, 2011).

A maior proporção de morbidade e mortalidade devido à DCV está relacionada à Doença Arterial Coronariana (DAC), com 7,4 milhões de óbitos, no ano de 2010 em todo o mundo, atingindo principalmente, indivíduos em idade de alta produtividade, sendo frequentemente associada a altos níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e colesterol no plasma (MENDIS; PUSKA 2011; LOZANO et al., 2012; GO et al., 2013; PYTEL et al., 2013).

As recomendações da III Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Teste Ergométrico (MENEGHELO et al., 2010; FIHN et al., 2012) e da Sociedade Europeia de Cardiologia sobre a gestão de DAC estável (MONTALESCOT et al., 2013) indicam a realização do exame de cineangiografografia, para os pacientes em condição clínica estável, mas considerados com uma alta probabilidade de DAC, e acompanhamento clínico em pacientes com baixa probabilidade de DAC. No entanto, a maioria dos doentes é classificada com probabilidade intermediária de DAC e, nesses casos, a necessidade de um procedimento invasivo está sujeita aos resultados dos testes não invasivos (eletrocardiograma (ECG), radiografia de tórax, ecocardiograma e teste ergométrico) ou à decisão do médico (COSTA FILHO et al., 2015).

Os testes diagnósticos focam na detecção de evidências de isquemia miocárdica nos últimos estágios da doença que pode ocorrer de maneira aguda, assim, a utilização da cineangiografografia como procedimento de diagnóstico, identifica a presença e extensão da DAC aterosclerótica com sensibilidade e especificidade significativas. No entanto, esta técnica é bastante invasiva e apresenta risco de complicações, limitando sua aplicabilidade

nomonitoramento do progressoou regresso da DAC em resposta a terapêutica (TAVAKOL; ASHRAF; BRENER, 2012).

Os estudos angiográficos de Diamond-Forrester (1979) realizados entre as décadas de 60 a 70 mostraram que a simples observação clínica e caracterização da dor, idade e sexo foram importantes preditores para DAC, posteriormente, tais dados foram confirmados em estudos prospectivos realizados em Duke e Stanford (PRYOR et al., 1993), em que a abordagem clínica inicial, com história, antecedentes e exame físico, em homens e mulheres realizaram cineangiocoronariografia (PRYOR et al., 1983; SOX et al., 1990) ou teste de esforço (PRYOR et al., 1993). Outro estudo *Coronary Artery Surgery Study* (CASS, 1983), realizado em 15 centros diferentes, com cerca de 20.000 pacientes, comparou os achados clínicos com os angiográficos, sendo o resultado muito próximo ao do estudo inicial de Diamond-Forrester.

O conhecimento dos fatores de risco habituais como diabetes mellitus, hipertensão arterial, tabagismo e obesidade para DAC na população geral surgiu de estudos de coorte *Framingham Heart Study* (MARGOLIS et al., 1974) e *Multiple Risk Factor Intervention Trial* (MRFIT) (COHEN et al., 1991). As diretrizes do Programa Nacional de Educação sobre o colesterol dos EUA (ATP III) reconhecem ainda, outros fatores de risco relacionados aos hábitos de vida, como inatividade física e dieta aterogênica e os emergentes, como a lipoproteína (a), homocisteína, marcadores da trombose, inflamação, glicemia de jejum e evidência de aterosclerose subclínica (ZEN, 2015).

Labeur et al., (1992) e Gupta et al., (1996) relataram a associação entre Lp(a) e DAC confirmada por cineangiocoronariografia, no qual ocorre um aumento dos valores de Lp(a) com o aumento da gravidade da DAC, enquanto que o estudo de Parra et al., (2003) afirmam que entre os brasileiros apresentam uma heterogeneidade de etnias, sendo raros os estudos sobre Lp(a) e DAC.

Importante ressaltar que no registro norte-americano realizado por Patel et al., (2010), 37,6% dos pacientes estáveis, sem diagnóstico anterior de DAC e encaminhados para a cineangiocoronariografia, apresentavam lesões obstrutivas significativas, sugerindo assim que estratégias melhores são necessárias para a estratificação de risco.

Portanto, existe um interesse substancial na identificação e uso de novos biomarcadores que, isolados ou combinados com os existentes, venham permitir a previsão da

fase subclínica silenciosa, e consequentemente, a identificação de indivíduos que estão em risco de desenvolvimento da DAC (LEWIS; ASNANI; GERSZTEN, 2008).

Os biomarcadores coronarianos novos poderão refletir a inflamação ou a ativação do sistema hemostático sucedido após a ruptura da placa aterosclerótica, e que podem estar em concentrações elevadas antes mesmo do início da lesão irreversível. Porém, muitos estudos requerem técnicas de ensaios sofisticados, sendo que a falta de especificidade de alguns ensaios, aliada aos altos custos, impossibilitam a inclusão dos indivíduos,mesmos em modelos de probabilidade para avaliação do risco individual (LIPPI, MONTAGNANA, SALVAGNO et al., 2006).

A tecnologia da lipidômica torna capaz a investigação de lipídios e as respectivas alterações de perfis lipídicos, que podem estar associadas às patologias e alterações no metabolismo lipídico ou de modulação nestas vias,que podem ser detectadas em sistemas biológicos complexos. Isso proporciona novos conhecimentos, por exemplo, de enfermidades metabólicas e inflamatórias, bem como o papel dos lipídios em sistemas biológicos em geral (HU et al., 2009).

É conhecida a evolução da aplicação da metabolômica e lipidômica como instrumentos para descobrir preditores e biomarcadores na associação com o diagnóstico de DAC, bem como o estudo das vias metabólicas envolvidas (EKROOS et al., 2010). Com isso, utilizar tal metodologia para explorar mecanismos de ação, buscar alternativas de diagnóstico, auxiliar no tratamento e prognóstico para uma doença tão importante é imprescindível.

Vários recursos da diagnose detectam os agravos presentes na rede vascular e estrutura cardíaca, dentre os quais, destaca-se nesse estudo, acineangiocoronariografiarealizadaem pacientes com razoável suspeita de doençacoronária para esclarecimento de dores precordiais de origem isquêmica, que são atendidos no Ambulatório de Insuficiência Cardíaca e encaminhados para o Serviço de Hemodinâmica, ambos no Hospital Universitário Unidade Presidente Dutra (HUUPD).

O interesse pelo estudo surgiu a partir da reflexão da minha trajetória acadêmica em estudos cardiovasculares iniciada no Mestrado em Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Maranhão(UFMA), em que participei do “*Estudo Prevenção de eventos cardiovasculares em pacientes com pré-hipertensão e hipertensão arterial -PREVER*”, em 2011,no ambulatório de Cardiologia no Centro de Pesquisa Clínica, do Hospital Universitário Presidente Dutra (HUUPD). Diariamente, nesse setor, são recebidos usuários para a

realização de exames pertinentes as pesquisas clínicas executadas. Em nível de Doutorado, executei o estudo “*Biomarcadores lipídicos em pacientes submetidos à Cineangiografias coronárias*”, pertencente ao projeto ampliado intitulado “*Utilidade clínica de diferentes medidas dos lipídios e de atividade inflamatória na detecção de doença arterial coronariana em mulheres*”, da Universidade Federal de São Paulo.

Diante da complexidade do objeto de estudo, particularmente, me despertou interesse nos pacientes com suspeita de DAC submetidos à Cineangiografias e com diagnóstico de lesões leves a moderadas, surgindo assim, os seguintes questionamentos: “*Quais as correlações entre os riscos cardiovasculares e os perfis lipídicos?*”, “*Podemos identificar biomarcadores lipídicos nos casos de DAC?*”, “*É uma ferramenta viável identificar os biomarcadores lipídicos nos casos de aterosclerose subclínica?*”, “*Que variáveis demográficas e clínicas são presentes em pacientes com lesões leves e/ou moderadas?*”.

A organização dessa tese apresenta-se em: introdução, abertura do tema, e referencial teórico, conceitos da literatura especializada sobre doença arterial coronariana, bem como sua epidemiologia, fatores de risco, e biomarcadores lipídicos.

No capítulo I, *Glycerophospholipid profiles in the blood plasma of patients with cardiovascular disease-related atherosclerosis* (Perfis de glicerofosfolípidios no plasma sanguíneo de pacientes com aterosclerose relacionada à doença cardiovascular). Apresentado juntamente as normas do periódico PLOS ONE, classificação qualis B1, medicina I, fator de Impacto 1,54.

No capítulo II, Fatores de risco associados à progressão da Doença Arterial Coronariana em pacientes submetidos à cineangiografias. Apresentando-se as normas do periódico Cadernos de Saúde Pública, classificação Qualis B2, medicina I, fator de Impacto 0,45.

Ao final de cada capítulo, é feita a exposição dos resultados do estudo, discussões e conclusões. As limitações e perspectivas futuras do presente estudo são mencionadas nas considerações finais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aterosclerose

A aterosclerose representa a causa subjacente mais comum da DAC, afetando a camada íntima das artérias de médio e grande calibre. Envolve o desenvolvimento do processo inflamatório com o acúmulo de lípidos e elementos celulares, principalmente macrófagos e células musculares lisas no espaço subendotelial das artérias (LIBBY et al., 2011; ROSS, 1999). Esse acometimento pode ocorrer devido a diversos fatores, como elevação de lipoproteínas aterogênicas, hipertensão arterial, tabagismo e outros (FALUDI et al., 2017).

A principal hipótese sobre a origem da aterosclerose considera que esta é uma resposta inflamatória a diferentes formas de lesão da parede vascular, tendo como principais complicações o infarto agudo do miocárdio e o acidente vascular encefálico (ROSS, 1999; LIBBY; RIDKER; MASERI, 2002). Contudo, faltam evidências definitivas que relacionem a aterosclerose humana e os processos como a oxidação, inflamação e imunidade de lipoproteínas (LIBBY; RIDKER; HANSSOM, 2011). Sabe-se que o caráter crônico do processo inflamatório leva à formação de placas de ateroma, que podem progredir e obstruir as artérias (LIMA et al., 2006).

A agressão contra endotélio vascular é estimulada pelos elementos de risco como: dislipidemia, tabagismo, hipertensão e diabetes mellitus que podem causar dano ao endotélio vascular, promovendo a resposta inflamatória e resultando na ativação de células endoteliais (HANSSOM, 2005). Assim, as células endoteliais começam a expressar moléculas de adesão para capturar leucócitos em suas superfícies arteriais, proporcionando uma maior permeabilidade da camada íntima da artéria, favorecendo a entrada e retenção de lipoproteínas, contendo colesterol lipoproteína de baixa densidade (LDL) na matrix subendotelial (LIBBY, RIDKER, HANSSON, 2011).

O acúmulo de lipoproteínas plasmáticas no espaço subendotelial, especialmente lipoproteína de baixa densidade (LDL), parece ser um dos primeiros fenômenos que desencadeiam a proliferação das lesões ateroscleróticas (TOUSOULIS et al., 2003). As partículas de LDL retidas no espaço subendotelial sofrem processos de oxidação e geram produtos com atividade quimiotática para os monócitos circulantes e células musculares lisas

da camada média das artérias. Os monócitos são atraídos e se aderem à superfície endotelial, migram para o espaço subendotelial onde se diferenciam em macrófagos e fagocitam as partículas de LDL oxidadas presentes neste espaço (STARY et al., 1994). A captação das partículas de LDL oxidada é realizada pelos monócitos, denominados receptores "*scavenger*", que não são submetidos à regulação (BEISIEGEL, 1998).

Desta forma, os macrófagos continuam a fagocitar as partículas de LDL oxidada e tornam-se repletos de lípidos, dando origem às células espumosas, responsáveis pela produção das estrias gordurosas (LIMA et al., 2006).

Ésteres de colesterol acumulam-se no citoplasma e os macrófagos tornam-se células espumosas, caracterizando a estria gordurosa, que constitui um estágio precoce da aterosclerose. A concentração e multiplicação de macrófagos liberam diversos fatores de crescimento e citocinas, ampliando o processo inflamatório (LIBBY, 2006). Ressalta-se que a proliferação dos macrófagos pode ser o mecanismo predominante na resposta inflamatória crônica (ROSENFELD, 2014). A habilidade dos macrófagos de produzir citocinas, enzimas proteolíticas e fatores de crescimento, pode ser crítica no papel dessas células no dano e reparação tecidual, que leva ao remodelamento e progressão da lesão (ROSS, 1999; CHRISTODOULIDIS et al., 2014).

Inflamação e aterotrombose estão entre os principais mecanismos para iniciação e progressão da DAC. A disfunção endotelial e a alta concentração de lipídios, particularmente de LDL-colesterol, são fatores desencadeantes de aterogênese, promovendo liberação de citocinas e quimiocinas, responsáveis pelo recrutamento de leucócitos. Anteriormente, pensava-se que o processo aterosclerótico era decorrente do acúmulo de lipídios dentro da parede arterial (ROSS, 1999; DANESH et al., 2000). Contudo, o processo aterosclerótico é mais do que isso, envolve interação complexa entre fatores de risco, células da parede arterial e trocas moleculares (LIBBY; THEROUX, 2005; TOUSOULIS et al., 2011).

A capa fibrosa que protege a placa aterosclerótica é formada por colágeno intersticial, conferindo resistência e estabilidade. A inflamação interfere na integridade do colágeno intersticial bloqueando a produção e estimulando sua degradação. Tal processo é desencadeado pelos linfócitos T, que estimulam a produção de substâncias responsáveis pela inibição e destruição do colágeno, tais como Interferon- γ e interleucina-1 (IL-1). O enfraquecimento da capa fibrosa torna a placa vulnerável ao rompimento e formação de trombos, sendo o principal mecanismo de ruptura da placa ateromatosa (ZEN, 2015).

Portanto, a inflamação não está presente apenas no início do desenvolvimento da placa aterosclerótica, mas também na progressão para a placa complexa, no enfraquecimento da cobertura fibrosa, tornando-a vulnerável ao rompimento e aumento da trombogenicidade, podendo levar a síndrome coronariana aguda e outras complicações (LIBBY, 2006). Torna-se evidente que a ativação da placa (que a deixa instável e sujeita à ruptura, mais do que estenose), repercute na gênese de eventos cardiovasculares, como infarto agudo do miocárdio (HANSSON, 2005).

2.2 Doença Arterial Coronariana

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), especialmente as doenças cardiovasculares (DCV), câncer e doenças respiratórias crônicas, constituem as principais causas de óbito no mundo, aproximadamente 38 milhões de mortes anualmente. Aproximadamente 82% das mortes prematuras por DCNT ocorrem em países em desenvolvimento (WHO, 2014; ROCHA; OLIVEIRA, 2017). Estatísticas mostram que metade dessas mortes ocorre durante a vida produtiva dos indivíduos (CALAFIERO; JANÉ-LLOPIS, 2011) e as DCVs são responsáveis pela maior parte delas, correspondendo a 37% (WHO, 2014).

As taxas de mortalidade por DCV declinaram no mundo, contudo, o impacto da doença permanece alto. Essa redução deve-se ao aumento da prática de terapia médica baseada em evidência e mudança dos fatores de risco populacional (estilo de vida e fatores ambientais). Dentre as DCVs, destacam-se: a doença cerebrovascular (DCV) e a doença arterial coronariana (DAC), que teve uma prevalência de 15,4 milhões entre os americanos em 2013 (GO et al., 2013; WHO, 2014; LIBBY; THEROUX, 2005; JAWAD; ARORA, 2008). Entretanto, as projeções mostraram que, em 2030, a prevalência de DAC será maior, em torno de 18%, em relação a 2013 (HEIDENREICH et al., 2011). No Brasil, a prevalência da DAC na população adulta está estimada entre 5 a 8% (POLANCZYK; RIBEIRO, 2009; ROGER et al., 2012).

A DAC refere-se ao processo patológico da aterosclerose que afeta as artérias coronárias, produzindo um estreitamento do lúmen da artéria, reduzindo a conformidade da parede do vaso e gradualmente causando perda de suprimento de sangue em uma porção do miocárdio, que pode gerar isquemia miocárdica. Essa isquemia pode se manifestar na forma

crônica (angina estável crônica) ou aguda (síndrome coronariana aguda) (HANSON et al., 2013; BRITO; AMIJI, 2007; WONG, 2014; SELWYN; BRAUNWALD, 2004).

2.3 Fatores de risco para doença arterial coronariana

O desenvolvimento da sociedade moderna e as consequentes mudanças no estilo de vida, aumentam a incidência de DAC anualmente, tornando-se a principal causa de morte em todo o mundo (DELOUKAS et al., 2013).

A incidência e a prevalência dos fatores de risco relacionados à DAC variam de acordo com a região, sexo e origem étnica. Nesse contexto, explicações epidemiológico-longitudinais descreveram valiosas informações sobre a história natural e os fatores de risco associados com o desenvolvimento e o prognóstico, fornecendo a base para estudos de intervenção e ensaios clínicos voltados na prevenção da DAC (WONG, 2014).

O *Framingham Heart Study* (FHS) determinou o risco de desenvolvimento de DAC ao longo da vida, foram estudados 7.733 indivíduos de 40 a 94 anos sem DAC. Obteve-se que o risco de vida para indivíduos de 40 anos foi de 49% para homens e 32% para mulheres; e na idade de 70 anos, 35% em homens e de 25% em mulheres (DAWBERT, MEADORS, MOORE, 1951).

No início dos anos 80, a Organização Mundial de Saúde (OMS) realizou o estudo epidemiológico *Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease/World Health Organization* (MONICA) (WHO, 1988) envolvendo uma população de 15 milhões de homens e mulheres, com idade entre 25 a 64 anos monitorados durante 10 anos em 22 países de 4 continentes, forneceu informações sobre taxas de doenças, fatores de risco e tratamento cardiovascular pela primeira vez na maioria das comunidades estudadas. Dentre os principais resultados obtidos por Tunstall-Pedoe et al., (2000) sobre as mudanças na atenção coronária para a sobrevivência, taxas de eventos e mortalidade por doença coronariana utilizando as populações do Projeto MONICA, relataram que a letalidade declinou 19% (IC 95%, 12-26) em homens e 16% (5-27) em mulheres; as taxas de eventos coronarianos caíram 25% (16-35) e 23% (7-39); e as taxas de mortalidade por doença coronariana caíram 42% (31-53) e 34% (17-50).

O estudo *Prospective Cardiovascular Münster* (PROCAM) objetivou determinar a prevalência de fatores de risco de DAC na população alemã em 1979. Foram estudados

4.043 homens e 1.333 mulheres entre 50 a 65 anos, os resultados mostraram que mais de 50% de todos os indivíduos do estudo eram diabéticos e hipertensos. Houve aumento nos valores de colesterol, colesterol de lipoproteína de baixa densidade e triglicerídeos entre os hipertensos do sexo masculino; e aumento de colesterol e triglicerídeos entre os diabéticos de ambos os sexos, o colesterol de lipoproteínas de baixa densidade foi ligeiramente aumentado entre as mulheres. As concentrações de colesterol de lipoproteínas de alta densidade diminuíram nos hipertensos, especialmente em mulheres, e ainda mais nos diabéticos (ASSMANN, SCHULTE, 1987; ASSMANN, CULLEN, SCHUKLTE, 2002).

Em 1984, iniciou-se a coorte longitudinal *The Coronary Artery Risk Development in Young Adults* (The CARDIA Study), que investigou o desenvolvimento e evolução de fatores de risco cardiometabólicos, aterosclerose subclínica e sua associação com eventos cardiovasculares em 5.115 adultos jovens (com idade entre 18 e 30 anos) inicialmente recrutados em 1985-1986 em quatro locais nos Estados Unidos, incluindo Birmingham, Alabama; Chicago, Illinois; Minneapolis, Minnesota; e Oakland, Califórnia, com amostras populacionais aproximadamente balanceadas por centro por gênero, idade, raça e educação (FRIEDMAN et al., 1988). Os dados obtidos por Catherine et al., (2007) indicaram que 9,6% dos adultos tinham alguma calcificação da artéria coronária (CAC), importante marcador da DAC subclínica (assintomática) e preditivo de eventos coronários futuros, com maior prevalência entre homens do que mulheres (15,0% vs. 5,1%), brancos do que negros (17,6% vs. 11,3%) e com idades entre 40 e 45 anos do que entre 33 a 39 anos (13,3% vs. 5,5%).

Diferentemente do *Framingham Heart Study*, o estudo *Atherosclerosis Risk in Communities* (ARIC, 1989) investigou a etiologia da aterosclerose e seus desfechos clínicos, e a variação dos fatores de risco cardiovascular, assistência médica e doença por raça, sexo, lugar e tempo, sendo iniciado no ano de 1987, em três comunidades com diversidade étnica – Forsyth County, na Carolina do Norte, em subúrbios de Minneapolis, em Minnesota, e em Washington County, em Maryland – e em uma comunidade negra – em Jackson, no Mississippi. Envolveu 15.792 participantes brancos e afro-americanos entre 45 a 64 anos, 4 mil de cada comunidade, os quais foram examinados duas vezes, com um intervalo de três anos, destacou-se por mostrar uma relação direta entre bons comportamentos de saúde cardiovascular e um baixo risco para evento cardiovascular no futuro (WU et al., 1992). Foi a primeira grande investigação epidemiológica em que foram utilizadas medidas subclínicas de

aterosclerose, notavelmente a espessura íntima-média carotídea (FOLSOM et al., 2011; HEISS et al., 1991), bem como os níveis de apolipoproteína e os ensaios de coagulação e plaquetas (NAMBI et al., 2010).

O estudo longitudinal de base populacional *Cardiovascular Health Study* (CHS) sobre doença coronariana e acidente vascular cerebral (AVC) em adultos com 65 anos ou mais, envolveu 5.888 homens e mulheres afro-americanos e brancos, demonstrando as tendências relacionadas à idade na morbidade cardiovascular e no funcionamento físico (FRIED et al., 1991), os fatores de risco associados à mortalidade em idosos (FRIED et al., 1998) e associações entre os padrões de pressão arterial, (como hipertensão sistólica isolada) e DCV subclínica (PSATY et al., 1992).

Convém destacar que, primordialmente, os primeiros grandes coortes sobre fatores de risco cardiovasculares *Framingham Heart Study* (MARGOLIS et al., 1974), *Multiple Risk Factor Intervention Trial* (MRFIT) (MC FATE, 1978) e *The National High Blood Pressure Education Program* (NHBPEP) (STAMLER et al., 1993) analisaram, aproximadamente, 390.000 participantes com seguimento entre 21 a 30 anos, identificando pelo menos um fator de risco em 87% a 100% dos pacientes com DAC fatal. Nessas coortes foram avaliados os fatores de risco relacionados ao colesterol total (CT) ≥ 240 mg/dl, pressão arterial sistólica (PAS) ≥ 140 mmHg, pressão arterial diastólica (PAD) ≥ 90 mmHg, tabagismo e diabetes mellitus (GREENLAND et al., 2003).

Não obstante, o uso da ecocardiografia para avaliar a doença cardiovascular subclínica, as medidas de massa ventricular esquerda, as espessuras de parede e a função sistólica foram incluídas inicialmente nas coortes CARDIA (FRIEDMAN et al., 1988) e CHS (GARDIN et al., 1992).

O estudo de coorte multiétnico de aterosclerose (MESA), realizado em 2000, investigou as características subclínicas cardiovasculares e os fatores de risco que predizem a progressão da doença cardiovascular e os diferentes resultados associados entre os principais grupos étnicos nos EUA (afro-americanos, chineses, hispânicos e brancos) em uma amostra populacional de 6.500 homens e mulheres entre 45 e 84 anos (BILD et al., 2000), demonstrando que a adição do uso do escore de cálcio na artéria coronária na avaliação de risco tradicional melhorou a predição cardiovascular, melhor que qualquer outra ferramenta de triagem ou biomarcador anteriormente avaliado (YEBOAH et al., 2012).

O estudo multicêntrico com delineamento caso-controle *Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction* (the INTERHEART study), com 29.972 indivíduos em 52 países (5152 casos e 14820 controles), avaliou a importância dos fatores de risco para a DAC mundialmente. Foi demonstrado que o tabagismo, a dislipidemia, a hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), a gordura abdominal, os fatores psicossociais, a baixa ingestão de frutas e verduras, o sedentarismo e o consumo de álcool explicaram 90% do risco para o infarto agudo do miocárdio (IAM), igualmente entre homens e mulheres, em todas as idades e em diferentes regiões geográficas e etnias (YUSUF et al., 2004).

Com base na experiência do estudo INTERHEART, em 2002, os mesmos pesquisadores realizaram o estudo multicêntrico *Prospective Urban and Rural Epidemiological Study* (PURE) com 153.996 adultos com idades de 35 a 70 anos em 17 países sobre comportamentos de estilo de vida, fatores de risco cardiovascular e incidência de doenças crônicas não transmissíveis (YUSUF et al., 2004; TEO et al., 2009).

No estudo sobre prevalência dos 4 fatores de risco convencionais, conduzido por Khot et al., em 2003, a partir dos dados de 12.2458 pacientes inscritos em 14 ensaios clínicos randomizados internacionais, realizados com doença coronariana na década de 90, concluíram que 80% a 90% dos indivíduos com DAC apresentavam fatores de risco convencionais (tabagismo, hipertensão, dislipidemia e diabetes mellitus).

No Brasil, o Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA) iniciado em 2004 com 15.105 participantes nos seis centros de investigação para analisar os fatores de risco e prognóstico de diabetes e doença cardiovascular (AQUINO et al., 2012). Outros grandes estudos foram realizados como *Prevention of hypertension in patients with pre-hypertension: protocol for the PREVER-prevenção e PREVER-Tratamento* (FUCHS et al., 2011) e os ensaios clínicos randomizados sobre tratamento com célula tronco para condições cardíacas.

Os estudos epidemiológicos cardiovasculares realizados ao longo dos últimos 70 anos contribuíram para o conhecimento sobre a distribuição da doença cardiovascular, os fatores de risco e a doença subclínica na predição de eventos cardiovasculares, levando assim ao desenvolvimento de métodos para estimar o risco global de DAC e DCV em cada indivíduo (CALIFF et al., 1996; GREENLAND et al., 2010).

Em contraste com a importância dos fatores de risco convencionais da DAC na população em geral (tabagismo, diabetes, hiperlipidemia e hipertensão), destaca-se que cerca

de 35% dos eventos ateroscleróticos ocorrem na ausência dos mesmos segundo American Heart Association (AHA, 2004), possibilitando assim a correlação com outros fatores de riscos responsáveis por eventos vasculares (HARJAI, 1999; RIDKER et al., 2002; RIFAI; RIDKER, 2001; MELANDER et al., 2009; BARDERAS et al., 2011; MAY; WANG, 2014).

Portanto, trata-se de uma rede causal complexa, que envolve diversos níveis de fatores, e mesmo com elementos de risco tradicionais estabelecidos, o aprofundamento das relações, a busca pelas bases genéticas das doenças, novos fatores de risco e sua relação com o desenvolvimento da DAC vêm sendo estabelecidas (ZEN, 2015). Aprofundam-se análises de novos biomarcadores que agregam parâmetros de risco de desenvolvimento da DAC, como os de processo inflamatório (que podem participar da etiologia de DAC) segundo ROSS(1999) e esses parecem estar ligados aos fatores de risco (KAPTOGE et al., 2010; CÔTÉ et al., 2005).

Embora a pesquisa sobre fatores de risco não tradicionais e causas genéticas de doenças cardíacas seja importante, a medicina clínica, as políticas de saúde pública e os esforços de pesquisa devem enfatizar significativamente os fatores de risco convencionais e os comportamentos do estilo de vida, reduzindo a epidemia de DAC (KHOT et al., 2003).

2.4 Dislipidemias

As dislipidemias são o aumento das taxas de lipídios no sangue, principalmente do colesterol e dos triglicerídeos (BOCCALETTO; MENDES, 2009; PEREIRA, 2010; MOURA, 2015; ABADI; BUDEL, 2017). Distúrbios lipídicos podem ser desencadeados a partir do estilo de vida ou ter causas secundárias e ainda derivarem de mutações nos genes que codificam apolipoproteínas, receptores de apolipoproteínas ou enzimas envolvidas no metabolismo das lipoproteínas (PINCUS, 2012; FALUDI et al., 2017).

As dislipidemias são classificadas em hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia (SALVARO; ÁVILA JÚNIOR, 2009). São consideradas um Fator de Risco (FR) modificável para DAC, de forma que é possível precaver, atrasar ou reverter o processo aterosclerótico, por isso é imprescindível identificar os fatores como sedentarismo, obesidade, hereditariedade entre outros que a predispõe (DINIZ et al., 2018).

As hiperlipidemias primárias são geradas, sobretudo por fatores genéticos, enquanto as secundárias abarcam o hipotireoidismo, síndrome nefrótica, insuficiência renal,

diabetes mellitus, alcoolismo, colestases, hepatopatias obstrutivas e entre outros. Os níveis reduzidos de lipoproteínas podem derivar da síndrome de má absorção e desnutrição. Estudos evidenciam que as dislipidemias estão associadas às doenças cardiovasculares sendo as principais causas de mortalidade entre adultos (SILVA et al., 2013; RABELO et al., 2017; SANTOS, 2017).

2.5 Dosagens lipídicas em pacientes com doença arterial coronariana

Clínica e fisiologicamente, os lipídios mais importantes são os fosfolipídios, o colesterol, os triglicerídios ou triacilgliceróis (TAGs) e os ácidos graxos. Os fosfolipídios desenvolvem a estrutura da bicamada das membranas celulares. O colesterol é precursor dos hormônios esteroidais, de ácidos biliares e vitamina D, e constituinte das membranas celulares, contribuindo para a fluidez e ativação de enzimas. Os TAGs são desenvolvidos a partir de três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol e é uma das formas de armazenamento de energia, depositados nos tecidos adiposo e muscular (RIBEIRO et al., 2015; FALUDI et al., 2017).

Valores elevados desses lipídios são observados em pacientes com doença coronariana, conforme os estudos de FALUDI et al., 2017; SANTOS et al., 2017, o colesterol total abaixo de 200mg/dL são desejáveis e indicam baixo risco para DCV, resultados entre 200 e 239 mg/dL são de risco moderado, resultados iguais ou maiores que 240 mg/dL são fatores de alto risco para DCV

A dosagem dos triglicerídeos no sangue é realizada como parte de um perfil lipídico empregado para estimar o risco de DCV, além de sua determinação é importante o cálculo das frações de colesterol. Fazem parte da avaliação do perfil lipídico e pode ser usado para monitorar fatores de risco de doença cardíaca, como as que tiveram IAM ou as em tratamento de níveis altos de triglicerídeos (MILLER et al., 2011; FALUDI et al., 2017).

O colesterol presente na Lipoproteína de Alta Densidade (High Density Lipoprotein – HDL) é uma das frações do colesterol. Além disso, é indicado investigar alterações lipídicas causadas por outras doenças (FALUDI et al., 2017). A utilização do não HDL-c pode ser obtido a partir da subtração do valor de HDL-c do valor de CT. É utilizado na avaliação de dislipidemia, especialmente naqueles com concentrações de triglicerídeos superiores a 400 mg/dL (FALUDI et al., 2017).

O colesterol presente na Lipoproteína de Baixa Densidade (Low Density Lipoprotein – LDL) também é uma das frações do colesterol, assim como a Lipoproteína de Muito Baixa Densidade (Very Low Density Lipoprotein – VLDL). Também faz parte de exames para avaliação do risco de DAC, sendo essencial por se tratar da lipoproteína aterogênica (FALUDI et al., 2017).

Conforme o estudo de Anroedh et al., (2017), pacientes com SCA apresentaram concentrações plasmáticas significativamente maiores de ésteres de colesterol (CE), lactosilceramida (LacCer) que aqueles sem nenhum evento cardíaco. Em pacientes com um evento cardíaco adverso maior, exceto concentração plasmática de LacCer, todas as concentrações lipídicas foram significativamente superiores nos pacientes com SCA comparados com pacientes com Angina Pectoris Estável. Além disso, em pacientes com SCA, a concentração de Cer (Ceramida) foi significativamente maior grupo com eventos cardíacos adversos maiores em comparação com aquelas com cardíacos adversos não importantes.

As elevações de ceramidas plasmáticas são maiores nos pacientes com SCA e angina instável em comparação com as DACs estáveis (PAN et al., 2014). As ceramidas de plasma estáveis são preditoras de doenças cardiovasculares decorrentes da placa aterosclerótica instável (MAYO, 2016).

Conforme o estudo de Laaksonen et al., (2016), Tarasov et al., (2014) e Cheng et al., (2014), níveis elevados de ceramidas são associados a um tipo de núcleo tecidual necrótico e carga do núcleo lipídico na cinecoronariografia e pode prever um desfecho clínico de um ano em pacientes SCA e DAC estável.

Da mesma forma, Barroso (2012), elevação do nível de ceramida, principalmente derivada da hidrólise da esfingomielina, resultado no aumento de risco de aterosclerose. Fatores de risco cardiovascular associados aos níveis de ceramida são descritos, como alterações do nível de citocinas específicas, da forma oxidada da LDL e da homocisteína.

2.6 Lipídios

Os lipídios são ésteres que por hidrólise fornecem ácidos carboxílicos superiores (AG), sendo biomoléculas, compostas por carbono, hidrogênio e oxigênio insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Do ponto de vista fisiológico e clínico, os lipídios

biologicamente mais relevantes, são os ácidos carboxílicos superiores, triglicerídeos (TG), os fosfolípidios e o colesterol. O colesterol é precursor dos hormônios esteroides, dos ácidos biliares e da vitamina D. Os TGs são formados a partir de três ácidos graxos (AG) ligados a uma molécula de glicerol, é uma das formas de armazenamento energético mais importante no organismo, sendo depositados nos tecidos adiposos e musculares (SBC, 2017).

O colesterol é essencial para o organismo, pois participa da estrutura das membranas celulares, além de ser o precursor de compostos como os ácidos biliares e de hormônios esteroides. É sintetizado endogenamente pelas células do fígado e do intestino proveniente da alimentação. Após ser metabolizado pelo fígado, é liberado de três formas: colesterol biliar, ácidos biliares e colesterol circulante nas lipoproteínas (KAMON; LAVOINNE; VERNEUIL, 2006).

O transporte dos lipídios na corrente sanguínea, devido à sua hidrofobicidade, é feito pelas lipoproteínas, que é constituída de lipídios e apolipoproteínas, responsáveis pela formação, estabilização e mediação das lipoproteínas com receptores divididos em classes conforme a densidade, tamanho e mobilidade eletroforética. São agrupadas em cinco classes: os quilomícrons (Qm), as maiores e menos densas, lipoproteínas que transportam os triglicerídeos (TG) da dieta (via exógena) até os tecidos, as lipoproteínas de densidade muito baixa, (VLDL) carregam os TG sintetizado pelo fígado (via endógena) para os tecidos, as lipoproteínas de densidade intermediária, as lipoproteínas de baixa densidade ou LDL-C ricas em colesterol, que são transportadas até as células, as lipoproteínas de alta densidade ou HDL-C, que são as menores lipoproteínas e estão envolvidas no transporte reverso do colesterol, conduzindo-o até o fígado onde é catabolizado e eliminado (MOTTA, 2009).

Distúrbios no perfil de distribuição dos lipídios são chamados de dislipidemias, podendo resultar em hiperlipidemia ou hipolipidemia e podem ser divididas em primárias, que são alterações genéticas, ou em secundárias, que são causadas por hipotireoidismo, doença renal, diabetes mellitus, uso de medicamentos, alcoolismo e outros fatores (ALVES; POIAN; ABRAHÃO, 2010).

Sabe-se que grande número de pacientes que desenvolvem DAC tem níveis lipídicos normais ou moderadamente elevados (CANTIN et al., 2002), demonstrando que, apesar da enorme contribuição das dislipidemias para o desenvolvimento de DAC, outros fatores também são responsáveis pela progressão da aterosclerose (LIMA et al., 2006).

No desenvolvimento aterosclerótico as placas de ateroma se desenvolvem nas artérias de médio e grande calibre, que acumulam lipídios circulantes no plasma e atraem células inflamatórias. A relação entre as dislipidemias e a formação da placa aterosclerótica é relacionada aos fosfolipídios oxidados de lipoproteína, principalmente a LDL-C (Lipoproteína de baixa densidade), que aumenta a expressão de moléculas de adesão e citocinas, atraindo monócitos e linfócitos T para a camada subendotelial, guiada por moléculas quimioatratoras, que quando atraídos, sofrem diferenciação e se transformam em macrófagos, que vão realizar a endocitose das lipoproteínas oxidadas formando as células que vão morrer no local da lesão (ALVES; POIAN; ABRAHÃO, 2010; ROCHA; OLIVEIRA, 2017; SBC, 2017).

Essas desordens no metabolismo dos lipídios tem um impacto nocivo, maior em indivíduos com enfermidade coronariana. Estudos epidemiológicos demonstram grande relação no aparecimento e progressão de doenças coronarianas com altas concentrações plasmáticas de lipídios(SBC, 2017).

As alterações do metabolismo lipídico determinam a evolução da aterosclerose e a avaliação laboratorial das lipoproteínas tornou-se fundamental para o seu diagnóstico e tratamento (SHARRETT; BALLANTYNE; COADY, 2001; SBC, 2001).

Descoberta por Berg (1963), a lipoproteína “a” [Lp(a)], vem sendo investigada quanto a sua aterogenecidade e seu metabolismo não é bem conhecido, sabe-se que é uma lipoproteína semelhante a LDL-C, diferenciada desta por conter em sua estrutura a apolipoproteína A (Apo A), ligada à apolipoproteína B (Apo B) por pontes dissulfeto. A APO A tem sua estrutura muito semelhante ao plasminogênio, concedendo propriedades trombogênicas, impedindo o mesmo de se ligar, e assim, diminuindo a formação de plasmina e fibrinólise (ROCHA; OLIVEIRA, 2017; ANROEDH et al., 2018).

A Lp(a) tem sido descrita como uma variante genética ou marcador genético de alto risco para DAC. Apresenta um padrão de herança envolvendo a ação de um gene autossômico, com efeito principal na determinação de seus níveis, que sofrem ainda, a ação de poligenes (REES, 1990). Não possui função de transporte de lípidos, portanto, sua ausência no plasma não acarreta transtornos metabólicos (LIMA et al., 2006).

A Lp (a) tem sido alvo de pesquisas, trata-se de partículas constituídas por uma parte central de lipídios hidrofóbicos, circundados por uma monocamada de lipídios polares e apoproteínas (STRYER, 1996; MAHLEY; WEISGRABER; FARESE, 2003). Além disso, a Lp(a) apresenta uma composição lipídica similar a da LDL, com alto teor de colesterol

esterificado e difere no conteúdo proteico, com a presença da apolipoproteína(a) ou APO(a) ligada à apolipoproteína B por pontes dissulfeto (CORVILAIN, 1997; HAJJAR; NACHMAN, 1996; HAJJAR; NACHMAN, 1996; KOSCHINSKY, 2004; PATI; PATI, 2000; UTERMANN, 1989).

Estudos (CELORIO, 2000; LIMA et al., 2006; GOMES; BISPO; MACÊDO NETO, 2009) tem demonstrado que existe uma associação entre a Lp(a) e a doença arterial coronariana (DAC), revelando por meio de cineangiocoronariografias que, quanto mais grave a DAC, maior o aumento dos valores da Lp(a). E também confirmaram a necessidade de dosagem das concentrações de Lp(a) em pacientes com aterosclerose coronariana grave, mesmo que as concentrações de lipídios estejam normais, uma vez que a Lp(a) é um marcador de predição de gravidade aterosclerótica e sugere risco independente para o desenvolvimento da DAC (ROCHA; OLIVEIRA, 2017; ANROEDH et al., 2018).

São sintetizadas e secretadas pelo fígado (VLDL) ou intestino (quilomícrons), ou resultam de transformações sofridas por estas partículas, como é o caso da IDL (lipoproteína de densidade intermediária), LDL e HDL. Têm duas funções principais: solubilizar os lipídios no plasma e regular o movimento destes em sua entrada e saída de células-alvo e tecidos específicos (STRYER, 1996; MAHLEY; WEISGRABER; FARESE, 2003).

O metabolismo da Lp(a) não está completamente esclarecido, entretanto, parece que as variações de suas concentrações plasmáticas dependem mais da síntese do que do catabolismo desta lipoproteína (KOSCHINSKY, 2004).

Sabe-se que os níveis plasmáticos de Lp(a) e a sua massa molecular são determinados geneticamente, mas são variáveis entre os indivíduos (MARCOVINA et al., 2004). Contudo, certas anormalidades metabólicas podem influenciar o aumento nas concentrações circulantes de Lp(a) em resposta de fase aguda de manifestação da doença, como no caso do diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, síndrome nefrótica, câncer, menopausa e hipotireoidismo (MILIONIS; WINDER; MIKHAILIDIS, 2000).

No processo aterosclerótico, que envolve mecanismos inflamatórios, o aumento potencial na concentração de Lp(a) circulante pode acontecer pela presença de doença vascular extensiva (MILIONIS; WINDER; MIKHAILIDIS, 2000) e também influenciada por uma resposta de fase aguda após um infarto agudo do miocárdio (MAEDA et al., 1989). Portanto, os níveis plasmáticos elevados de Lp(a) podem também ser parte da consequência, e não somente a causa do processo aterosclerótico (LIMA et al., 2006).

Nesse contexto, o estudo de Renninger et al., (1965), demonstrou que a concentração de Lp(a) foi significativamente mais elevada no plasma de indivíduos sobreviventes de infarto do miocárdio quando comparada aos indivíduos hígidos. Outros estudos epidemiológicos prospectivos e de metanálise realizados por Genest et al., (1991) e Hopkins, Wu e Hunt (1997) confirmaram a associação positiva entre Lp(a) e DAC.

O envolvimento da Lp(a) na fisiopatologia da aterosclerose e trombose foi elucidado no estudo realizado por McLean et al., (1987) que determinaram a sequência de aminoácidos da APO(a), sugerindo semelhança estrutural com o plasminogênio em cerca de 80% dos aminoácidos. A Lp(a) é uma interação funcional entre o processo de aterosclerose e trombose, uma vez que esta participa do processo de desencadeamento da aterosclerose pela sua semelhança com a partícula de LDL, o que permite o acúmulo de Lp(a) no espaço subendotelial proporcionalmente à sua concentração plasmática (KOSCHINSKY, 2004).

É possível que a Lp(a) possa contribuir para a trombogênese, ao competir com sítios de ligação do plasminogênio (HANCOCK et al., 2003), diminuindo a geração da plasmina e a fibrinólise (ANGLÉS-CANO; PEÑA-DÍAZ, 2000), e assim, estabelece uma associação entre os níveis elevados de Lp(a) com DAC (IMHOF et al., 2013).

Foi comprovado o valor preditivo da Lp(a) em uma subpopulação com alta afinidade por fibrina, formada por isoformas de proteínas de baixo peso molecular (ANGLÉS-CANO; PEÑA-DÍAZ, 2000), sendo que as isoformas de menor tamanho e maior afinidade pela fibrina tem maior associação com a DAC (ANGLÉS-CANO; PEÑA-DÍAZ, 2000; PEÑA-DÍAZ; IZAGUIRRE-AVILA; ANGLÉS-CANO, 2000).

Diversos estudos, inclusive prospectivos, têm demonstrado que a Lp(a) representa um fator de risco preditivo independente para aterosclerose coronariana (KRONENBERG et al., 1999; LUC et al., 2002; DANESH, COLLINS, PETO, 2000; FUJINO et al., 2000; RIM et al., 2000).

A associação entre Lp(a) e DAC é confirmada por cineangiocoronariografia, tendo sido observado um aumento dos valores de Lp(a) com o aumento da gravidade da DAC por Labeur et al., (1992) e Gupta et al., (1996). Outro estudo realizado por Lima (2005) confirmou a utilidade da Lp(a) como preditor da gravidade da aterosclerose coronariana.

O estudo de Maranhão et al., (1995) identificou elevadas concentrações plasmáticas de Lp(a) em brasileiros da raça negra comparados com os caucasianos, porém

sem associação com a presença ou extensão da DAC na população avaliada. Este estudo também demonstrou que níveis elevados de Lp(a) contribuíram para o desenvolvimento de DAC em caucasianos brasileiros.

Ressalta-se que prevalece um consenso na literatura de que a Lp(a) é um fator de risco independente para DAC em diferentes populações, incluindo caucasianos, negros e orientais (PATI; PATI, 2000; MARCOVIN et al., 1996) e na literatura o valor preditivo da Lp(a) para DAC seria maior em mulheres (FROHLICH et al., 2004).

Os estudos realizados por Labeur et al., (1992) e Gupta et al., (1996) relataram a associação entre Lp(a) e DAC confirmada por cineangiocoronariografia, com um aumento dos valores de Lp(a) com o aumento da gravidade da DAC. Ratificando isso, o estudo de Parra et al., (2003) afirmou que população brasileira apresenta uma heterogeneidade de etnias, sendo raros os estudos sobre Lp(a) e DAC.

2.7 Lipidômica

A metabolômica é uma das ciências “ômicas”, cujo objetivo é estudar o perfil de metabólitos presentes no organismo em um determinado tempo. Considerada uma ciência nova, as primeiras publicações datam de 1984 (NORDSTRÖM; LEWENSOHN, 2010; PATTI; YANES; SIUZDAK, 2012). O metaboloma humano ainda é desconhecido, estima-se aproximadamente 20.000 metabólitos endógenos e exógenos, que incluem aminoácidos, peptídeos, lipídios, ácidos orgânicos, nucleotídeos e outros, presentes em uma ampla faixa de concentração (GIOVANE; BALESTRIERI; NAPOLI, 2008; LEBKUCHEN, 2017).

Houve um rápido crescimento no número de aplicações da metabolômica em medicina nos últimos anos, sobretudo na busca de biomarcadores que possam ser aplicados no diagnóstico clínico de diversas patologias (VINAYAVEKHIN; HOMAN; SAGHATELIAN, 2009). Há relatos de sua aplicação no diagnóstico precoce de Alzheimer, onde alguns lipídios são sinalizados como biomarcadores quando analisados os grupos de estudo com diagnóstico para a enfermidade comparada com grupos sem a doença (HAN et al., 2011; SATO et al., 2012).

Também se encontra o uso da metabolômica na busca de biomarcadores e tratamento para o câncer (PATEL; AHMED, 2015). Dentro da cardiologia existem estudos que investigaram o plasma de pacientes com infarto do miocárdio que apresentaram

metabólitos significativamente diferenciados, tornando possível traçar um diagnóstico para o caso (LEWIS et al., 2010; GRIFFIN et al., 2011; RHEE; GERSZTEN, 2011; WATERMAN; KIAN-KAI; GRIFFIN, 2012).

Dentro da metabolômica, existe a lipidômica, onde os lipídios têm sido crescentemente relacionados às diversas doenças e estudos focados na compreensão e influência dos lipídios no organismo vêm sendo publicados (WATSON; GEFFEN, 2013). Existem aproximadamente 600 espécies moleculares no plasma humano, quantificados e reportados, divididas em seis diferentes classes (QUEHENBERGER et al., 2010; LEBKUCHEN, 2017).

Lipidômica é um estudo fundamentado nos sistemas de todos os lipídios (WATSON, 2006), sendo definidos como a caracterização de espécies moleculares lipídicas e seus papéis biológicos, como esfingolipídios, fosfolipídios, ésteres de esteróis e acilgliceróis, muitos dos quais desempenham um papel integral na modulação da função biológica, como formação de membranas celulares, armazenamento de energia e sinalização celular (ROBERTS et al., 2008; STOCK, 2008). Como a lipidômica fornece perfis lipídicos detalhados, podendo aprimorar a estratificação de risco de pacientes com DAC (EKROOS et al., 2010).

A identificação e quantificação de proteínas e lipídios é de grande importância para o diagnóstico, prognóstico e compreensão de mecanismos moleculares envolvidos no desenvolvimento de doença. Em diferentes estágios do desenvolvimento da síndrome hipertensiva, lipídios e proteínas desempenham importante papel nos mecanismos subjacentes. Estas duas classes de biomarcadores podem ser diferentemente monitorados por um ponto de vista holístico por abordagens “ômicas” denominados proteômica e lipidômica. A lipidômica é o ponto final da cascata “omic” e é, portanto, mais próximo do fenótipo do paciente (THOMAS et al., 2011) e tem como objetivo realizar uma análise abrangente dos lipídios no sistema biológico e estudar em grande escala as estruturas e funções de uma variedade de lipídios (HU et al., 2009).

Tarasov et al., (2014) realizou análise lipidômica a partir do estudo de saúde cardiovascular e risco de Ludwigshafen (LURIC) e identificou múltiplas espécies lipídicas moleculares associadas a eventos fatais em pacientes com DAC.

Este elemento ômico, em combinação com amostras clínicas apropriadas e dados de bancos biomoleculares é usado hoje para atender as necessidades de diagnósticos de

doença não disponíveis (EKROOS et al., 2010). Lipídios são constituintes celulares essenciais, com têm muitas funções no interior das células e regulam vários processos biológicos (MONTANI et al., 2012).

A importância fisiológica de lipídios é ilustrada pelas numerosas doenças que apresentam anormalidades lipídicas, incluindo a diabetes, aterosclerose, obesidade e doença de Alzheimer (WATSON, 2006). As classes de lipídios complexos já identificados em análise lipidômica incluem: Lisofosfolocolina (LPC), Fosfatidilcolinas (PC), Esfingomielinas (SPM), Fosfatidiletanolamina (PE), ésteres colesteril (ChoE), diacilglicerol (DG) e Triacilglicerol (TG) (CORDEIRO et al., 2018; SONG et al., 2014; PARK et al., 2010; LI et al., 2013; KWAK et al., 2011; MARTINELLI et al., 2008; NAMAZI et al., 2016; ANROEDH et al., 2018). Estudo realizado por Hu et al., (2011) identificaram 81 espécies de lipídios distribuídas em 07 classes, estando a classe TG a mais aumentada em pacientes hipertensos quando comparado aos normotensos.

Esta técnica da lipidômica integrada com a genômica, proteômica, metabolômica poderá contribuir para a compreensão de como os lipídios funcionam em um sistema biológico e poderá fornecer uma ferramenta poderosa para a elucidação do mecanismo de lipídios nas doenças, para a seleção de biomarcadores e para monitorização terapêutica farmacológica (WATSON, 2006). Devido à complexidade do campo "ômicas", com inúmeros compostos dinâmicos para caracterizar e monitorar, o desenvolvimento de estratégias de análise e adaptação de dados mínimos constitui um grande desafio no qual a espectrometria de massa (MS) é considerada uma ferramenta poderosa (THOMAS et al., 2011).

A espectrometria de massa se tornou uma técnica chave em plataformas analíticas para investigações proteômicas e lipidômicas, devido à sua seletividade e sensibilidade. Usando esta técnica, várias estratégias têm sido desenvolvidas com base em abordagens inespecíficas ou específicas para enfatizar ou monitorar moléculas de interesse de matrizes biológicas. Embora estas abordagens tenham sido amplamente empregadas na pesquisa do câncer, este tipo de investigação tem apresentado um grande interesse no campo das doenças cardiovasculares, potencialmente levando à descoberta de novos biomarcadores e o desenvolvimento de novas terapias (THOMAS et al., 2011).

Os novos biomarcadores coronarianos serão capazes de refletir a inflamação ou a ativação do sistema hemostático ocorrido após a ruptura da placa aterosclerótica e que podem estar em concentrações elevadas antes do início da lesão irreversível. Contudo, muitos estudos

requerem técnicas de ensaio sofisticadas, sendo que a falta de especificidade de alguns ensaios, aliada aos altos custos, impossibilita a inclusão dos indivíduos, mesmo em modelos de probabilidade para avaliação do risco individual (LIPPI, MONTAGNANA, SALVAGNO et al., 2006).

A tecnologia lipidômica permite investigar as alterações nos perfis lipídicos associados às doenças, bem como as alterações no metabolismo dos lipídios que podem ser detectadas em sistemas biológicos complexos. Isto proporciona novos conhecimentos, por exemplo, sobre as doenças metabólicas e inflamatórias, também o papel dos lipídios nos sistemas biológicos em geral (HU et al., 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a associação entre os potenciais biomarcadores lipídicos utilizando a técnica da lipidômica e a doença arterial coronariana

3.2 Objetivos Específicos

- a) Determinar as características sócio-demográficas, estilo de vida, antropométricas, clínicas e laboratoriais nos pacientes submetidos a cineangiografia coronária;
- b) Determinar a associação entre as variáveis sócio-demográficas e a gravidade das lesões nas artérias coronárias entre os pacientes com doença arterial coronariana;
- c) Determinar os perfis lipídicos entre os grupos com doença arterial coronariana ou sem;
- d) Avaliar o valor preditivo dos biomarcadores potenciais para doença arterial coronariana.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

Estudo transversal.

4.2 Período e local do estudo

A coleta de dados foi realizada no período de Janeiro a Dezembro de 2017, no Serviço de Hemodinâmica do Hospital Universitário Presidente Dutra (HUPD) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) localizado na cidade de São Luís –MA, onde são realizados os exames de cineangiocoronariografia para avaliação de DAC.

4.3 Cálculo da amostra

O cálculo amostral, considerando-se a prevalência de DAC de 32 %, erro amostral de 5% e poder de teste de 90 %, foi de 236 pacientes. Foram avaliados 350 pacientes, restando 292 pacientes que preencheram os critérios de inclusão.

4.4 Critérios de Inclusão

Pacientes maiores de 18 anos, ambos os sexos, com suspeita de doença coronária, consecutivamente submetidos à cineangiocoronariografia, no período do estudo, e que concordaram em participar da pesquisa.

4.5 Critérios de não-inclusão

Pacientes com síndromes coronarianas agudas, cirurgia de revascularização do miocárdio ou intervenção percutânea durante os três primeiros meses destes eventos e ainda os portadores de insuficiência renal (creatinina sérica > 2.0 mg/dL), hepática, hipotireoidismo não controlado, ou neoplasias benignas ou malignas, pacientes encaminhados pelo serviço de urgência e emergência e os com indicação de cateterismo por outra razão que não a DAC,

mulheres com menopausa precoce e em uso de terapia hormonal, e os pacientes que não autorizaram sua participação a qualquer momento da pesquisa.

4.6 Instrumento e Coleta de dados

Todos os pacientes foram submetidos à cineangiografia coronária para avaliação diagnóstica de doença arterial coronariana (DAC), responderam a uma ficha protocolo (APÊNDICE A) contendo variáveis sócio-demográficas (sexo, idade, cor da pele autorreferida, escolaridade, atividade laboral, renda familiar, situação conjugal) e os antecedentes mórbidos pessoais e familiares, DM, HAS, insuficiência coronariana (Ico), AVE e doença vascular periférica (DVP), atividade física, tabagismo, etilismo.

Na sequência, os pacientes foram submetidos a exame físico, sendo avaliadas as seguintes variáveis antropométricas: peso, altura, circunferência abdominal, circunferência de quadril, índice de massa corpórea (IMC) e pressão arterial (PA). Nessa mesma ficha foram anotados, após realização, os resultados dos exames de lipidograma, Apo A e Apo B e PCR-us.

4.6.1 Peso e Altura

Para a medida do peso, foi utilizada uma balança portátil com capacidade para até 150 Kg e escala de 100 g, previamente calibrada, da marca Tanita, modelo HS 301 digital. Foi realizada com o entrevistado descalço, com a roupa do corpo, com qualquer tipo de peso extra removido (chaves, carteira, óculos, etc) e com a bexiga vazia.

Para mensuração da altura, foi utilizado estadiômetro da marca Welmy, modelo portátil 220, com precisão de 0,5cm. A medida da altura foi realizada posicionando o entrevistado em pé, de costas para o estadiômetro, descalço, com a cabeça livre de adereços, ereto, com os braços estendidos ao longo do corpo e com a cabeça posicionada no plano de Frankfurt. A medida foi então realizada ao final de uma inspiração profunda, com a parte móvel do estadiômetro pressionada contra a cabeça, o suficiente para comprimir o cabelo.

Com os dados de peso e altura, calculou-se o IMC, que consiste no peso em quilograma, dividido pelo quadrado da altura em metros. A classificação do IMC foi realizada conforme os pontos de corte para população adulta determinados pela Organização Mundial

da Saúde (1995), considerando os indivíduos $<18,5\text{kg/m}^2$ indica desnutrição; entre 18,5 e $24,9\text{kg/m}^2$, eutrofia; e $\geq 25\text{kg/m}^2$, excesso de peso. Os pacientes foram estratificados em IMC $< 25\text{ kg/m}^2$ e IMC $> 25\text{ kg/m}^2$ para fins de análise estatística.

4.6.2 Circunferência abdominal (CA)

A circunferência abdominal (CA), indicador antropométrico de obesidade central segundo atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2017), foi utilizada uma fita métrica inextensível modelo Gulick, marca Mabbis (CARDIOMED, Curitiba, Paraná), cuja medida foi aferida no ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca anterossuperior. O avaliado foi orientado a respirar normalmente e a medida foi realizada ao final de uma expiração normal. A classificação quanto à CA obedeceu aos pontos de corte propostos pelo National Cholesterol Education Program (NCEP), que aponta baixo risco $< 80\text{ cm}$ para o sexo feminino (M) e $< 94\text{ cm}$ para o sexo masculino (H), risco elevado $\geq 80\text{ cm}$ para o sexo feminino (M) e $\geq 94\text{ cm}$ para o sexo masculino (H) e risco muito elevado aquela $\geq 88\text{ cm}$ (M) e $\geq 102\text{ cm}$ (H).

4.6.3 Circunferência de quadril (CQ)

A circunferência de quadril foi aferida em centímetros com uma fita métrica inextensível, modelo Gulick, marca Mabbis (CARDIOMED, Curitiba, Paraná), na área de maior protuberância glútea e em um plano horizontal. A relação cintura-quadril foi obtida a partir dos valores de circunferência da cintura e do quadril e para a classificação destes foram utilizados os pontos de corte recomendados pela WHO (1998).

4.6.4 Pressão arterial (PA)

Foi aferida a pressão arterial obedecendo às recomendações preconizadas pelas VII Diretrizes da Sociedade Brasileira de Hipertensão Arterial (2016). A aferição foi realizada pelo método indireto com técnica auscultatória e esfigmomanômetros aneroides calibrados. Os pacientes eram sabedores de que não deveriam praticar exercício físico 60 a 90 minutos antes da avaliação, nem ingerir bebidas alcoólicas, café ou fumar 30 minutos antes da aferição.

Desse modo, efetuou-se a aferição em dois momentos distintos, com intervalo de aproximadamente dois minutos, levando-se em conta o nível mais baixo como PA aceita para o trabalho. Utilizou-se o manguito apropriado à circunferência do braço, com o paciente sentado após repouso de 15 minutos, considerando hipertensos aqueles que faziam algum tipo de tratamento e/ou apresentavam PAS > 140 mmHg e/ou PAD > 90 mmHg, e controlados aqueles com PA < 130/80 mmHg.

4.6.5 Reclassificação de Risco Cardiovascular

Utilizou-se o Escore de Risco de Framingham (ERF) revisado por D'Agostino et al., (2008) que forneceu um algoritmo multivariado de predição do risco de desenvolver todas as DCV e dos seus constituintes (coronário, cerebrovascular, doença arterial periférica e insuficiência cardíaca) em 10 anos. As variáveis independentes consideradas os preditores de risco incluídos foram: idade, CT, HDL-c, tabagismo, diabetes, pressão arterial sistólica (PAS) em tratamento ou não. Utilizou-se a presença ou não do fator agravante de Síndrome Metabólica (SM) para reclassificação de risco desses pacientes (MALACHIAS et al., 2016) e definida conforme os critérios da Federação Internacional de Diabetes (IDF)¹⁸. Para pacientes de baixo e médio risco segundo o ERF, a presença de SM, determinou a reclassificação em uma categoria de risco acima daquela estimada isoladamente pelo ERF (MALACHIAS et al., 2016). Os critérios diagnósticos de síndrome metabólica estão descritos no quadro 1.

Quadro 1 – Critérios diagnósticos de síndrome metabólica (definida com 3 ou mais critérios).

Critérios	Definição
1. Obesidade abdominal	
Homens	≥ 94 cm
Mulheres	≥ 80 cm
2. HDL-colesterol	
Homens	< 40 mg/dl
Mulheres	< 50 mg/dl
3. Triglicerídeos (ou tratamento para hipertrigliceridemia)	≥ 150 mg/dl
4. PA (ou tratamento para hipertensão arterial)	
PAS e/ou	≥ 130 mmHg
PAD	≥ 85 mmHg
5. Glicemia (ou tratamento para DM)	≥ 100 mg/dl

FONTE: MALACHIAS et al., 2016.

4.7 Coleta das amostras sanguíneas

Os pacientes foram submetidos a uma coleta de 10 ml de sangue, após jejum de 12 horas, para a dosagem dos exames PCR-us, lipidograma completo e Apo A e Apo B, antes da realização do exame de cineangiocoronariografia.

As dosagens de CT, HDL-c, TG e Apo A e Apo B foram realizadas no aparelho COBAS INTEGRA ROCHE, do Hospital Universitário Materno Infantil e a dosagem de PCR-us foi realizada em laboratório certificado pela ISO 9001:2000 sob o número SQ – 7131, pelo Programa Nacional de Controle de Qualidade (PNCQ) e pela Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC).

O CT foi dosado por método colorimétrico enzimático, onde os ésteres de colesterol são clivados através da ação do colesterol esterase que produz colesterol livre e ácidos graxos. A reação é catalizada pelo colesterol oxidase e peroxidase, formando um complexo vermelho. A intensidade da cor é diretamente proporcional à concentração do colesterol, determinada após leitura em absorbância de 512 nm (CHOLESTEROL, 2005).

Os TGs foram dosados por ensaio colorimétrico enzimático, onde uma lipoproteína lipase hidrolisa os triglicérides em glicerol que após oxidação e ação catalítica da peroxidase forma um corante de cor vermelha que é diretamente proporcional à concentração de triglicérides sendo determinada fotometricamente a 512 nm (TRYGLYCERIDES, 2008).

O HDL-c foi dosado por ensaio colorimétrico enzimático homogêneo direto, onde a concentração do colesterol é determinada enzimaticamente pelo colesterol esterase e colesterol oxidase, enquanto a intensidade da cor do corante formado é determinada medindo-se o aumento da absorbância a 583 nm (HDLCHOLESTEROLPLUS, 2006).

As Apo A e Apo B são dosadas por ensaio imunoturbidimétrico, um método de medida da redução da transmissão de luz em um meio causada pela formação de partículas, que formam um precipitado com um antissoro específico que é determinado turbidimetricamente a 340 nm (TINA, 2007).

No que diz respeito à concentração de LDL-c e VLDL-c, estas foram calculadas pela fórmula de Friedwald (SBC, 2007). Já a concentração da PCR foi realizada por nefelometria, método analítico de laboratório onde a luz passa por um meio com partículas dispersas de um índice refrativo diferente daquele cujo meio é atenuado na intensidade por difusão.

Os valores de referências do perfil lipídico estão descritos no quadro 2.

Quadro 2 – Valores referenciais e de alvo terapêutico* do perfil lipídico (adultos > 20 anos).

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/dL)	Categoria referencial
Colesterol total	< 190	< 190	Desejável
HDL-c	> 40	> 40	Desejável
Triglicérides	< 150	< 175‡	Desejável
Categoria de risco			
LDL-c	< 130	< 130	Baixo
	< 100	< 100	Intermediário
	< 70	< 70	Alto
	< 50	< 50	Muito alto
Não HDL-c	< 160	< 160	Baixo
	< 130	< 130	Intermediário
	< 100	< 100	Alto
	< 80	< 80	Muito alto

FONTE: MALACHIAS et al., 2016.

Os fatores agravantes do risco cardiovascular estão descritos no quadro 3.

Quadro 3 – Fatores agravantes do risco CV.

Fator agravante	Recomendações e evidências
1. História familiar de DAC prematura em parente de primeiro grau, homem < 55 anos ou mulher < 65 anos	GR: IIa; NE: A
2. Diagnóstico de SM conforme critérios IDF	GR: IIb; NE: A
3. Microalbuminúria (30-300 mg/g creatinina) ou albuminúria > 300 mg/g creatinina	GR: IIa; NE: B
4. HVE	GR: IIa; NE: B
5. Proteína C-reativa ultrasensível > 2mg/l	GR: IIa; NE: B
6. EMI de carótidas > 1,0 mm	GR: IIb NE: B
7. Escore de cálcio coronário > 100 ou > percentil 75 para idade e sexo	GR: IIa; NE: A
8. ITB < 0,9	GR: IIa; NE: A

FONTE: MALACHIAS et al., 2016.

4.8 Exame Cineangiocoronariografia

Todos os pacientes após jejum de 6 horas, foram submetidos às cineangiocoronariografias (AXIOM Artis, Siemens, Munich, Alemanha) sob anestesia local (90% por acesso femoral e 10%, radial) com contraste não iônico e classificados por dois cardiologistas intervencionistas experientes, certificados pela Sociedade Brasileira de Hemodinâmica e Cardiologia Intervencionista (SBHIC), cegos com relação aos dados clínicos e risco cardiovascular dos pacientes em que, avaliaram individualmente cada laudo e quantificaram as lesões categorizadas pelo número de vasos acometidos (1, 2, 3), por acometimento do Tronco da Coronária Esquerda (TCE) e por grau de oclusão de pelo menos um segmento de uma das artérias epicárdicas maiores em: sem lesão (menor que 10%),

discreta (menor que 50%), moderada (entre 50 e 70%), lesão grave ou severa (maior ou igual a 70%) conforme a Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia e da Sociedade Brasileira de Hemodinâmica e Cardiologia Intervencionista Sobre Intervenção Coronária Percutânea (2017). O Coeficiente de Kappa mostrou concordância de 75% (boa a ótima) entre os examinadores. Considerou-se DAC a presença de obstrução em artérias coronárias confirmada angiograficamente.

Os pacientes foram submetidos à coneangiocoronariografia utilizando-se a arteriotomia braquial (técnica de Sones) ou punção da artéria femoral percutânea (técnica de Judkins), conforme indicação do médico intervencionista. Os exames foram arquivados em CDs, para posterior reavaliação.

4.9 Análise Lipidômica

4.9.1 Extração lipídica

A extração dos lipídios foi realizada no laboratório Dalton de Espectrometria de Massas da Universidade Federal de São Paulo, com base no protocolo de Bligh e Dyer (BLIGH et al., 1959) modificado. A partir de 50 µL de amostra de sangue em um microtubo, foram adicionados 50 µL de água milli-Q. Posteriormente, foram adicionados 125 µL de clorofórmio e 250 µL de metanol. Após homogeneização, as fases polar e apolar foram separadas pela adição de mais 100µL de água destilada e 125µL de clorofórmio. As amostras foram submetidas à centrifugação a 500 x g por 5 minutos. A fase inferior contendo os lipídios foi recuperada e foram transferidos 200µL para um microtubo limpo, que foi deixado aberto no quarto temperatura durante 1 h até o solvente evaporado.

4.9.2 Perfil lipídico (Espectrometria de massas – MALDI-TOF)

As amostras foram ressuspensas em 10µL de clorofórmio e 2µL do volume foi aplicado na placa de MALDI e coberto com 1µL de 2,5-di-hidroxibenzóico (DHB 150mM) dissolvido em metanol. A aquisição dos espectros de massas foi realizada no equipamento MALDI SYNAPT Q-TOF (Waters, Manchester, UK) em modo positivo na faixa de 400-1000 *m/z*. cada espectro foi adquirido por 45 segundos com energia do laser de 250 a.u. Os

espectros de baixa qualidade (contagem total de íons menor do que 800) foram removidos da análise.

4.10 Análise estatística

As variáveis contínuas foram padronizadas por *z score* seguido pelo teste de Kolmogorov Smirnov para verificar a distribuição dos dados. O teste *T de Student* para amostras independentes foi então aplicado para as variáveis contínuas dos dados clínicos e para as variáveis categóricas foi aplicado o teste de Qui-quadrado (χ^2). Para todos os testes foi utilizado o programa estatístico SPSS 18.0 (SPSS Chicago, IL).

Os dados obtidos por MALDI-TOF foram pré-processados através do software MarkerLynx 4.1 (Waters, Manchester, UK) afim de se obter uma planilha com os dados *m/z* e as respectivas intensidades em cada amostra.

O processamento estatístico foi realizado no software MetaboAnalyst 3.0. Inicialmente os valores de intensidade foram padronizados por Pareto, seguido pela análise univariada de Teste T, adotando a significância de $p < 0.05$. Os íons que se mostraram significantes pelo teste T foram então submetidos às análises de componentes principais (PCA) e a análise discriminante pelos quadrados mínimos (PLS-DA). A importância da variável na projeção (VIP) foi utilizada para identificar os 10 íons que tiveram maior efeito discriminatório entre os grupos.

A identificação dos íons selecionados como potenciais biomarcadores foi realizada por meio do banco de dados online Lipid Maps ([HTTP://www.lipidmaps.org](http://www.lipidmaps.org)) de acordo com a subclasse lipídica e foram considerados apenas as subclasses com erro de massa ≤ 50 ppm (parte por milhão).

4.11 Aspectos Éticos

A todos os indivíduos selecionados foi apresentado o termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO A) e assinado, em caso de concordância.

O presente estudo faz parte de projeto ampliado intitulado “Utilidade clínica de diferentes medidas dos lipídios e de atividade inflamatória na detecção de doença arterial

coronariana em mulheres”, submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP/EPM, com Parecer de nº 6734 (ANEXO B).

O trabalho também foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (CEP-HUUFMA) conforme Parecer Consubstanciado nº 119/08 de 06 de abril de 2009 (ANEXO C).

5 RESULTADOS

CAPÍTULO I – GLYCEROPHOSPHOLIPID PROFILES IN THE BLOOD PLASMA OF PATIENTS WITH CARDIOVASCULAR DISEASE – RELATED ATHEROSCLEROSIS.

Periódico: PLOS ONE

Classificação Qualis-Periódico: B1

Área: Medicina I

Fator de Impacto: 1,54

CAPITULO I – Comprovante de Submissão –PLOS ONE

Submission Confirmation for PONE-D-19-05416 - [EMID:87093874ff20e304]

PLOS ONE <em@editorialmanager.com>

23 de fevereiro de 2019 15:22

Responder a: PLOS ONE <plosone@plos.org>

Para: LÍVIA MARIANE CASTELO BRANCO REIS COUTINHO DE OLIVEIRA <livyareis@gmail.com>

PONE-D-19-05416

Glycerophospholipid profiles in the blood plasma of patients with cardiovascular disease-related atherosclerosis
PLOS ONE

Dear Mrs COUTINHO DE OLIVEIRA,

Thank you for submitting your manuscript entitled 'Glycerophospholipid profiles in the blood plasma of patients with cardiovascular disease-related atherosclerosis' to PLOS ONE. Your assigned manuscript number is PONE-D-19-05416.

We will now begin processing your manuscript and may contact you if we require any further information. You will receive an update once your manuscript passes our in-house technical check; you can also check the status of your manuscript by logging into your account at <https://www.editorialmanager.com/pone/>.

If during submission you selected the option for your manuscript to be posted on the bioRxiv preprint server (<http://biorxiv.org>), we will be assessing the manuscript for suitability shortly. If suitable, your preprint will be made publicly available on bioRxiv and you will receive an email confirmation from them when it has posted. Please check your response to this question and email us as soon as possible at plosone@plos.org if it has been answered incorrectly. Further information about our partnership with bioRxiv to facilitate the rapid availability of life sciences research is available at <http://journals.plos.org/plosone/s/preprints>.

If you have any inquiries or other comments regarding this manuscript please contact plosone@plos.org.

Thank you for your support of PLOS ONE.

PLOS is conducting a short survey about protocols and reproducibility. Begin the survey by selecting an answer below:

Keep up with PLOS! Sign up to receive updates from the PLOS community, including researcher news, events, calls for papers, and more. (Don't worry—we protect your data. We never share or sell our list. We'll try not to send too many emails, but if we do, you can unsubscribe at anytime.)

Sign me up! <https://surveys.plos.org/s3/pONE-au-newsletter-registration?answer=signup>

No, thanks, it's not for me <https://surveys.plos.org/s3/pONE-au-newsletter-registration?answer=nothanks>

Kind regards,
PLOS ONE

In compliance with data protection regulations, please contact the publication office if you would like to have your personal information removed from the database.

CAPÍTULO I

Glycerophospholipid profiles in the blood plasma of patients with cardiovascular disease-related atherosclerosis.

Livia Mariane Castelo Branco Reis Coutinho de Oliveira¹ ¶, Daniela Antunes Montani² ¶, Edson Guimarães Lo Turco² &, Eduardo Jorge Pilau³ &, Fabio Cesar Gozzo³ &, Joana Katya Veras Rodrigues Sampaio Nunes⁴ &, Wanessa Castro Martins⁴ &, Thiago Azevedo Feitosa Ferro^{4&}, José Albuquerque de Figueiredo Neto⁵.

¹Postgraduate Program in Health Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís/MA, Brazil, Department of Medicine, Federal University of Maranhão, CEUMA University, São Luís/MA, Brazil.

² Department of Surgery, Division of Urology, Human Reproduction Section, São Paulo Federal University, Sao Paulo/SP, Brazil.

³ Institute of Chemistry, University of Campinas, Campinas/SP, Brazil.

⁴ CEUMA University, São Luís/MA, Brazil.

⁵Postgraduate Program in Health Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís/MA, Brazil, University Hospital, Federal University of Maranhão, São Luís/MA, Brazil, Postgraduate Program in Adult and Child Health, Federal University of Maranhão, São Luís/MA, Brazil, Department of Medicine I, Federal University of Maranhão, São Luís/MA, Brazil.

*Corresponding author:

E-mail: livyareis@gmail.com (LM)

ABSTRACT

Background.

The relationship between elevated blood lipid levels and Coronary Artery Disease is already established, however, the lipidic approach allows the evaluation of other lipidic species that are not evaluated by conventional strategies. Here, we attempted to identify the lipid biomarkers associated with Coronary Artery Disease, through lipidomics.

Methods and Results.

A cross-sectional study involving 292 consecutive patients submitted to coronary angiography. For the lipid analysis, the lipid extraction was performed using the Bligh and Dyer protocol and the mass spectrometry data with laser desorption / matrix assisted ionization were evaluated with multi and univariate statistics. Lipids identified as potential biomarkers of atherogenesis were identified by the online Lipid Maps database, followed by analysis of metabolic pathways using Cytoscape software. Patients were divided into two groups: significant coronary artery disease (n = 188) and no significant coronary artery disease (n = 104). When applying lipidomics and mass spectrometry nine lipid species were identified and quantified, with seven lipid species glycerophosphoethanolamine PE (O-46: 5; P-46: 4; P-49: 3); Glycerophosphocholine PC (O-46: 4, P-46: 3); Glycerophosphoinositol PI (O-43: 0); Glicerofosfoserina PA (O-43: 3) presented increased concentrations in the group of patients with significant coronary artery disease.

Conclusions.

The lipid analysis by lipidomic identified the presence of increased metabolites in the studied group, determining a possible association between coronary artery disease and elevation of these lipid species. Further studies are needed to confirm this data.

INTRODUCTION¹

The incidence of cardiovascular artery disease (CAD) has increased considerably worldwide; the condition has a high morbidity and mortality[1,2]. Atherosclerotic vascular disease (AVD) represents the pathological process underlying the development of CAD. AVD is characterized by progressive fat deposits and chronic inflammation of the vessel wall [3]. Some external factors such as high calorie intake, excessive consumption of fat and saccharides, smoking, and lack of physical activity influence the occurrence of CAD; however, genetic determinants, problems with lipid metabolism have long been associated with AVD [4].

The relationship between the levels of lipids such as cholesterol and triglycerides in the blood and CAD is well accepted; however, the role of these lipids in the metabolism of atherogenesis remains unknown [4]. Measuring these values does not fully capture the complexity of the altered lipid metabolism in CAD [5]; this may be why these tests fail to identify a substantial proportion of patients at high risk for coronary events [6]. Among lipid species, glycerophospholipids have been determined to be potential biomarkers of CAD [7,8]. To better comprehend AVD mechanisms and to discover the potential biomarkers associated with patients at a high risk of AVD, metabolomic analysis of blood was performed. We attempted to provide new insights to enable development of more personalized treatment and preventative strategies.

Lipidomics is the large-scale study of lipid content and their related pathways in the biologic system. Therefore, as an emerging field, lipidomics can provide a powerful approach to understand the pathogenesis of CAD [9]. Since lipidomics provides extremely detailed lipid profiles, it may further improve risk stratification of CAD patients and provide novel

mechanistic insights into CAD [10]. Modern metabolomics have been extensively used for biomarker discovery in human blood plasma, including the identification of lipids and small metabolites that may be associated with AVD [4,11].

One of these biomarker discovery tools includes matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS), which allows untargeted analysis with minimal sample fragmentation [12]. Moreover, the association between MALDI-TOF MS and multivariate statistics provides an opportunity to identify biomarkers associated with diseases and metabolic state [13,14]. Here, we present an initial analysis of plasma glycerophospholipid composition in patients diagnosed with atherosclerosis compared to the analysis of those without disease, aiming to identify lipid biomarkers and relationships associated with atherogenesis. Furthermore, the utilization of a systems biology approach introduces a potential altered mechanism not previously described.

In this study, we determined the serum lipid profile in 292 people suspected of coronary artery disease, submitted to cineangiocoronariography, using a lipidic approach involving mass spectrometry

MATERIALS AND METHODS.

Experimental Design.

This cross-sectional study is part of the project called “Clinical utility of different lipid measurements and inflammatory activity in the detection of coronary artery disease in women” carried out in the Hemodynamics Service of the University Hospital Unit Presidente Dutra (HUUFMA), Federal University of Maranhao (UFMA), in the municipality of São Luis, Maranhão state, in the northeast region of Brazil.

The study was approved by the Federal University of São Paulo - UNIFESP / São Paulo Hospital and the Federal University of Maranhão / Presidente Dutra Hospital –

HUUFMA, which was executed in the population of São Luís, in the state of Maranhão, with the inclusion of male patients. The research protocols were submitted and approved by the Research Ethics Committee under Opinion No. 6734 and 119/08, respectively, in accordance with the standards of research on human rights in Brazil. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study. All experiments were carried out according to the relevant guidelines and regulations.

Study population.

Patients older than 18 years of age with suspected coronary disease and undergoing coronary angiography from January to December 2017.

The sample was divided into two groups according to the obstruction in at least one segment of a major epicardial arteries, angiographically defined. The without coronary artery disease significative group (non-CAD; $n = 104$) included subjects with less than 50% occlusion, and another the with coronary artery disease significative group (CAD; $n = 188$) included patients with 50%-70% occlusion.

Inclusion and non-inclusion criteria.

Patients older than 18 years who had potential CAD and who took part in the first two stages of the research (interview and blood test) were included.

Pacients that presented the following conditions were not included: admitted through emergency services, those with a history of allergy to ionic contrasts, and those in whom catheterization was contraindicated.

Clinical data and laboratorial procedures.

Patient data were obtained before the coronary angiography, using a tabular structured protocol containing socio-demographic variables, life habits, and personal and family cardiovascular risk factors. Clinical variables were collected during physical examination,

including measuring the waist circumference, hip circumference, weight, and height. Body mass index (BMI) was calculated as weight in kilograms divided by the square of the height in meters (kg/m^2). Blood pressure was defined as the average of the last two out of three measurements with a mercury sphygmomanometer, taken at intervals ≥ 2 minutes after subjects stayed seated for at least five minutes.

Blood samples were collected before coronary angiography and after fasting for 12 hours these patients, 20mL of total blood was taken; 12 mL of the blood was added to vacuum tubes with a gel and clot activator, and 8 mL was added to tubes with fluoride and sodium oxalate.

All samples were centrifuged for 10 minutes at 3000 rpm, and the supernatant was extracted. Three tubes with human serum were immediately sent for laboratory analysis, and 3 other tubes with 1.0 mL of serum were frozen at -80°C until analysis.

Biochemical analyses.

The following biochemical tests blood count, fasting glucose, total cholesterol / HDL cholesterol (TC / HDL - C), high-density lipoprotein (HDL), triglycerides (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), LDL / HDL ratio, high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and apolipoprotein A (ApoA). were conducted as recommended by the manufacturer using a COBAS 6000 automated analyzer (Roche Diagnostics®, Mannheim–Germany). The concentrations of low-density (LDL) and very low-density lipoproteins (VLDL) were calculated using the Friedwald formula ($\text{VLDL} = \text{TG} \div 5$ and $\text{LDL} = \text{CT} - \text{HDL} - \text{VLDL}$) for triglyceride values of up to 400mg/dL [15].

Lipidomic analysis by mass spectrometry.

Fifty microliters of plasma were used for the lipid analysis. Lipids were extracted using the method reported by Bligh and Dyer (1959) with some modifications, as reported by

(Cataldi *et al.* 2013). After solvent evaporation, 10 μ L of chloroform was added to each sample to dissolve the lipids contained in the microtube. For MALDI-TOF MS analysis, 2 μ L of each sample was deposited on the MALDI target plate and covered with 1 μ L of 2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB 0.5 M) dissolved in methanol 90%. Mass spectra were acquired in the positive ion mode using a Q-ToF Premier mass spectrometer (Waters Co., Manchester, UK) equipped with a 200 Hz solid state laser in the m/z 700-1200 range in the reflectron mode. The operating conditions used were 250 a.u. (laser energy), 20 V (sample plate), and laser irradiation consisted of diverse shots over a 45-s period.

Data processing and statistical analysis.

The mass spectra of each sample were accumulated using MassLynx 4.1 software (Waters Co., Manchester, UK). Mass and intensity data were exported to MetaboAnalyst 3.0 software (<http://www.metaboanalyst.ca>). Before multivariate analysis, the ions presenting intensity 0,0 in more than 50% of samples from both groups were removed to avoid the possible noise signals from the matrix and equipment.

First, Pearson correlation analysis was performed to the dataset, after Log transformation and autoscaling standardization, and ions presenting increased correlation coefficient were used to obtain ions ratios, which were used for further analysis.

Using 100 samples, fifty each from the CAD and non-CAD groups, Partial Least Square - Discriminant Analysis (PLS-DA) was applied to the ions ratios combined with clinical parameters to evaluate the discriminatory components based upon the combination of Variable Influence on Projection (VIP) values.

A receiver operating characteristic (ROC) curve was created using the 15 variables that showed higher VIP scores to evaluate the model's potential to predict the study group. The model was validated using the remains 192 samples.

Lipid attribution was performed using Lipid Maps database (<http://www.lipidmaps.org/>), considering their main subclass, with a maximum mass error of 50 ppm. For the attribution, only molecules containing hydrogen (M+H⁺), sodium (M+Na⁺) and potassium (M+K⁺) were considered as adducts.

Functional enrichment analysis was performed using the Cytoscape Software 3.4.0. Compound-Gene interaction searches were performed using the MetScape plugin, which in turn uses an internal relational database stored at the National Center for Integrative Biomedical Informatics (NCIBI) that integrates data from KEGG and Edinburgh human metabolic network (EHMN) to generate clusters of interacting metabolites.

Patient characteristics, clinical, and laboratory results were analyzed using the PASW 22.0 software (IBM Corp., Armonk, NY, USA). All variables were normalized using the Z-score and analyzed using Student's *t*-test for independent samples, while categorical data were compared using the chi-square analysis. An alpha of 5% was adopted.

RESULTS.

Clinical and laboratory characteristics.

The demographic, clinical, and biochemical characteristics of the groups are summarized in Table 1. There were no significant differences in smoking and alcoholism habits, BMI, abdominal and hip circumferences, peripheral diastolic or central diastolic blood pressure, total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL), very low-density lipoprotein cholesterol (VLDL), glucose, glycemia and high-sensitivity C-reactive protein. Differences were found in age, sex, high-density lipoprotein cholesterol (HDL), TC/HDL, LDL/HDL, triglycerides and apolipoprotein A.

Table 1. Demographic and clinical characteristics of the Patients With and Without coronary artery disease. São Luís, Maranhão, 2017.

Variable	CAD (n=188)	Non - CAD (n=104)	<i>p</i> value
Demographic			
Age (years)	63.9 ± 9.9	58.9 ± 11.8	<0.01
Sex			
Male	66.5%	43.3%	<0.01
Female	33.5%	56.7%	
Smoker			
No	79.3%	86.5%	0.12
Yes	20.7%	13.5%	
Alcoholism			
No	69.7%	73.1%	0.54
Yes	30.3%	26.9%	
BMI	26.6 ± 4.1	27.2 ± 5.0	0.28
Abdominal circumference (cm)	87.3 ± 23.6	86.5 ± 28.0	0.08
Haunch circumference (cm)	87.8 ± 25.0	88.0 ± 29.5	0.08
Systolic blood pressure (mm/Hg)	142.9 ± 25.0	139.2 ± 32.3	0.28
Diastolic blood pressure (mm/Hg)	82.9 ± 13.1	83.5 ± 17.6	0.72
Laboratorial			
TC (mg/dL)	178.8 ± 53.4	177.4 ± 45.0	0.81

HDL (mg/dL)	34.7 ± 9.6	38.5 ± 11.7	0.01
TC/HDL	5.4 ± 1.7	4.9 ± 1.4	0.01
LDL (mg/dL)	113.0 ± 47.5	111.7 ± 35.8	0.79
LDL/HDL	3.4 ± 1.4	3.1 ± 1.1	0.04
VLDL (mg/dL)	30.8 ± 21.6	27.2 ± 28.2	0.26
Triglycerides (mg/dL)	153.4 ± 105.5	128.0 ± 68.7	0.01
APO A	1.2 ± 0.3	1.3 ± 0.3	0.01
Glycemia	121.8 ± 61.9	120.5 ± 54.4	0.85
hs-CRP	1.2 ± 3.5	0.9 ± 1.8	0.34

BMI, Body mass index; TC, Total Cholesterol; HDL, High density lipoprotein cholesterol; LDL, Low-density lipoprotein cholesterol; VLDL, Very low-density lipoprotein cholesterol; APO A, apolipoprotein A; hsCRP, high-sensitivity C-reactive protein.

Lipids analysis.

A total of 92 ions were used for statistical analysis. Lipid class was tentatively attributed for the ten top-ranked Pearson correlations. Details about ions, lipid class attributed, and the group in which mass is hyper represented are shown in Table 2.

Of the nine lipid species identified (Table 2), seven participated directly in the intracellular metabolism of glycerophospholipids from the following lipid classes: Glycerophosphoethanolamine(3), Glycerophosphocholine (2), Glycerophosphoinositol (1), and Glycerophosphoserine (1). Therefore, our data suggest that the metabolic pathway activity of glycerophospholipid was much higher in the study group.

Table 2. Plasma concentrations of lipids detected in of the Patients With and Without coronary artery disease. São Luís, Maranhão, 2017.

Lipid class	Ion (m/z)	Error (ppm)	Adduct	Molecule	Group
Glycerophosphoethanolamine	864.6952	12.84	[M+H] +	PE (O-46:5) PE (P-46:4)	CAD
Glycerophosphocholine				PC (O-46:4)	
Glycerophosphoethanolamine	946.6981	11.62	[M+K] ⁺	PC (P-46:3) PE (P-49:3)	CAD
	782.6522	-----	-----	-----	
Glycerophosphoinositol	973.7082	0.31	[M+Na] +	PI (O-43:0)	CAD
Glycerophosphoserine	783.6526	33.69	[M+H] +	PA (O-43:3)	CAD
Glycerophosphoserine	590.3043	3.56	[M+Na] +	PS (20:0)	Non- CAD
	605.1346	-----	-----	-----	Non- CAD
	604.0771	-----	-----	-----	Non- CAD
	600.1956	-----	-----	-----	Non- CAD
Lysophosphatidic acid	489.2536	42.10	[M+K]	LPA (P-	Non-

	+	20:0)	CAD
--	---	-------	-----

PE, Glycerophosphoethanolamine; PC, Glycerophosphocholine; PI, Glycerophosphoinositol; PA, c; PS, Glycerophosphoserine; LPA, Lysophosphatidic acid.

Intensity ratios were calculated, followed by PLS-DA, which was able to distinguish the CAD from the non-CAD group (Figure 1a). It is important to emphasize that samples from the non-CAD group were better individualized than those from the CAD group, which were scattered.

Fifteen variables (14 hyper-represented in the CAD group and one hyper-represented in the non-CAD group) were selected considering their importance for the model prediction. These variables were used to build the ROC curve using just 50 samples from both groups (a total of 100 samples). The ROC curve (Figure 1b) presented an area under the curve (AUC) of 90.9% (CI 95%: 79.6 – 99.1, $p < 0.01$) with a sensitivity and specificity of 0.8 and 0.96, respectively. The remaining 192 samples (54 from the non-CAD group and 138 from the CAD group) were used to validate the model, in which 100% and 88.6% of samples from the non-CAD and CAD group, respectively, were correctly classified (Supplementary Table 1).

Functional enrichment analysis revealed that glycerophospholipid metabolism was common for both groups. The metabolisms of phosphatidylinositol phosphate, linoleate, and arachidonic acid were also detected in the CAD group (Figure 2).

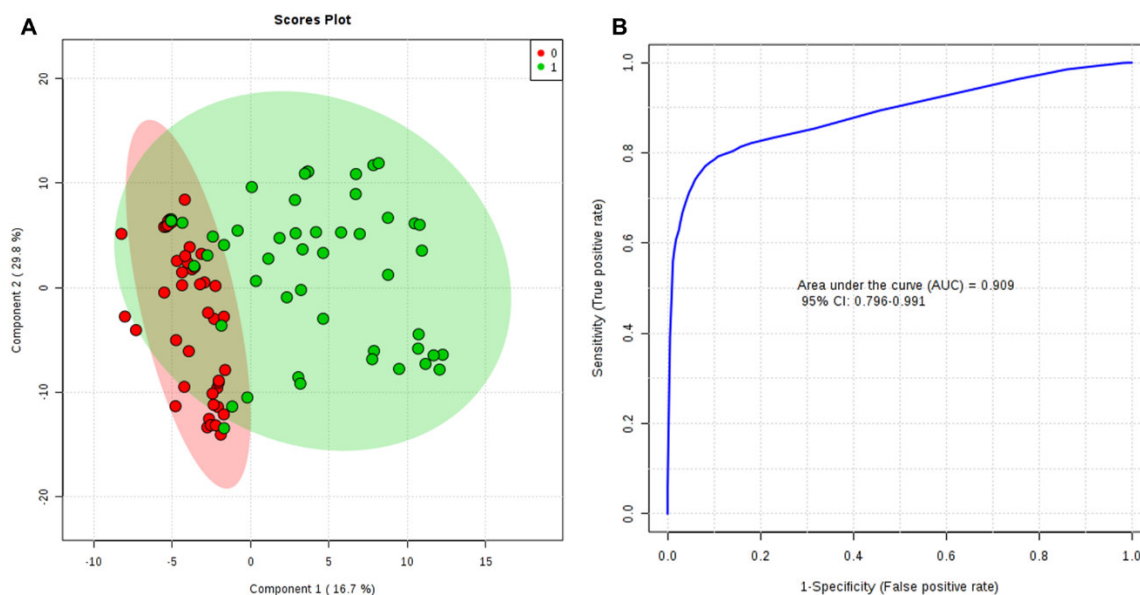


Figure 1. (A) PLS-DA score plots show the group separation according to components 1 and 2, indicating intrinsic lipidomic differences between the groups, which could be observed using the MALDI-TOF MS. (B) ROC curve built using VIP from PLS-DA. MALDI-TOF MS, matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry; PLS-DA, Partial Least Square - Discriminant Analysis; VIP, Variable Influence on Projection.

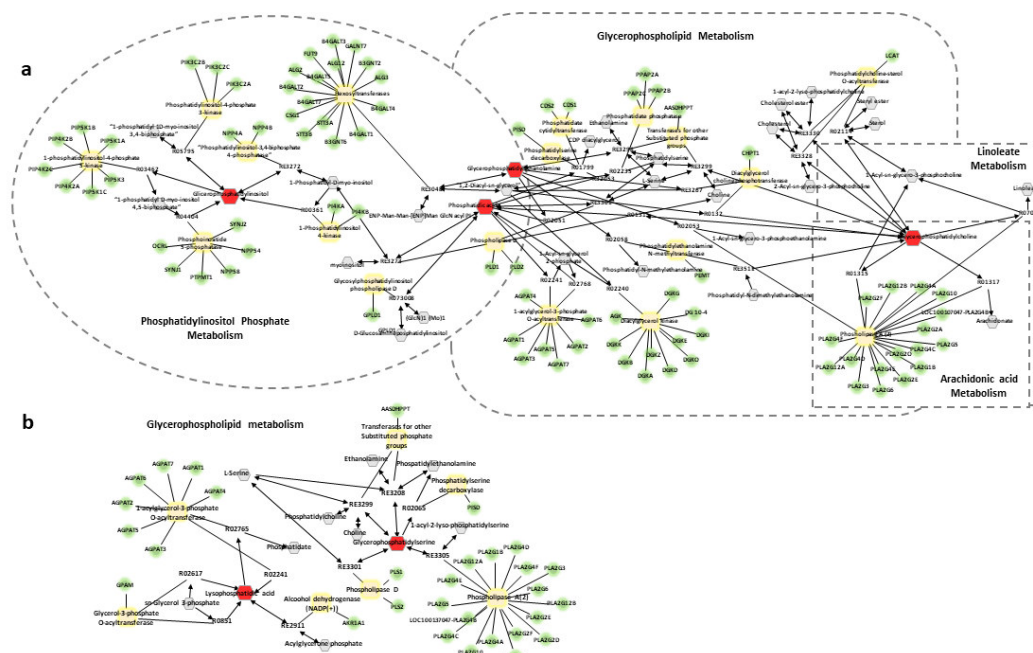


Figure 2. Network interaction analysis **(a)** considering the lipids attributions of the CAD group and **(b)** non-CAD group. The Metscape plugin indicated three enhanced pathways: phosphatidylinositol phosphate, linoleate, and arachidonic acid metabolism. The lipids in greater abundance are represented by hexagons. Different relationships were observed with enzymes (squares), genes (circles), and associated reactions (diamonds).

DISCUSSION.

The present study shows plasma lipid mass spectra obtained from patients without CAD and subjects in whom the final stages in the development of atherosclerosis were detected. Studies targeting disease biomarker discovery usually report comparisons between affected patients and normal controls [8]. In contrast, our study involved individuals with no lesions <10%, mild and moderate lesions 50% - 70% and severe lesions $\geq 70\%$. Thus, even though our glycerophospholipid results were not able to clearly differentiate the groups, they are close to the averages of the general population. In a large sample size, we were able to

demonstrate that glycerophospholipids ratios are significantly related to several clinical parameters, because the variables present in the VIP plot to explain a given condition were related.

Lipidic analysis indicated the differential abundance of various glycerophospholipid ratios. Although the predictive model was based on single-center results, it allowed us to construct a biomarkers classification model with greater sensitivity and diagnostic specificity compared to any single marker. Lesions in the anterior descending artery, right coronary, circumflex and left coronary trunk are present in our model. However, it is worth remembering that individuals with all injury levels were included. In addition, although we have selected potential biomarkers, we accept that patients with subclinical atherosclerosis may be a source of bias.

We attributed glycerophospholipids to six of the 10 selected ions in our panel. All ratios were expressed more in the CAD group and were related to vessel lesion and abdominal circumference. In the report by Parker et al., we found that the hip circumference was associated with reduced risk factors for CAD [16]. We found higher intensity of PC, PE, PI, and PA in the CAD group, and PS and LPA overrepresented in the non-CAD group. Unfortunately, we could not assign any GPL class to ion 605.1346 even though it has been widely cited by previous studies [17–19]; the multiple databases are limited due to the different instruments used to generate the spectrum.

Considering lipid attribution, ratios of PE/PS, PC/PS, PI/PS, PE/LPA, PC/LPA, and PI/LPA were hyper-represented in the CAD group. The *in silico* functional analysis was performed to better understand common pathways that are perturbed in disease with data obtained from untargeted metabolomics. Our findings determined the biological role of the GPL panel and highlighted glycerophospholipid, phosphatidylinositol phosphate, linoleate,

and arachidonic acid metabolisms as enriched pathways in the CAD group. The non-CAD group showed only glycerophospholipid metabolism.

Phosphatidylinositol phosphate or phosphoinositide metabolism have long been associated with endothelial cell adhesion in atherosclerosis. However, there are several factors that stimulate endothelial dysfunction, such as hyperglycemia [20] and hypertension [21], while cholesterol [22] has been suggested as one of the factors responsible for phosphoinositide stabilization. Hence, we did not observe any differences between the groups in the TC variable, we just found a statistically significant difference in HDL measurements and correlations. Nevertheless, there are controversies about the role of phosphatidylinositol phosphate, as well as about the function of linoleate and arachidonic acid metabolisms in cardiovascular diseases. Linoleate acid (LA) and arachidonic acid (AA) metabolisms are closely related, and can exert both a protective role and inflammatory function [23–25]. In common with phosphoinositide and glycerophospholipids metabolism, they may be related to the cholesterol availability [25].

In observational studies wherein the dietary intake or plasma content of LA was either prospectively or cross-sectionally related to risk for CAD, greater LA consumption or higher plasma levels have generally been associated with reduced risk [26]. Another recent studies showed that LA levels of the erythrocyte membrane and AA/LA ratio are correlated with the severity of CAD [27] and that both the AA/LA and the alpha linolenic acid/eicosapentaenoic acid (EPA/ALA) ratios were associated with CAD in patients with angiographically documented CAD [28]. It was reported that serum phospholipid fatty acid compositions, AA and docosahexaenoic acid among long-chain polyunsaturated fatty acids, were found to be the main contributors to the increased (by AA) or decreased (by

docosahexaenoic acid) risk of CAD together with age, metabolic syndrome factors, LA, dihomo- γ -linolenic acids, and sex [29].

It is important to note that even though all patients were in the fasting state, the metabolome is a dynamic system affected by environmental influences, such as diet, and may change rapidly in a short period of time [30]. A recent systematic review of the models predicting outcomes in patients with stable CAD suggested that risk stratification should be improved to predict recurrent coronary events and to optimize secondary prevention strategies [31]. In our predictive model, we obtained an AUC of 90% and in the validation test, all subjects without atherosclerosis were correctly classified.

The present study was limited by its cross-sectional design, convenience sample methodology, which cannot be used to infer causality, and because a specific patient profile was assessed.

CONCLUSIONS.

Our study suggested that using lipidomics as an additional approach can improve the prediction of cardiovascular diseases with the possibility to be used for stratification. This may improve the identification of high-risk patients in need of more aggressive therapeutic intervention. However, further studies are needed to develop more personalized medicine for disease prevention and management, taking into consideration different social environments and lifestyles.

ACKNOWLEDGEMENTS.**Author Contributions.**

Design and research design: Neto, JAF; Data collection; Data analysis and interpretation: Oliveira, LMCBRC, Neto, JAF, Ferro, TAF; Statistical analysis: Ferro, TAF; Writing the manuscript: Oliveira, LMCBRC; Critical review of the manuscript regarding the important intellectual content: Neto, JAF, Nunes, JKVRS, Montani, DA, Turco, EGL, Pilau EJ, Gozzo, FC.

Conflict of interest.

The authors declare there was no relevant conflict of interest.

Funding sources:

This study was partially funded by Coordination for the Improvement of Higher-Level Personnel (CAPES) Academic linkage. This article is part of a PhD thesis by Livia Mariane Castelo Branco Reis Coutinho de Oliveira through the post-graduate Program in Health Sciences / UFMA, São Luís, Maranhão, Brazil.

REFERENCES.

- [1] Darabi M, Kontush A. Phosphatidylserine in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol.* 2016; 27: 414–420. doi:10.1097/MOL.0000000000000298.
- [2] GBD 2015 Risk Factors Collaborators, Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet.* 2016; 388: 1659–1724. doi:10.1016/S0140-6736(16)31679-8.
- [3] Badimón L, Vilahur G, Padró T. Lipoproteins, platelets and atherothrombosis. *Rev Esp Cardiol.* 2009; 62: 1161–1178.
- [4] Paapstel K, Kals J, Eha J, Tootsi K, Ottas A, Piir A, et al. Inverse relations of serum phosphatidylcholines and lysophosphatidylcholines with vascular damage and heart rate in patients with atherosclerosis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2018; 28: 44–52. doi:10.1016/j.numecd.2017.07.011.
- [5] Alshehry ZH, Mundra PA, Barlow CK, Mellett NA, Wong G, McConville MJ, et al. Plasma Lipidomic Profiles Improve on Traditional Risk Factors for the Prediction of Cardiovascular Events in Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation.* 2016; 134: 1637–1650. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023233.
- [6] Tarasov K, Ekroos K, Suoniemi M, Kauhanen D, Sylvänne T, Hurme R, et al. Molecular lipids identify cardiovascular risk and are efficiently lowered by simvastatin and PCSK9 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99: E45-52. doi:10.1210/jc.2013-2559.
- [7] Meikle PJ, Wong G, Tsorotes D, Barlow CK, Weir JM, Christopher MJ, et al. Plasma lipidomic analysis of stable and unstable coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011; 31: 2723–2732. doi:10.1161/ATVBAHA.111.234096.

- [8] Stegemann C, Pechlaner R, Willeit P, Langley SR, Mangino M, Mayr U, et al. Lipidomics profiling and risk of cardiovascular disease in the prospective population-based Bruneck study. *Circulation*. 2014; 129: 1821–1831. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002500.
- [9] Quehenberger O, Armando AM, Brown AH, Milne SB, Myers DS, Merrill AH, et al. Lipidomics reveals a remarkable diversity of lipids in human plasma. *J Lipid Res*. 2010; 51: 3299–3305. doi:10.1194/jlr.M009449.
- [10] Ekroos K, Jänis M, Tarasov K, Hurme R, Laaksonen R. Lipidomics: a tool for studies of atherosclerosis *Curr Atheroscler Rep*. 2010; 12: 273–281. doi:10.1007/s11883-010-0110-y.
- [11] Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999; 340: 115–126. doi:10.1056/NEJM199901143400207.
- [12] Schiller J, Arnhold J, Benard S, Müller M, Reichl S, Arnold K. Lipid analysis by matrix-assisted laser desorption and ionization mass spectrometry: A methodological approach. *Anal Biochem*. 1999; 267: 46–56. doi:10.1006/abio.1998.3001.
- [13] Montani DA, Cordeiro FB, Regiani T, Victorino AB, Pilau EJ, Gozzo FC, et al. The follicular microenvironment as a predictor of pregnancy: MALDI-TOF MS lipid profile in cumulus cells. *J Assist Reprod Genet*. 2012; 29: 1289–1297. doi: 10.1007/s10815-012-9859-y.
- [14] Camargo M, Intasqui P, de Lima CB, Montani DA, Nichi M, Pilau EJ, et al. Maldi-tof fingerprinting of seminal plasma lipids in the study of human male infertility. *Lipids*. 2014; 49: 943–956. doi: 10.1007/s11745-014-3922-7.

- [15] Cordova CMM de Schneider CR, Juttel ID, Cordova MM de. Evaluation of the direct LDL cholesterol dosage in blood samples of 10,664 patients compared to the Friedewald formula. *Arq Bras Cardiol.* 2004; 83: 476–81.
- [16] Parker ED, Pereira MA, Stevens J, Folsom AR. Association of hip circumference with incident diabetes and coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Am J Epidemiol.* 2009; 169: 837–847. doi:10.1093/aje/kwn395.
- [16] Jacob M, Lopata AL, Dasouki M, Abdel Rahman AM. Metabolomics toward personalized medicine. *Mass Spectrom Rev.* 2017. doi:10.1002/mas.21548.
- [18] Gertsman I, Barshop BA. Promises and pitfalls of untargeted metabolomics. *J Inherit Metab Dis.* 2018; 41: 355–366. doi:10.1007/s10545-017-0130-7.
- [19] Pujos-Guillot E, Brandolini M, Pétéra M, Grissa D, Joly C, Lyan B, et al. Systems Metabolomics for Prediction of Metabolic Syndrome. *J Proteome Res.* 2017; 16: 2262–2272. doi:10.1021/acs.jproteome.7b00116.
- [20] Manna P, Jain SK. Effect of PIP3 on adhesion molecules and adhesion of THP-1 monocytes to HUVEC treated with high glucose. *Cell Physiol Biochem.* 2014; 33: 1197–1204. doi:10.1159/000358688.
- [21] Perrotta M, Lembo G, Carnevale D. The Multifaceted Roles of PI3K γ in Hypertension, Vascular Biology, and Inflammation. *Int J Mol Sci.* 2016; 17. doi:10.3390/ijms17111858.
- [22] Jiang Z, Redfern RE, Isler Y, Ross AH, Gericke A. Cholesterol stabilizes fluid phosphoinositide domains. *Chem Phys Lipids.* 2014; 182: 52–61. doi:10.1016/j.chemphyslip.2014.02.003.

- [23] Anton SD, Heekin K, Simkins C, Acosta A Differential effects of adulterated versus unadulterated forms of linoleic acid on cardiovascular health. *J Integr Med.* 2013; 11: 2–10. doi:10.3736/jintegrmed2013002.
- [24] Tang KS. Protective effect of arachidonic acid and linoleic acid on 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced toxicity in PC12 cells. *Lipids Health Dis.* 2014; 13. doi:10.1186/1476-511X-13-197.
- [25] Demetz E, Schroll A, Auer K, Heim C, Patsch JR, Eller P, et al. The Arachidonic Acid Metabolome Serves as a Conserved Regulator of Cholesterol Metabolism. *Cell Metab.* 2014; 20: 787–798. doi:10.1016/j.cmet.2014.09.004.
- [26] Harris WS. Linoleic acid and coronary heart disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2008; 79: 169–171.
- [27] Namazi G, Asa P, Movahedian A, Sarrafzadegan N, Sadeghi M, Pourfarzam M. Investigation of membrane fatty acid profiles in erythrocytes of patients with stable coronary artery disease. *J Clin Lipidol.* 2016; 10: 930–936.
- [28] Martinelli N, Girelli D, Malerba G, Guarini P, Illig T, Trabetti E, et al. FADS genotypes and desaturase activity estimated by the ratio of arachidonic acid to linoleic acid are associated with inflammation and coronary artery disease. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88: 941–949.
- [29] Song J, Kwon N, Lee MH, Ko YG, Lee JH, Kim OY. Association of serum phospholipid PUFAs with cardiometabolic risk: Beneficial effect of DHA on the suppression of vascular proliferation/inflammation *Clin Biochem.* 2014; 47: 361–368.
- [30] Schuhmacher R, Krska R, Weckwerth W, Goodacre R. Metabolomics and metabolite profiling. *Anal Bioanal Chem.* 2013; 405: 5003–5004. doi:10.1007/s00216-013-6939-5.

- [31] Battes L, Akkerhuis KM, Van Boven N, Boersma E, Kardys I. Cardiovascular risk prediction models in patients with stable coronary artery disease. *Exp Clin Cardiol.* 2014; 20: 117–130.

NORMAS PARA SUBMISSÃO NO PERIÓDICO: PLOS ONE

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our Support Center.

Ethics in Publishing Reporting standards

Authors of reports of original research should present an accurate account of the work performed as well as an objective discussion of its significance. Underlying data should be represented accurately in the paper. A paper should contain sufficient detail and references to permit others to replicate the work. Fraudulent or knowingly inaccurate statements constitute unethical behavior and are unacceptable.

Authorship of the Paper

Authorship should be limited to those who have made a significant contribution to the conception, design, execution, or interpretation of the reported study. All those who have made significant contributions should be listed as co-authors. Where there are others who have participated in certain substantive aspects of the research project, they should be acknowledged or listed as contributors.

The corresponding author should ensure that all appropriate co-authors and no inappropriate co-authors are included on the paper, and that all co-authors have seen and approved the final version of the paper and have agreed to its submission for publication.

Disclosure and Conflicts of Interest

All authors should disclose in their manuscript any financial or other substantive conflict of interest that might be construed to influence the results or interpretation of their manuscript. All sources of financial support for the project should be disclosed.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research: This journal has an embargo period of 12 months.

Language (usage and editing services)

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the English Language Editing service available from Elsevier's WebShop.

NEW SUBMISSIONS

Formatting requirements

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections.

Figures and tables embedded in text

Please ensure the figures and the tables included in the single file are placed next to the relevant text in the manuscript, rather than at the bottom or the top of the file. The corresponding caption should be placed directly below the figure or table.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2 ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Essential title page information

- Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- Author names and affiliations. Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- Corresponding author. Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.
- Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

Color artwork

The Publisher will not charge authors for color figures where its use is integral to the useful illustration of the data.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

**CAPÍTULO II – FATORES ASSOCIADOS À GRAVIDADE DA DOENÇA ARTERIAL
CORONARIANA AVALIADO POR CINEANGIOCORONARIOGRAFIA**

Periódico: Cadernos de Saúde Pública (CSP)

Classificação Qualis-Periódico: B2

Área: Medicina I

Fator de Impacto: 0,9668

CAPÍTULO II – Comprovante de Submissão –Cadernos de Saúde Pública (CSP).

Fwd: Novo artigo (CSP_0464/19)

De: Cadernos de Saude Publica <cadernos@fiocruz.br>

Para: livyareis@gmail.com

Data: quinta-feira, 14 de março de 2019 09:30 BRT

Prezado(a) Dr(a). LÍVIA MARIANE CASTELO BRANCO REIS COUTINHO DE OLIVEIRA:

Confirmamos a submissão do seu artigo "Fatores associados à gravidade da doença arterial coronariana avaliada por cineangiocoronariografia" (CSP_0464/19) para Cadernos de Saúde Pública. Agora será possível acompanhar o progresso de seu manuscrito dentro do processo editorial, bastando clicar no *link* "Sistema de Avaliação e Gerenciamento de Artigos", localizado em nossa página <http://www.ensp.fiocruz.br/csp>.

Em caso de dúvidas, envie suas questões através do nosso sistema, utilizando sempre o ID do manuscrito informado acima. Agradecemos por considerar nossa revista para a submissão de seu trabalho.

Atenciosamente,

Prof^a. Marília Sá Carvalho
Prof^a. Claudia Medina Coeli
Prof^a. Luciana Dias de Lima
Editoras



Cadernos de Saúde Pública / Reports in Public Health

Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Fundação Oswaldo Cruz

Rua Leopoldo Bulhões 1480

Rio de Janeiro, RJ 21041-210, Brasil

Tel.: +55 (21) 2598-2511, 2508 / Fax: +55 (21) 2598-2737

cadernos@ensp.fiocruz.br

<http://www.ensp.fiocruz.br/csp>

CAPÍTULO II

FATORES ASSOCIADOS À GRAVIDADE DA DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA AVALIADA POR CINEANGIOCORONARIOGRAFIA.

FACTORS ASSOCIATED WITH CORONARY ARTERY DISEASE SEVERITY
ASSESSED BYCINEANGIOCORONAROGRAPHY.

FATORES ASSOCIADOS À GRAVIDADE DA DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA.

FACTORS ASSOCIATED WITH CORONARY ARTERY DISEASE SEVERITY.

Lívia Mariane Castelo Branco Reis Coutinho de Oliveira¹, Thiago Azevedo Feitosa Ferro²,
Joana Katya Veras Rodrigues Sampaio Nunes³, José Albuquerque de Figueiredo Neto¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Departamento de Medicina,
Universidade Federal do Maranhão, São Luis, Brasil

² Universidade CEUMA, São Luis, Brasil

³ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São
Luis, Brasil

⁴ Departamento de Medicina, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, Brasil

Autor correspondente: Lívia Mariane Castelo Branco Reis (e-mail: livyareis@gmail.com;
Contato: +55 98 981163183).

RESUMO.

Fundamento: A doença arterial coronariana (DAC) constitui uma classe de doenças cardiovasculares (DCV) com altos índices de morbimortalidade no Brasil. Os fatores de risco (FR) aumentam a predisposição de desenvolvimento de DAC principalmente nas populações vulneráveis. **Objetivo:** Associar os fatores de risco cardiovascular à gravidade da DAC em pacientes submetidos à cineangiocoronariografia e a reestratificação deste risco na presença de síndrome metabólica (SM). **Métodos:** Estudo transversal com 270 pacientes submetidos à cineangiocoronariografia. A avaliação clínica incluiu entrevistas sobre FR para DAC, exames físicos e dosagens bioquímicas. O risco cardiovascular pelo Escore de Framingham (EFR) revisado. **Resultados:** A prevalência de DAC foi de 65,2% na amostra. Na análise

multivariada, idade ≥ 60 anos (OR: 2,77; IC: 1,59 – 4,83; $p < 0,0003$), sexo masculino (OR: 2,63; IC: 1,49 – 4,54; $p < 0,0007$), HAS (OR: 1,99; IC: 1,09 – 3,57; $p < 0,02$), alta RCQ (OR: 2,44; IC: 1,45 – 4,13; $p < 0,0008$) e triglicérides alterados (OR: 1,87; IC: 1,13 – 3,11; $p < 0,02$) associaram-se ao risco de DAC. A maior gravidade de DAC correlacionou-se ao sexo masculino (OR 2,26; IC95%: 1,05 – 4,76; $p < 0,003$). ER classificou os pacientes, isoladamente, como risco baixo (10,7%), intermediário (39,3%) e alto (50%). A SM em 56,8% dos pacientes com DAC e 61,7% saudáveis, reclassificou 45,7%; 49,4% risco baixo para intermediário; 3%; 40,3% intermediário para alto, respectivamente. **Conclusão:** A presença de SM foi um fator agravante ao proporcionar a reclassificação de risco cardiovascular da população estudada.

Palavras chave: Risco cardiovascular. Doença Arterial Coronariana. Cineangiocoronarografia.

Introdução.

As modificações dos padrões econômicos e culturais causadas pela urbanização, repercute nos hábitos de vida e no aumento das patologias cardiovasculares (DCV).¹ No Brasil, dada a alta prevalência de doença arterial coronariana (DAC) e mortalidade associada, a prevenção dos desfechos fatais continua sendo um desafio clínico.^{2,3}

A DAC é um processo multifatorial causado pela interação dos fatores de riscos ambientais e genéticos que lesionam o endotélio vascular ao longo do tempo, incluindo a hipercolesterolemia, a diabetes *mellitus* (DM), a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), a resistência à insulina e a obesidade visceral, entretanto, contribuem com apenas 50% do risco total para desenvolvimento de DAC. Encontram-se, entre esses fatores, os parâmetros diagnósticos da Síndrome Metabólica (SM) que atinge 25% dos adultos no mundo.⁴⁻⁷

O risco cardiovascular pode variar consideravelmente em nível individual, tornando assim necessária a ferramenta de estratificação de risco^{7,8}, como o escore de Framingham⁹, para identificar indivíduos sem doença aterosclerótica evidente clinicamente ou subclínica que necessitem de terapia intensiva, bem como os prognósticos favoráveis.¹⁰⁻¹⁴

A maioria dos eventos cardiovasculares ocorre nos grupos de baixo e médio risco⁷. Estudos recentes revelaram que 37,6% dos indivíduos tem diagnóstico de DAC com lesões multiarteriais confirmado angiograficamente nos Estados Unidos¹⁵ e no Brasil, 20% dos indivíduos atendidos com Síndrome Coronariana Aguda, não têm lesões obstrutivas significativas.¹⁶

Para atender a esse contingente, adotou-se os fatores agravantes como a SM, o histórico familiar de DAC, a Proteína C-reativa ultrasensível (PCR), a Microalbuminúria, a

Hipertrofia ventricular esquerda (HVE) e os indicadores subclínicos de aterosclerose, permitindo assim reestratificação numa categoria de risco superior.⁷

Sabe-se que a SM tem reconhecido valor preditivo de risco independente de DCV e DM em comparação ao ERF⁷, no entanto, a ERF é superior na predição de DAC.^{15,18} O uso clínico da SM na avaliação risco cardiovascular rotineira mediante ERF, pode reduzir potencialmente a carga de saúde pública em termos de morbimortalidade e custo para gerenciamento de DAC.¹⁴ Avaliou-se o impacto da SM na reestratificação de risco cardiovascular em pacientes submetidos a cineangiocoronariografia.

Métodos.

Estudo transversal com pacientes atendidos consecutivamente e submetidos à cineangiocoronariografia durante 12 meses no Serviço de Hemodinâmica do Hospital Universitário Unidade Presidente Dutra/Universidade Federal do Maranhão (HUUPD/UFMA).

Este estudo incluiu homens e mulheres com mais de 18 anos com suspeita de doença coronária. Foram excluídos pacientes incapazes de responder à entrevista devido as alterações cognitivas ou deficiências auditivas; procedentes de serviço de urgência e emergência; história de grave alergia a contrastes iônicos ou com indicação de cateterismo por outras razões que não DAC.

Todos os pacientes foram submetidos à anamnese utilizando uma ficha-protocolo estruturada contendo variáveis sócio-demográficas, relacionadas ao estilo de vida, clínicas (autorreferidas e/ou confirmadas nos prontuários médicos) e as antropométricas coletadas durante o exame físico, com medidas de circunferência abdominal, quadril, peso e altura.

As amostras de sangue de 10 mL foram colhidas de todos os pacientes em jejum de 12 horas, antes da cineangiocoronariografia, para as dosagens bioquímicas: hemograma, glicemia de jejum, colesterol total (CT), Relação colesterol total/HDL-colesterol (CT/ HDL – C), colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C), colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), relação LDL/HDL, colesterol de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL – C), triglicerídeos (TG), proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR-us) e Apolipoproteína A (ApoA). As amostras de sangue foram armazenadas no Centro de Pesquisa Clínica (CEPEC) do HUUPD/UFMA a uma temperatura de -80°C em até 2 horas após a

coleta do sangue e posteriormente transportadas sob condições controladas para análise no laboratório clínico da Universidade Federal de São Paulo – USP.

Presença e gravidade de DAC.

Foram submetidos às cineangiocoronariografias (AXIOM Artis, Siemens, Munich, Alemanha) sob anestesia local (90% por acesso femoral e 10%, radial) com contraste não iônico e classificados por dois cardiologistas intervencionistas experientes, certificados pela Sociedade Brasileira de Hemodinâmica e Cardiologia Intervencionista (SBHIC), cegos com relação aos dados clínicos e risco cardiovascular dos pacientes em que, avaliaram individualmente cada laudo e quantificaram as lesões categorizadas pelo número de vasos acometidos (1,2,3), por acometimento do Tronco da Coronária Esquerda (TCE) e por grau de oclusão de pelo menos um segmento de uma das artérias epicárdicas maiores em: sem lesão (menor que 10%), discreta (menor que 50%), moderada (entre 50 e 70%), lesão grave ou severa (maior ou igual a 70%)¹⁷. O Coeficiente de Kappa mostrou concordância de 75% (boa a ótima) entre os examinadores. Considerou-se DAC a presença de obstrução em artérias coronárias confirmada angiograficamente.

Reclassificação de Risco Cardiovascular.

Utilizou-se o Escore de Risco de Framingham (ERF) revisado⁹ que fornece um algoritmo multivariado de predição do risco de desenvolver todas as DCV e dos seus constituintes (coronário, cerebrovascular, doença arterial periférica e insuficiência cardíaca) em 10 anos. As variáveis independentes consideradas os preditores de risco incluídos foram: idade, CT, HDL-c, tabagismo, diabetes, pressão arterial sistólica (PAS) em tratamento ou não. Utilizou-se a presença ou não do fator agravante de Síndrome Metabólica (SM) para reclassificação de risco desses pacientes⁷ e definida conforme os critérios da Federação Internacional de Diabetes (IDF)¹⁸. Para pacientes de baixo e médio risco segundo o ERF, a presença de SM, determinou a reclassificação em uma categoria de risco acima daquela estimada isoladamente pelo ERF⁷.

Análise estatística.

Empregou-se o teste Z para as variáveis contínuas com distribuição normal e o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney para dados com distribuição anormal. Para as variáveis categóricas foram utilizados os testes Qui-quadrado. Realizamos regressão logística múltipla com Odds Ratio para identificar possíveis preditores independentes para DAC. A análise dos dados foi realizada com software GraphPad Prisma® e Bioestat para Windows, versão 5.0.

Aspectos éticos.

O protocolo de pesquisa foi submetido e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa sob Parecer nº 6734. Todos os indivíduos incluídos no estudo concordaram em participar da pesquisa assinando o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Resultados.

O estudo incluiu 292 pacientes com suspeita de doença coronária e submetidos à cineangiocoronariografia, sendo 22 excluídos por inconsistências de dados nos prontuários médicos, restando, portanto, 270 pacientes, 176 com diagnóstico de DAC (65,2%) e 94 sem DAC (34,8%).

A análise multivariada das características demográficas e clínicas associadas ao risco de DAC encontram-se na Tabela 1. Quanto a associação às características dos pacientes, observou-se que os pacientes maiores de 60 anos de idade (OR: 2,77; IC: 1,59 – 4,83; $p < 0,0003$), do sexo masculino (OR: 2,63; IC: 1,49 – 4,54; $p < 0,0007$) e hipertensos (OR: 1,99; IC: 1,09 – 3,57; $p < 0,02$), possuem uma chance maior de DAC.

Foram encontradas associações entre pacientes com níveis de TG > 119 mg/dL (OR: 1,87; IC: 1,13 - 3,11; $p < 0,02$) e RCQ > 1 (OR: 2,44; IC: 1,45 – 4,13; $p < 0,0008$) com maior risco de DAC. Outro dado importante deste estudo foi a relação CT / HDL-C (OR: 2,04; IC: 1,13 - 3,69; $p < 0,01$) que se mostrou associada risco de DAC entre pacientes sem diagnóstico da doença conforme Tabela 2.

Na análise das cineangiocoronariografias, 94 (35%) pacientes apresentavam lesão menor que 10%, 40 (15%) com lesão entre 50% e 70% (discretas a moderadas), 136 (65%) apresentavam lesão $\geq 70\%$. Na regressão logística multivariada apenas o sexo masculino

apresentou risco maior de gravidade de DAC (OR 2,26; IC95%: 1,05 – 4,76; $p < 0,003$), como mostra a Tabela 3.

Segundo ERF da amostra estudada, 29 pacientes foram classificados como baixo risco (10,7%), 106 como risco intermediário (39,3%) e 135 como risco alto (50%) para o desenvolvimento de DCV em 10 anos. A presença do fator agravante de SM concorreu para a reclassificação de risco em 58,5% dos pacientes em geral, sendo que 44,8% dos de risco baixo passaram para o intermediário e 67% dos de risco intermediário para o alto, como mostra Figura 1.

Discussão.

A prevalência de DAC foi de 65,2% na população do estudo. Tal resultado é superior as estatísticas compiladas pelo American Heart Association¹⁹ que estimaram DAC em 7% e 5,8% dos adultos nos países norte e latino americanos, respectivamente, em 2009. Observou-se que frequência de DAC é variável dependendo da população avaliada.

Os fatores de risco para o desenvolvimento de DAC associados idade ≥ 60 anos, sexo masculino, HAS, RCQ alta e triglicerídeos elevados foram observados em investigações anteriores⁸. Grandes estudos realizados por Ferrari *et al.*²¹ sobre as diferenças de sexo e idade envolvendo 33.280 pacientes com DAC estável por 5 anos em 45 países e Pagidipati *et al.*²² que analisaram o impacto da gravidade da DAC em função do sexo, com 20.404 pacientes submetidos à cineangiocoronariografia entre 1986 e 2010, no Centro Médico da Universidade de Duke, 78,5% e 56% era do sexo masculino, com idade de 64 e 59 anos, respectivamente, dados que divergem do perfil correspondente dos pacientes ambulatoriais triados na prática cardiovascular do estudo.

No amplo registro norte-americanocom 398.978 pacientes suspeitos de DAC submetidos à cineangiocoronariografia em 663 hospitais entre 2004-2008¹⁵, a HAS mostrou-se associada significativamente ao risco independente 1,29 maior para DAC obstrutiva em análise multivariada (IC 95%, 1,26 – 1,32). No estudo transversal de Landim e Victor²⁵ obtiveram risco absoluto médio/alto de DAC entre 37,14% do grupo com PAS > 140 mmHg e 29,17% do grupo com PAD > 90 mmHg nos 107 motoristas de transportes coletivos em Teresina – Piauí. Dados da literatura comprovam a direta associação de risco em desenvolver

DAC entre hipertensos, cabendo ressaltar que a variável idade >60 anos^{9,23} possa ser um fator influenciador na prevalência elevada de HAS e o risco de DAC no nosso estudo.

Não houve associação ao risco de DAC entre os pacientes diabéticos, não tabagistas e sem HAS familiar estudados, porém em tendências próximas ao risco da doença. Convém destacar que investigações anteriores confirmam a relação direta de desenvolvimento de DAC entre diabéticos e jovens fumantes²⁴, além disso, a genética de HAS duplica o risco de Infarto agudo do miocárdio (IAM) precoce em ambos os sexos.²⁶ Os nossos resultados não confirmam os achados, sugerindo a necessidade de investigação para este grupo em risco, visto que os indivíduos com DAC não obstrutiva tem um risco significativo de mortalidade a longo prazo, com pior prognóstico em todos os níveis de gravidade de DAC entre os homens.²²

Estudo de base populacional *Emerging Risk Factors Collaboration* (ERFC)²⁷ com acompanhamento médio de 7 anos, em 63.821 indivíduos sem doença cardiovascular, a adiposidade central e geral estava relacionada ao risco em 1,29 vezes maior de DAC, entretanto, não houve correlação entre os níveis de TG e DAC após o ajuste para HDL-C, não-HDL-C e FR. De maneira geral, estudos prévios apontam para uma associação de risco à DAC entre adiposidade^{28,29} e TG³²⁻³⁵. A razão CT/HDL-C < 4.24 mmol/l e adiponectina de 8.51 µg/ml foram associados à presença de placas de aterosclerose coronariana em 400 pacientes assintomáticos submetidos a angiotomografia.³⁶

Uma constatação relevante deste estudo foi os homens estavam significativamente associados a maior prevalência de DAC grave, confirmando resultado do importante estudo observacional com 3520 pacientes submetidos à cineangiocoronariografia em Novara – Itália durante 5 anos, 81,5% dos homens tinham DAC extensa, com 32% das lesões coronarianas do tipo triarteriais, sendo que 56,3% na ADA.³⁷

O risco de DAC grave foi associado ao sexo masculino similarmente aos dados representativos do estudo transversal³⁴ com 214 pacientes submetidos a angiotomografia coronariana (ATC)³⁷ ao revelar preditores associados à DAC relacionados ao sexo masculino e a idade. Além disso, 20,6% dos pacientes tinham lesões coronarianas na artéria descendente anterior esquerda (ADA).

Outra constatação relevante deste estudo foi a correlação significativa verificada entre o EF e a EIMC, que persistiu mesmo após ajuste para as variáveis que compõem tal escore, confirmando resultado do importante estudo observacional PARC-AALA, desenvolvido em

21 países da Ásia, África, Oriente Médio e América Latina, envolvendo mais de 2600 indivíduos.

A ERF obtida isoladamente categorizou como risco intermediário em 39,3% e alto em 50% dos pacientes, justificado pelas características como idade avançada, sexo masculino, hipertensão, dislipidemia e adiposidade central, tal resultado é menor do que os 59,4% indivíduos considerados de risco cardiovascular intermediário pelo ERF descrito em outras populações.¹⁹

Devido interesse clínico do estudo, observou-se prevalência de 58,5% de SM nos pacientes em geral, isso promoveu a reclassificação de risco, sendo que 44,8% dos pacientes de risco baixo para o intermediário, 67% de risco intermediário para o alto. As diretrizes vigentes⁷ recomendam a reclassificação dos pacientes de risco intermediário com quaisquer fatores agravantes para alto risco, contudo a evidência de SM, mesmo naqueles categorizados como de baixo risco pelo EF, modificou o perfil de risco da amostra total, desta forma subestimaria o risco cardiovascular para futuros desfechos importantes.^{6,7} Utilizando a medida da espessura íntimo-medial carotídea (EMIC) em 94 hipertensos ambulatoriais, foi obtida a reclassificação de risco em 70,31% dessa amostra, sendo 61% dos de risco baixo para o intermediário e 93,8% dos de risco intermediário para o alto. Divergindo do estudo de Navarro et al.³⁹ que evidenciou os diferentes hábitos alimentares associados a uma menor prevalência de SM (52,3% vs.15,9%) e EF ($4,82 \pm 4,8$ vs $2,98 \pm 3,7$), respectivamente.

Os resultados apresentados são relevantes considerando que a efetividade do diagnóstico para DAC das cineangiocoronariografias coronárias aumentam conforme a qualidade da determinação de risco cardiovascular medida pelo ERF²⁰ e correlacionado com os fatores agravantes presentes nas populações especialmente expostas aos fatores agravantes, como demonstrado no nosso estudo, e recomendado pelas diretrizes internacionais.^{12,13}

Limitações do estudo.

Foi limitado pelo seu desenho transversal, com amostra de conveniência, e pelo fato de ter sido avaliado um perfil específico de pacientes, não podendo extrapolar os seus resultados para a população geral.

Conclusões.

Os pacientes com maior risco de desenvolver DAC em associação com fatores cardiovasculares de idade avançada, sexo masculino, hipertensão, RCQ e TG alterados. Risco

de DAC grave foi associado ao sexo masculino. Demonstrou-se que a presença de SM foi um fator agravante ao proporcionar a reclassificação de risco cardiovascular da população.

Agradecimentos.

Concepção e desenho da pesquisa: Neto, JAF; Obtenção de dados; Análise e interpretação dos dados: Oliveira, LMCBRC, Neto, JAF, Ferro, TAF; Análise estatística: Ferro, TAF; Redação do manuscrito: Oliveira, LMCBRC; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Neto, JAF, Nunes, JKVRS

Potencial conflito de interesses:

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento:

Parcialmente pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior /CAPES

Vinculação acadêmica.

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Lívia Mariane Castelo Branco Reis Coutinho de Oliveira pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde/UFMA. São Luís, Maranhão, Brasil.

Referências

1. Patil RR. Urbanization as a determinant of health: a socioepidemiological perspective. *Soc Work Public Health*. 2014;29(4):335-41. <http://dx.doi.org/10.1080/19371918.2013.821360>. PMID:24871771.
2. Morrow DA. Cardiovascular risk prediction in patients with stable and unstable coronary heart disease. *Circulation* 2010; 121:2681–2691.
3. Schmidt MI, Duncan BB, Azevedo e Silva G, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM, et al., Chronic noncommunicable diseases in brazil: Burden and current challenges. *Lancet* 2011; 377:1949-61
4. Feres F, Costa RA, Siqueira D, Costa Jr JR, Chamié D, Staico R et.al. Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia e da Sociedade Brasileira de Hemodinâmica e

Cardiologia Intervencionista sobre Intervenção Coronária Percutânea. Arq Bras Cardiol 2017 109(1Supl.1):1-81

5. Peter W. F. Wilson, Ralph B. D'Agostino, Daniel Levy, Albert M. Belanger, Halit Silbershatz and William B. Kannel. Prediction of Coronary Heart Disease Using Risk Factor Categories. Circulation. 1998; 97:1837-1847, originally published May 19, 1998<https://doi.org/10.1161/01.CIR.97.18.1837>
6. Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Afiune Neto A et al., Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017. Arq Bras Cardiol 2017; 109(2Supl.1):1-76
7. Malachias MVB, Souza WKS, Plavnik FL, Rodrigues CIS, Brandão AA, Neves MFT, et al., 7ª Diretriz Brasileira de HAS. Arq Bras Cardiol 2016; 107(3Supl.3):1-83
8. Cesar LA, Ferreira JF, Armaganijan D, Gowdak LH, Mansur AP, Bodanese LC, et al., Diretriz de Doença Coronária Estável. Arq Bras Cardiol 2014; 103(2Supl.2): 1-59.
- 9 D'Agostino RB Sr, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, Kannel WB. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. Circulation. 2008 Feb 12; 117(6):743-53.
10. Xavier H. T., Izar M. C., Faria Neto J. R., Assad M. H., Rocha V. Z., Sposito A. C., Fonseca F. A., dos Santos J. E., Santos R. D., Bertolami M. C., Faludi A. A., Martinez T. L. R., Diamant J., Guimarães A., Forti N. A., Moriguchi E., Chagas A. C. P., Coelho O. R., Ramires J. A. F.; Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Arq Bras Cardiol 2013
11. Cheitlin MD, Armstrong WF, Aurigemma GP, et al., ACC/AHA/ASE 2003 guideline update for the clinical application of echocardiography: summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/ASE Committee to Update the 1997 Guidelines for the Clinical Application of Echocardiography). J Am Soc Echocardiogr 2003;16:1091-110.
12. Klocke FJ, Baird MG, Lorell BH, et al., ACC/AHA/ASNC guidelines for the clinical use of cardiac radionuclide imaging — executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/ASNC Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Clinical Use of Cardiac Radionuclide Imaging). J Am Coll Cardiol 2003;42:1318-33.
13. Fraker TD Jr, Fihn SD. 2007 Chronic angina focused update of the ACC/AHA 2002 guidelines for the management of patients with chronic stable angina: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines Writing Group to develop the focused update of the 2002 guidelines for the management of patients with chronic stable angina. J Am Coll Cardiol 2007; 50:2264-74.
14. Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A, et al; Task Force Members. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease:

the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2013; 34(38):2949-3003. Erratum in: *Eur Heart J*. 2014; 35(33):2260-1.

15. Patel MR, Peterson ED, Dai D, Brennan JM, Redberg RF, Anderson HV, et al., Low diagnostic yield of elective coronary angiography. *N Engl J Med*. 2010; 362(5):886-95. Erratum in: *N Engl J Med*. 2010; 363(5):498.

16. Rolande DM, Fantini JP, Cardinalli Neto A, Cordeiro JA, Bestetti RB. Prognostic determinants of patients with chronic systolic heart failure secondary to systemic arterial hypertension. *Arq Bras Cardiol*. 2012;98(1)76-84.

17. Feres F, Costa RA, Siqueira D, Costa Jr JR, Chamié D, Staico R et.al. Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia e da Sociedade Brasileira de Hemodinâmica e Cardiologia Intervencionista sobre Intervenção Coronária Percutânea. *Arq Bras Cardiol* 2017 109(1Supl.1):1-81

18. International Diabetes Federation. (IDF). The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. [Internet]. [Cited in 2017 June 15]. Available from: http://www.idf.org/webdata/docs/MetSyndrome_FINAL.pdf

19. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, et al; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics–2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2011; 123(4):e18-209. Erratum in *Circulation*. 2011; 124(16):e426, *Circulation*. 2011; 123(6):e240.

20. Eyuboglu Mehmet, Ekinci Mehmet Akif, Karakoyun Suleyman, Kucuk Ugur, Senarslan Omer, Akdeniz Bahri. QRS Fragmentado para Estratificação de Risco em Pacientes Submetidos à Primeira Cineangiografografia Diagnóstica. *Arq. Bras. Cardiol*. [Internet]. 2016 Oct [cited 2018 June 25]; 107(4): 299-304.

21. Ferrari, Roberto et al., Gender- and age-related differences in clinical presentation and management of outpatients with stable coronary artery disease. *International Journal of Cardiology*, Volume 167, Issue 6, 2938 – 2943

22. Pagidipati, N. J., Mudrick, D. W., Chiswell, K., Brucker, A., Peterson, E. D., & Douglas, P. S. (2018). Sex differences in long-term outcomes of patients across the spectrum of coronary artery disease. *American Heart Journal*, 206, 51–60. doi:10.1016/j.ahj.2018.09.014

23. Vasan RS1, Larson MG, Leip EP, Evans JC, O'Donnell CJ, Kannel WB, Levy D. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2001 Nov 1; 345(18):1291-7.

24. Mobashir M, Varshney D, Gupta S. Cardiovascular risk factors in Type 2 diabetes mellitus. *Medicine Update* 2005; 254–62.

25. Landim & Victor. Escore de Framingham em motoristas de transportes coletivos urbanos de Teresina, Piauí. Arquivos Brasileiros de Cardiologia - Volume 87, Nº 3, Setembro 2006.
26. A. Supriya Simon; T. Vijayakumar. Molecular Studies on Coronary Artery Disease—A Review. Ind J Clin Biochem. 2013 Jul; 28(3): 215–226.
27. Emerging Risk Factors, C. et al., Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. Lancet 377, 1085–1095 (2011).
28. Yusuf, S. et al., Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. Lancet 366, 1640–1649 (2005).
29. O'Donnell, M. J. et al., Global and regional effects of potentially modifiable risk factors associated with acute stroke in 32 countries (INTERSTROKE): a case-control study. Lancet 388, 761–775 (2016).
30. Baker AR, da Silva NF, Quinn DW, Harte L, Pagano D, Bonser RS, et al., Human epicardial adipose tissue expresses a pathogenic profile of adipocytokines in patients with cardiovascular disease. Cardiovasc Diabetol. 2006; 13(5):1
31. Hubert, H. B., Feinleib, M., McNamara, P. M. & Castelli, W. P. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. Circulation 67, 968–977 (1983).
32. Montazerifar Farzaneh, Bolouri Ahmad, Paghalea Raheleh Sharifian, Mahani Mahbubeh Khodadadpour, Karajibani Mansour. Obesidade, Soro Resistina e Níveis de Leptina Ligados à Doença Arterial Coronariana. Arq. Bras. Cardiol.[Internet]. 2016Oct [cited2018July01];107(4): 348-353.
33. P. Cullen, Evidence that triglycerides are an independent coronary heart disease risk factor, Am. J. Cardiol. 86 (2000) 943–949.
34. P.L. da Luz, F.H. Cesena, D. Favarato, E.S. Cerqueira, Comparison of serum lipid values in patients with coronary artery disease at <50, 50 to 59, 60 to 69, and >70 years of age, Am. J. Cardiol. 96 (2005) 1640–1643.
35. P.L. da Luz, D. Favarato, J.R. Faria-Neto Jr., P. Lemos, A.C. Chagas, High ratio of triglycerides to HDL-cholesterol predicts extensive coronary disease, Clinics (Sao Paulo) 63 (2008) 427–432.
36. L. Gan et al., Predict value of adiponectin for coronary atherosclerosis plaques according to computed tomography angiography in an asymptomatic population. Clinical Imaging 51 (2018) 174–179.
37. L. Barbieri, et al., Impact of sex on uric acid levels and its relationship with the extent of coronary artery disease: A single-centre study, Atherosclerosis (2015)

38. F.C. Monteiro Júnior et al., Prevalência de aterosclerose subclínica e reclassificação de risco cardiovascular pela medida da espessura íntimo-medial carotídea em pacientes hipertensos ambulatoriais. *Rev Port Cardiol.* 2013;32(12):975-980
39. Navarro et al., Prevalência de Síndrome Metabólica e Escore de Risco de Framingham em Homens Vegetarianos e Onívoros Aparentemente Saudáveis. *Arq Bras Cardiol.* 2018; 110(5):430-437
40. Costa Filho FF, Chaves ÁJ, Ligabó LT, Santos EM, Silva DT, Puzzi MA, et al., Efficacy of patient selection for diagnostic coronary angiography in suspected coronary artery disease. *Arq Bras Cardiol.* 2015;105(5):466-71.

TABELAS

Tabela 1 – Associação entre Doença Arterial Coronariana (DAC) e as variáveis demográficas e clínicas dos pacientes submetidos à cineangiogramia, no Hospital Universitário Presidente Dutra, São Luís, Maranhão Brasil, 2018.

Variáveis	DAC				OR*	IC 95% [†]	Valor de p [‡]
	Sim		Não				
	n	%	n	%			
Idade					2,77	1,59 - 4,83	0,0003
> 60 anos	118	67	44	46,8			
< 60 anos	58	33	50	53,2			
Sexo					2,63	1,49 - 4,54	0,0007
Masculino	117	66,5	42	44,7			
Feminino	59	33,5	52	55,3			
Tabagismo					1,53	0,71 - 3,22	0,23
Sim	36	20,5	14	14,9			
Não	140	79,5	80	85,1			
Etilismo							
Sim	121	68,7	67	71,3	1,01	0,53 - 1,95	0,96
Não	55	31,3	27	28,7			
HAS					1,99	1,09 - 3,57	0,02
Sim	136	77,3	60	63,8			
Não	40	22,7	34	36,2			
Diabetes Mellitus					1,05	0,57 - 1,93	0,87
Sim	118	67	69	73,4			
Não	58	33	25	26,6			
Acidente Vascular Cerebral					0,61	0,27 - 1,42	0,26
Sim	148	84	85	90,4			
Não	28	16	9	9,6			
HAS Familiar					1,41	0,76 - 2,63	0,27
Sim	63	35,8	29	31			
Não	113	64,2	65	69			
Diabetes Mellitus Familiar					0,58	0,32 - 1,05	0,07
Sim	97	55,1	61	64,9			
Não	79	44,9	33	35,1			
Insuficiência cardíaca obstrutiva Familiar					1,38	0,78 - 2,43	0,27
Sim	104	59	51	54,3			
Não	72	41	43	45,7			
Acidente Vascular Cerebral Familiar					1,37	0,77 - 2,45	0,28
Sim	112	63,6	53	56,4			
Não	64	36,4	41	43,6			

(*) OR: razão de chances; (†) IC: intervalo de confiança; (‡) $p < 0,05$ indica associação significativa; * SM- Síndrome Metabólica

Tabela 2 – Associação entre Doença Arterial Coronariana (DAC) e as variáveis antropométricas e laboratoriais dos pacientes submetidos à cineangriocoronariografia, no Hospital Universitário Presidente Dutra, São Luís, Maranhão, Brasil, 2018.

Variáveis	DAC				OR*	IC 95%†	Valor de p‡
	Sim		Não				
	n	%	n	%			
Relação circunferência cintura/ quadril (RCQ)					2,44	1,45 - 4,13	0,0008
>1	128	72,7	49	52,1			
< 1	48	27,3	45	47,9			
Índice de Massa Corporal (IMC)§					1,04	0,62 - 1,78	0,85
> 24,9 kg/m²	112	63,6	58	61,7			
< 24,9 kh/m²	64	36,4	36	38,3			
Triglicerídeos (TG)					1,87	1,13 - 3,11	0,02
> 119 mg/dL	113	64,2	46	49			
<119 mg/dL	63	35,8	48	51			
Colesterol total (CT)					1,01	0,59 - 1,76	0,95
>199 mg/dL	53	30,1	28	29,8			
<199 mg/dL	123	69,9	66	70,2			
Relação CT/HDL – C					2,04	1,13 - 3,69	0,01
> 5,9	60	34	19	20,2			
<5,9	116	66	75	79,8			
Colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL – C)					1,42	0,73 - 2,75	0,29
<45 mg/dL	127	72,2	57	60,6			
> 44mg/dL	49	27,8	37	39,4			
Colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL – C)					1,23	0,62 - 2,45	0,55
>110mg/dL	56	31,8	27	28,7			
< 110 mg/dL	120	68,2	67	71,3			
Relação LDL/HDL					1,03	0,52 - 2,05	0,92
>3,5	77	43,75	33	35,1			
< 3,5	99	56,25	61	64,9			
Colesterol de lipoproteína de muito baixa densidade					1,23	0,7 - 2,17	0,48

(VLDL)							
> 30mg/dL	66	37,5	29	31			
< 30mg/dL	110	62,5	65	69			
Apolipoproteína A (ApoA)					0,72	0,39 - 1,32	0,29
< 1,3 mg/dL	56	31,8	40	43			
> 1,3 mg/dL	120	68,2	54	57			
Glicemia de jejum					0,92	0,51 - 1,66	0,79
< 125mg/dL	44	25	25	26,6			
> 125mg/dL	132	75	69	73,4			
Proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR – us)					0,96	0,49 - 1,88	0,91
> 0,8 mg/L	145	82,4	77	82			
< 0,8 mg/L	31	17,6	17	18			

(*) OR: razão de chances; (†) IC: intervalo de confiança; (‡) $p < 0,05$ indica associação significativa; (§) índice de Massa Corporal (IMC) = (peso em Kg): (altura em metros)²

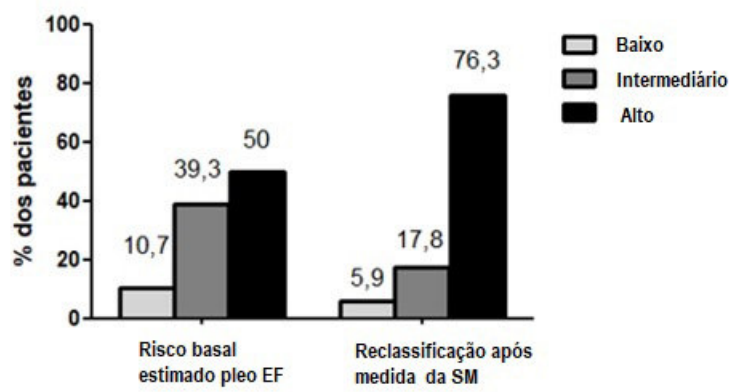
Tabela 3 – Associação das variáveis do estudo e a gravidade das lesões coronarianas dos pacientes com DAC no Hospital Universitário Presidente Dutra, São Luís, Maranhão, Brasil, 2018.

Variáveis	LESÕES				OR*	IC 95% [†]	Valor de p [‡]
	Severas		Discretas/moderadas				
	n	%	n	%			
Idade					1,13	0,51 - 2,49	0,76
>60 anos	91	66,9	27	67,5			
< 60 anos	45	33,1	13	32,5			
Sexo					2,26	1,05 - 4,76	0,03
Masculino	97	71,3	20	50			
Feminino	39	28,7	20	50			
Tabagismo					0,73	0,27 - 1,98	0,53
Sim	106	77,9	34	85			
Não	30	22,1	6	15			
Etilismo					0,78	0,31 - 1,94	0,59
Sim	90	66,2	31	77,5			
Não	46	33,8	9	22,5			
HAS Sistêmica Pessoal					1,35	0,52 - 3,5	0,54
Sim	30	22	10	25			
Não	106	78	30	75			
Diabetes Mellitus Pessoal					0,77	0,34 - 1,73	0,52
Sim	91	66,9	27	67,5			
Não	45	33,1	13	32,5			
Acidente Vascular Cerebral Pessoal					1,12	0,42 - 3,02	0,81
Sim	117	86	31	77,5			
Não	19	14	9	22,5			
HAS Sistêmica Familiar					1,15	0,61 - 3,55	0,38
Sim	48	35,3	15	37,5			
Não	88	64,7	25	62,5			
Diabetes Mellitus Familiar					0,7	0,31 - 1,58	0,39
Sim	72	52,9	25	62,5			

Não	64	47,1	15	37,5			
Insuficiência cardíaca obstrutiva Familiar					0,99	0,44 - 2,21	0,97
Sim	79	58	25	62,5			
Não	57	42	15	37,5			
Acidente Vascular Cerebral Familiar					1,39	0,61 - 3,23	0,43
Sim	87	64	25	62,5			
Não	49	36	15	37,5			
Relação circunferência cintura/ quadril (RCQ)					1,18	0,54 - 2,58	0,66
Sim	101	74,3	27	67,5			
Não	35	25,7	13	32,5			
Índice de Massa Corporal (IMC)[§]					1,05	0,51 - 2,19	0,88
Acima de 24,9	86	63,2	26	65			
Até 24,9	50	36,8	14	35			

(*) OR: razão de chances; (†) IC: intervalo de confiança; (†) $p < 0,05$ indica associação significativa; (§) índice de Massa Corporal (IMC) = (peso em Kg) : (altura em metros)²

Figura 1. Escore de Framingham dos pacientes com DAC no Hospital Universitário Presidente Dutra, São Luís, Maranhão, Brasil, 2018.



NORMAS PARA SUBMISSÃO NO PERIÓDICO: Cadernos de Saúde Pública.

Forma e preparação de manuscritos

Recomendamos aos autores a leitura atenta das instruções abaixo antes de submeterem seus artigos a Cadernos de Saúde Pública.

1. CSP aceita trabalhos para as seguintes seções:

1.1 – Perspectivas: análises de temas conjunturais, de interesse imediato, de importância para a Saúde Coletiva (máximo de 1.600 palavras);

1.2 – Debate: análise de temas relevantes do campo da Saúde Coletiva, que é acompanhado por comentários críticos assinados por autores a convite das Editoras, seguida de resposta do autor do artigo principal (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações);

1.3 – Espaço Temático: seção destinada à publicação de 3 a 4 artigos versando sobre tema comum, relevante para a Saúde Coletiva. Os interessados em submeter trabalhos para essa Seção devem consultar as Editoras;

1.4 – Revisão: revisão crítica da literatura sobre temas pertinentes à Saúde Coletiva, máximo de 8.000 palavras e 5 ilustrações. Toda revisão sistemática deverá ter seu protocolo publicado ou registrado em uma base de registro de revisões sistemáticas como por exemplo o PROSPERO (<http://www.crd.york.ac.uk/prosperto/>); as revisões sistemáticas deverão ser submetidas em inglês (leia mais – LINK 3);

1.5 – Ensaio: texto original que desenvolve um argumento sobre temática bem delimitada, podendo ter até 8.000 palavras (leia mais – LINK 4);

1.6 – Questões Metodológicas (LINK 5): artigos cujo foco é a discussão, comparação ou avaliação de aspectos metodológicos importantes para o campo, seja na área de desenho de estudos, análise de dados ou métodos qualitativos (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações); artigos sobre instrumentos de aferição epidemiológicos devem ser submetidos para esta Seção, obedecendo preferencialmente as regras de Comunicação Breve (máximo de 1.700 palavras e 3 ilustrações);

1.7 – Artigo: resultado de pesquisa de natureza empírica (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações). Dentro dos diversos tipos de estudos empíricos, apresentamos dois exemplos: artigo de pesquisa etiológica (LINK 1) na epidemiologia e artigo utilizando metodologia qualitativa (LINK 2);

1.8 – Comunicação Breve: relatando resultados preliminares de pesquisa, ou ainda resultados de estudos originais que possam ser apresentados de forma sucinta (máximo de 1.700 palavras e 3 ilustrações);

1.9 – Cartas: crítica a artigo publicado em fascículo anterior de CSP (máximo de 700 palavras);

1.10 – Resenhas: resenha crítica de livro relacionado ao campo temático de CSP, publicado nos últimos dois anos (máximo de 1.200 palavras).

2. Normas para envio de artigos

2.1 - CSP publica somente artigos inéditos e originais, e que não estejam em avaliação em nenhum outro periódico simultaneamente. Os autores devem declarar essas condições no processo de submissão. Caso seja identificada a publicação ou submissão simultânea em outro periódico o artigo será desconsiderado. A submissão simultânea de um artigo científico a mais de um periódico constitui grave falta de ética do autor.

2.2 - Serão aceitas contribuições em Português, Inglês ou Espanhol.

2.3 - Notas de rodapé, de fim de página e anexos não serão aceitos.

2.4 - A contagem de palavras inclui somente o corpo do texto e as referências bibliográficas, conforme item 12.13.

2.5 - Todos os autores dos artigos aceitos para publicação serão automaticamente inseridos no banco de consultores de CSP, se comprometendo, portanto, a ficar à disposição para avaliarem artigos submetidos nos temas referentes ao artigo publicado.

3. Publicação de ensaios clínicos.

3.1 Artigos que apresentem resultados parciais ou integrais de ensaios clínicos devem obrigatoriamente ser acompanhados do número e entidade de registro do ensaio clínico.

3.2 Essa exigência está de acordo com a recomendação do Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde (BIREME)/Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS)/Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre o Registro de Ensaios Clínicos a serem publicados a partir de orientações da OMS, do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) e do Workshop ICTPR.

3.3. As entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são:

- Australian New Zealand Clinical Trials Registry (ANZCTR).
- ClinicalTrials.gov
- International Standard Randomised Controlled Trial Number (ISRCTN).
- Netherlands Trial Register (NTR).
- UMIN Clinical Trials Registry (UMIN-CTR).
- WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP).

4. Fontes de financiamento.

4.1. Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado, para a realização do estudo.

4.2 Fornecedores de materiais ou equipamentos, gratuitos ou com descontos, também devem ser descritos como fontes de financiamento, incluindo a origem (cidade, estado e país).

4.3. No caso de estudos realizados sem recursos financeiros institucionais e/ou privados, os autores devem declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

5. Conflito de interesses.

5.1. Os autores devem informar qualquer potencial conflito de interesse, incluindo interesses políticos e/ou financeiros associados a patentes ou propriedade, provisão de materiais e/ou insumos e equipamentos utilizados no estudo pelos fabricantes.

6. Colaboradores.

6.1. Devem ser especificadas quais foram as contribuições individuais de cada autor na elaboração do artigo.

6.2. Lembramos que os critérios de autoria devem basear-se nas deliberações do ICMJE, que determina o seguinte: o reconhecimento da autoria deve estar baseado em contribuição substancial relacionada aos seguintes aspectos: 1. Concepção e projeto ou análise e interpretação dos dados; 2. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual; 3. Aprovação final da versão a ser publicada. 4. Ser responsável por todos os aspectos do trabalho na garantia da exatidão e integridade de qualquer parte da obra. Essas quatro condições devem ser integralmente atendidas.

7. Agradecimentos.

7.1. Possíveis menções em agradecimentos incluem instituições que de alguma forma possibilitaram a realização da pesquisa e/ou pessoas que colaboraram com o estudo, mas que não preencheram os critérios para serem coautores.

8. Referências.

8.1. As referências devem ser numeradas de forma consecutiva de acordo com a ordem em que forem sendo citadas no texto. Devem ser identificadas por números arábicos sobrescritos (p. ex.: Silva 1). As referências citadas somente em tabelas e figuras devem ser numeradas a partir do número da última referência citada no texto. As referências citadas deverão ser listadas ao final do artigo, em ordem numérica, seguindo as normas gerais dos Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos.

Não serão aceitas as referências em nota de rodapé ou fim de página

8.2 Todas as referências devem ser apresentadas de modo correto e completo. A veracidade das informações contidas na lista de referências é de responsabilidade do (s) autor (es).

8.3. No caso de usar algum software de gerenciamento de referências bibliográficas (p. ex.: EndNote), o(s) autor (es) deverá (ão) converter as referências para texto.

9. Nomenclatura

9.1. Devem ser observadas as regras de nomenclatura zoológica e botânica, assim como abreviaturas e convenções adotadas em disciplinas especializadas.

10. Ética em pesquisas envolvendo seres humanos

10.1 A publicação de artigos que trazem resultados de pesquisas envolvendo seres humanos está condicionada ao cumprimento dos princípios éticos contidos na Declaração de Helsinki (1964, reformulada em 1975, 1983, 1989, 1996, 2000 e 2008), da Associação Médica Mundial.

10.2. Além disso, deve ser observado o atendimento a legislações específicas (quando houver) do país no qual a pesquisa foi realizada.

10.3 Artigos que apresentem resultados de pesquisas envolvendo seres humanos deverão conter uma clara afirmação deste cumprimento (tal afirmação deverá constituir o último parágrafo da seção Métodos do artigo).

10.4. Após a aceitação do trabalho para publicação, todos os autores deverão assinar um formulário, a ser fornecido pela Secretaria Editorial de CSP, indicando o cumprimento integral de princípios éticos e legislações específicas.

10.5 O Conselho Editorial de CSP se reserva o direito de solicitar informações adicionais sobre os procedimentos éticos executados na pesquisa.

6CONSIDERAÇÕES FINAIS.

Nossos achados determinaram o papel biológico do painel de glicerofosfolipídios e destacaram os metabolismos do glicerofosfolipídeo, fosfatidilinositol fosfato, linoleato e ácido araquidônico como vias aprimoradas no grupo de estudo. O grupo controle apresentou apenas o metabolismo de glicerofosfolipídios.

Demonstrou-se que os pacientes com maior risco de desenvolver DAC em associação com fatores cardiovasculares de idade avançada, sexo masculino, hipertensão, RCQ e TG alterados. Risco de DAC grave foi associado ao sexo masculino. Demonstrou-se que a presença de SM foi um fator agravante ao proporcionar a reclassificação de risco cardiovascular da população.

Nosso estudo sugeriu que o uso de lipidômica como uma abordagem adicional pode melhorar a previsão de doenças cardiovasculares com a possibilidade de ser usado para estratificação. Isso pode melhorar a identificação de pacientes de alto risco que necessitam de intervenção terapêutica mais agressiva. No entanto, mais estudos são necessários para desenvolver medicamentos mais personalizados para prevenção e manejo de doenças, levando em consideração diferentes ambientes sociais e estilos de vida.

REFERÊNCIAS

ABADI LB, BUDEL JM. Aspectos Clínicos laboratoriais das dislipidemias. **Cadernos da Escola de Saúde** 2017; 1: 5.

AHA. American Heart Association. NCEP Report: Implications of Recent Clinical Trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *Circulation* 2004; 110:227-239.

ALVES PCC, POIAN AT, ABRAHÃO A. **Bases Moleculares em Clínica Médica**, Atheneu 2010: 305-321.

ANGLÉS-CANO E, PEÑA-DÍAZ A, LOYAU S. Inhibition of fibrinolysis by lipoprotein(a). **Ann N Y Acad Sci** 2001; 936:261-275.

ANROEDH SS. et al. Plasma concentrations of molecular lipid species predict long-term clinical outcome in coronary artery disease patients. **Journal of lipid research**, 2018; 81281,.

AQUINO EM, BARRETO SM, BENSON IM, CARVALHO MS, CHOR D, DUNCAN BB, et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): objectives and design. **Am J Epidemiol**. 2012; 175(4):315-24.

ARIC. The ARIC Investigators. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: design and objectives. **Am. J. Epidemiol**. 1989; 129, 687–702.

ASSMANN G, CULLEN P, SCHUKLTE 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):310–315.

ASSMANN G, SCHULTE H. The Prospective Cardiovascular Münster (PROCAM) study: prevalence of hyperlipidemia in persons with hypertension and/or diabetes mellitus and the relationship to coronary heart disease. **Am. Heart J** 1988, 116, 1713–1724.

BARDERAS MG, LABORDE CM, POSADA M, DE-LA-CUESTA F, ZUBIRI I, VIVANCO F, ALVAREZ-LLAMAS G. Metabolomic Profiling for identification of Novel Potential Biomarkers in Cardiovascular Diseases. **J. Biomed. Biotechnol** 2011; 790132.

BARROSO AMM. Esfingolípidos: mediadores moleculares da resposta celular e potenciais alvos terapêuticos. 2012. Tese (**Doutorado**) Faculdade de Ciências da Saúde, 2012.

BEISIEGEL U. **Lipoprotein metabolism**. *Eur Heart J* 1998; 19:S20-23. Suplemento A.

BERG k. A new serum type system in man—the LP system. **Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica** 1963; 59(3):369-382,.

BILD DE, FITZPATRICK A, FRIED LP, WONG ND, HAAN MN, LYLES M, BOVILL E, POLAK JF, SCHULZ R. Age-related trends in cardiovascular morbidity and physical functioning in the elderly: the Cardiovascular Health Study. **J. Am. Geriatr. Soc.** 1993, 41, 1047–1056.

BOCCALETTO EMA, MENDES RT. **Alimentação, atividade física e qualidade de vida dos escolares do município de Vinhedo/SP**. 1. ed. Campinas: IPES Editorial 2009: 39-46.

BRITO L, AMIJI M. Nanoparticulate carriers for the treatment of coronary restenosis. **Int. J. Nanomedicine** 2007; 2(143):546.

CALAFIERO ET, JANÉ-LLOPIS E. **The Global Economic Burden of Noncommunicable diseases**. London: World Economic Forum; 2011.p.1-48

CALIFF RM, ARMSTRONG PW, CARVER JR, D'AGOSTINO RB & STRAUSS WE. 27th Bethesda Conference: matching the intensity of risk factor management with the hazard for coronary disease events. Task force 5. Stratification of patients into high, medium and low risk subgroups for purposes of risk factor management. **J. Am. Coll. Cardiol.** 1996; 27:1007–1019.

CANTIN B, DESPRÉS JP, LAMARCHE B, MOORJANI S, LUPIEN PJ, BOGATY P, BERGERON J, DAGENAIS GR. Association of fibrinogen and lipoprotein (a) as a coronary heart disease risk factor in men (The Quebec Cardiovascular Study). **Am J Cardiol** 2002; 89:662-66.

CASS Principal Investigators and Their Associates¹. **Journal of the American College of Cardiology** Jan 1984, 3 (1) 114-128; DOI: 10.1016/S0735-1097(84)80437-4

CELORIO AB, REGUERO JJR, CUBERO GI, NAVA SH, FERNÁNDEZ SB, BUSTILLO EF, LLOSA, AC. La lipoproteína (a) es predictora de severidad angiográfica en varones menores de 50 años con inicio clínico de enfermedad coronaria. **Revista Española de Cardiología** 2000; 53(8):1047-1051.

CHENG JM, et al. In vivo detection of high-risk coronary plaques by radiofrequency intravascular ultrasound and cardiovascular outcome: results of the ATHEROREMO-IVUS study. **Eur Heart J** 2014; 35:639–647.

COHEN JD, GRIMM JR, RICHARD H, MCFATE WS. Multiple risk factor intervention trial (MRFIT).: VI. Intervention on blood pressure. **Preventive medicine** 1981; 10(4); 501-518.

CHOLESTEROL GEN2. **Indianapolis**: Roche Diagnostics®, 2005. Bula.

CORDEIRO FB, MONTANI DA, PILAU EJ, GOZZO FC, FRAIETTA R, LO-TURCO EG. Ovarian environment aging: follicular fluid lipidomic and related metabolic pathways. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**. 2018; 35(8):1385-1393..

CORVILAIN B. Lipoprotein metabolism. **Rev Med Brux**1997; 19:3-9.

COSTA FILHO FF, CHAVES AJ, LIGABÓ LT, SANTOS EM, SILVA DTDA, PUZZI MA, BRAGA SL, ABIZAID A, SOUSA AGMR. Eficácia da Seleção de Pacientes para Cateterismo Coronário por Suspeita de Doença Arterial Coronariana. **Arq Bras Cardiol**. 2015; 105(5):466-471.

CÔTÉ M, MAURIÈGE P, BERGERON J, ALMÉRAS N, TREMBLAY A, LEMIEUX I, DESPRE'S JP. Adiponectinemia in visceral obesity: impact on glucose tolerance and plasma lipoprotein and lipid levels in men. **J Clin Endocrinol Metab**. 2005; 90:1434-39.

D'AGOSTINO RB SR, VASAN RS, PENCINA MJ, WOLF PA, COBAIN M, MASSARO JM, KANNEL WB. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. **Circulation**. 2008; 117(6):743-53.

DANESH J, COLLINS R, PETO R. Lipoprotein (a) and coronary heart disease. Meta-analysis of prospective studies. **Circulation** 2000; 102:1.082-1.085.

DAWBER TR, MEADORS GF, MOORE FE JR. Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. **Am J Public Health Nations Health**. 1951; 41(3):279-81.

DELOUKAS P & The CARDIoGRAMplusC4D Consortium. Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease. **Nat Genet**. 2013; 45(1):25–33.

DIAMOND GA, FORRESTER JS. Analysis of probability as an aid the clinical diagnosis of coronary-artery disease. **N Engl J Med**. 1979; 300:1350-8.

DINIZ AFA et al. Controle das dislipidemias através do tratamento não farmacológico. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management** 2018; 13:3.

EKROOS, Kim et al., Lipidomics: a tool for studies of atherosclerosis. **Current atherosclerosis reports**, v. 12, n. 4, p. 273-281, 2010.

FALUDI AA, IZAR MCDO, SARAIVA JFK, CHACRA APM, BIANCO HT, AFIUNE NETO A, CHAGAS, ACP. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose–2017. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia** 2017;109(2): 1-76.

FIHN SD, GARDIN JM, ABRAMS J, BERRA K, BLANKENSHIP JC, DALLAS AP, et al., 2012 ACCF/AHA/ACP/AATS/PCNA/SCAI/STS. Guideline for the diagnosis and management of patients with stable ischemic heart disease. **J Am Coll Cardiol**.2012;

60(24):e44-164.

FOLSOM AR, HIROSHI Y, JENNIFER AN, PAMELA LL, MARY C, ROSAMOND WD, & the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. Community prevalence of ideal cardiovascular health by the American Heart Association definition and relation with cardiovascular disease incidence. **J. Am. Coll. Cardiol.** 2011, 57, 1690–1696.

FRIED LP, KRONMAL RA, NEWMAN AB, BILD DE, MITTELMARK MB, POLAK JF, ROBBINS JA, GARDIN JM. Risk factors for 5-year mortality in older adults: the Cardiovascular Health Study. **JAMA**, 1998, 279, 585–592.

FRIEDMAN GD, CUTTER GR, DONAHUE RP, HUGHES GH, HULLEY SB, JACOBS DR JR, LIU K, SAVAGE PJ. CARDIA: study design, recruitment, and some characteristics of the examined subjects. **J. Clin. Epidemiol.** 1988, 41, 1105–1116.

FROHLICH J, DOBIÁSOVÁ M, ADLER L, FRANCIS M. Gender differences in plasma levels of Lp (a) in patients with angiographically proven coronary artery disease. **Physiol Res** 2004; 53:481-486.

FUCHS FD, FUCHS SC, MOREIRA LB, GUS M, NÓBREGA AC, POLI-DE-FIGUEIREDO CE et al. Prevention of hypertension in patients with pre-hypertension: protocol for the PREVER-prevention trial. **Trials.** 2011; 12:65.

FUJINO A, WATANABE T, KUNII H. Lipoprotein (a) is a potential coronary risk factor. **Jpn Circ J** 2000; 64:51-56.

GARDIN JM. Echocardiographic design of a multicenter investigation of free-living elderly subjects: the Cardiovascular Health Study. **J. Am. Soc. Echocardiogr.** 1992, 5, 63–72.

GENEST JJR, JENNER JL, MCNAMARA JR. Prevalence of lipoprotein(a) [Lp(a)] excess in coronary artery disease. **Am J Cardiol** 1991; 67:1.039-1.045

GIOVANE A, BALESTRIERI A, NAPOLI C. New insights into cardiovascular and lipid metabolomics. **Journal of cellular biochemistry** 2008; 105(3); 648-654.

GIULIANO ICB, CARAMELLI B, PELLANDA L, DUNCAN B, MATTOS S, FONSECA FH. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência. **Arq Bras Cardiol.** 2005; 85(6): 3-36

GO AS, MOZAFFARIAN D, ROGER VL, BENJAMIN EJ, BERRY JD, BLAHA MJ. Heart Disease and Stroke Statistics—2014 Update. A Report From the American Heart Association. **Circulation.** 2013; 129: e28-e292.

GOMES MAM, BISPO IGA, MACÊDO NETO NC. Marcadores Laboratoriais não tradicionais para aterosclerose: revisão de literatura. **Rev Socerj** 2009;22(5); 318-25.

GRAW A, HOBBS HH. Molecular genetics of lipoprotein (a): new pieces to the puzzle. **Curr Opin Lipidol** 1994; 5:149-155.

GREENLAND P, KNOLL MD, STAMLER J, NEATON JD, DYER AR, GARSIDE DB. Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. **JAMA**. 2003; 290:891-97.

GREENLAND P. 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. **J. Am. Coll. Cardiol**. 2010; 56:50–103.

GRIFFIN JL, ATHERTON H, SHOCKCOR J, ATZORI L. Metabolomics as a tool for cardiac research. **Nature Reviews Cardiology**, 2011; 8(11): 630.

GUPTA R, VASISHT S, BAHL VK. Correlation of lipoprotein (a) to angiographically defined coronary artery disease in Indians. **Int J Cardiol** 1996; 57:265-270.

HAJJAR KA, NACHMAN RL. The role of lipoprotein (a) in atherogenesis and thrombosis. **Ann Rev Med** 1996; 47:423-442.

HAN X, ROZEN S, BOYLE SH, HELLEGERS C, CHENG H, BURKE JR, KADDURAH-DAOUK R. Metabolomics in early Alzheimer's disease: identification of altered plasma sphingolipidome using shotgun lipidomics. **PloS one** 2011; 6(7):e21643.

HANCOCK MA, BOFFA MB, MARCOVINA SM, NESHEIM ME, KOSCHINSKY ML. Inhibition of plasminogen activation by lipoprotein(a): critical domains in apolipoprotein(a) and mechanism of inhibition on fibrin and degraded fibrin surfaces. **J Biol Chem** 2003; 278:23260-23269.

HANSON MA, FAREED MT, ARGENIO SL. Coronary artery disease. **Prim Care**. 2013; 40(1):1–16.

HARJAI KJ. Potential new cardiovascular risk factors: left ventricular hypertrophy, homocysteine, lipoprotein (a), triglycerides, oxidative stress and fibrinogen. **Ann Intern Med** 1999; 131:376-386.

HDLCHOLESTEROLPLUS. **2nd.generation**. Indianapolis: Roche Diagnostics®, 2006. Bula.

HEIDENREICH PA, TROGDON JG, KHAVJOU OA, BUTLER J, DRACUP K, EZEKOWITZ. Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: a policy statement from the American Heart Association. **Circulation**. 2011; 123:933-44.

HEISS G, SHARRETT AR, BARNES R, CHAMBLESS LE, SZKLO M, ALZOLA C.

Carotid atherosclerosis measured by B mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. **Am. J. Epidemiol.** 1991; 134:250–256.

HOPKINS PN, WU LL, HUNT SC. Lipoprotein (a) interactions with lipid and nonlipid risk factors in early familial coronary artery disease. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 1997; 17:2.783-2.792.

HU C , VAN DER HEIJDEN R , WANG M , VAN DER GREEF J , HANKEMEIER T , XU G. Analytical strategies in lipidomics and applications in disease biomarker discovery. **Journal of Chromatography B** 2009; 877(26): 2836-2846.

HU C, KONG H , QU F , LI Y , YU Z , PENG S, GAO P , XU G. Application of plasma lipidomics in studying the response of patients with essential hypertension to antihypertensive drug therapy. **Molecular bioSystems** 2011; 7(12): 3271-3279.

IDF. International Diabetes Federation. **The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome.** [Internet]. [Cited in 2017 June 15]. Available from: http://www.idf.org/webdata/docs/MetSyndrome_FINAL.pdf

IMHOF A, ROTHENBACHER D, KHUSEYINOVA N. Plasma lipoprotein Lp(a), markers of haemostasis and inflammation, and risk and severity of coronary heart disease. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil** 2003; 10:362-370.

JAWAD E, ARORA R. Chronic stable angina pectoris. **Dis Mon**, 2008;54(9): 671-89.

KAMON P, LAVOINNE A, VERNEUIL H. Bioquímica e Biologia Molecular. Rio de Janeiro: Guanabara 2006; 58-63, 284-293, 313-318.

KAPTOGE S, ANGELANTONIO ED, LOWE G, PEPYS MB, THOMPSON SG, COLLINS R. C- reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. The Emerging Risk Factors Collaboration. **Lancet.** 2010; 375: 132–40.

KHOT UN, KHOT MB, BAJZER CT, SAPP SK, OHMAN EM, BRENER SJ. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. **Jama.** 2003; 290:898-904.

KOSCHINSKY ML. Lipoprotein (a) and the link between atherosclerosis and thrombosis. **Can J Cardiol** 2004; 20:37B-43B. Suplemento B.

KRONENBERG F, KRONENBERG MF, KIECHAL S. Role of lipoprotein (a) and apolipoprotein (a) phenotype in atherogenesis. Prospective results from the Bruneck Study. **Circulation** 1999; 100:1.154-1.160.

KWAK JH, PAIK JK, KIM OY, JANG Y, LEE SH, ORDOVAS JM, LEE JH. FADS gene polymorphisms in Koreans: Association with ω6 polyunsaturated fatty acids in serum

phospholipids, lipid peroxides, and coronary artery disease. **Atherosclerosis** 2011; 214:94–100.

LAAKSONEN R et al. Plasma ceramides predict cardiovascular death in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes beyond LDL-cholesterol. **European heart journal**, v. 37, n. 25, p. 1967-1976, 2016.

LABEUR C, DE-BACQUER D, DE-BACKER G, VINCKE J. Plasma lipoprotein(a) values and severity of coronary artery disease in a large population of patients undergoing coronary angiography. **Clin Chem** 1992; 38:2.231-2.266.

LE NA, TOMASSINI JE, TERSHAKOVEC AM, NEFF DR, WILSON PW. Effect of Switching From Statin Monotherapy to Ezetimibe/Simvastatin Combination Therapy Compared With Other Intensified Lipid-Lowering Strategies on Lipoprotein Subclasses in Diabetic Patients With Symptomatic Cardiovascular Disease. **J Am Heart Assoc.** 2015; 20; 4(10): e001675.

LEBKUCHEN A. Estudos metabólicos na apneia obstrutiva do sono. Tese (**Doutorado**). Universidade de São Paulo, 2017.

LEWIS DR, KAMISOGLU K, YORK AW, MOGHE PV. Polymerbased therapeutics: nanoassemblies and nanoparticles for management of atherosclerosis. Wiley Interdiscip. **Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.** 2011; 3, 400–420.

LEWIS GD, ASNANI A, GERSZTEN RE. Application of Metabolomics to Cardiovascular Biomarker and Pathway Discovery. **J. Am. Coll. Cardiol.** 2008, 52, 117–123.

LEWIS GD, FARRELL L, WOOD MJ, MARTINOVIC M, ARANY Z, ROWE GC, SHI X. Metabolic signatures of exercise in human plasma. **Science translational medicine** 2010;2(33):33ra37-33ra37.

LIBBY P, RIDKER PM, HANSSON GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. **Nature** 2011; 473,317–325.

LIBBY P, RIDKER PM, MASERI A. Inflammation and atherosclerosis. **Circulation** 2002; 105:1135-1143.

LIBBY P, THEROUX P. Pathophysiology of Coronary Artery Disease. **Circulation.** 2005; 111:3481-88.

LIBBY P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. **Circulation** 2001; 104:365-72.

LIBBY P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. **Am J Clin Nutr** 2006; 83(suppl):456S– 60S.

LIMA LM, CARVALHO MG, LOURES-VALE AA, FERNANDES AP, MOTA APL, FONSECA NETO CP, GARCIA JCF, SAAD JA, SOUZA MO. Níveis plasmáticos elevados de lipoproteína (a) correlacionados com a gravidade da doença arterial coronariana em pacientes submetidos à cineangiocoronariografia. **Arq. Bras. Cardiol.** 2006;87(3):260-266

LIMA LM, CARVALHO MG, SABINO AP, SOUSA MO. Lipoproteína (a) e inibição da fibrinólise na doença arterial coronariana Lipoprotein (a) and fibrinolysis inhibition in coronary artery disease. **Rev. bras. hematol. hemoter.** 2006; 28(1):53-59

LIMA LM. Perfil lipídico e parâmetros hemostáticos em indivíduos submetidos à cineangiocoronariografia coronariana. 103f. Dissertação (**Mestrado**). Faculdade de Farmácia, UFMG, Belo Horizonte, 2005.

LIPPI G, MONTAGNANA M, SALVAGNO GL. Potential value for new diagnostic markers in the early recognition of acute coronary syndromes. **CJEM.** 2006; 8:27-31

LOZANO, R, NAGHAVI M, FOREMAN K, LIM S, SHIBUYA K, ABOYANS V, ABRAHAM J, ADAIR T, AGGARWAL R, MEMISH ZA. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **Lancet** 2012; 380, 2095–2128.

LUC G, BARD JM, ARVEILER D. Lipoprotein (a) as a predictor of coronary artery disease: the PRIME Study. *Atherosclerosis* 2002; 163:377-384.

MAEDA S, ABE A, SEISHIMA M, MAKINO K, NOMA A, KAWADE M. Transient changes of serum lipoprotein(a) as an acute phase protein. *Atherosclerosis* 1989; 78:145-451.

MAHLEY RW, WEISGRABER KH, FARESE RV. Disorders of lipid metabolism. In: Williams textbook of endocrinology, 10th edition. New York: Elsevier Science, 2003; p.1646-52.

MALACHIAS MVB, SOUZA WKS, PLAVNIK FL, RODRIGUES CIS, BRANDÃO AA, NEVES MFT et al. 7ª Diretriz Brasileira de HAS. *Arq Bras Cardiol* 2016; 107(3Supl.3):1-83.

MARCOVINA SM, KOSCHINSKY ML, ALBERTS JJ. Report of The National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop on Lipoprotein (a) and Cardiovascular Disease: recent advances and future directions. **Clin Chem** 2003; 49:1.785-1.796

MARGOLIS JR, GILLUM RF, FEINLEIB M, BRASCH RC, FABSITZ RR. Community surveillance for coronary heart disease: the Framingham Cardiovascular Disease Survey. Methods and preliminary results. **Am J Epidemiol.** 1974; 100(6):425-36.

MARTINELLI N, GIRELLI D, MALERBA G, GUARINI P, THOMAS I, TRABETTI E, SANDRI M, FRISO S, PIZZOLO F, SCHAEFFER L, HEINRICH J, PIGNATTI PF, CORROCHER R, OLIVIERI O. FADS genotypes and desaturase activity estimated by the

ratio of arachidonic acid to linoleic acid are associated with inflammation and coronary artery disease. **Am J Clin Nutr** 2008; 88:941–9.

MAY, A, WANG TJ. Biomarkers for Cardiovascular Disease: Challenges and Future Directions. **Trends Mol. Med.** 2008; 14, 261–267.

MAYO. Mayo Clinic. **Ceramidas de plasma: um novo biomarcador de doença cardiovascular aterosclerótica instável.** 2016.

MCLEAN JW, TOMLINSON JE, KUANG WJ. CDNA sequence of human apolipoprotein (a) is homologous to plasminogen. **Nature** 1987; 330:132-137.

MEIKLE PJ, WONG G, TSOROTES D, BARLOW CK, WEIR JM, CHRISTOPHER MJ. Plasma lipidomic analysis of stable and unstable coronary artery disease. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 2011; 31:2723–32.

MELANDER O, NEWTON-CHEH C, ALMGREN P, HEDBLAD B, BERGLUND G, ENGSTRÖM G, PERSSON M, SMITH JG, MAGNUSSON M, CHRISTENSSON A, STRUCK J, MORGENTHALER NG, BERGMANN A, PENCINA MJ, WANG TJ. Novel and Conventional Biomarkers for Prediction of Incident Cardiovascular Events in the Community. **JAMA** 2009; 302, 49–57.

MENDIS S, PUSKA P, NORRVING B. (Eds) Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control. **World Health Organization** 2011.

MENEGHELO RS, ARAÚJO CGS, STEIN R, MASTROCOLLA LE, ALBUQUERQUE PF, SERRA SM, SBC, Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Teste Ergométrico. **Arq Bras Cardiol.** 2010; 95(5 Supl. 1):1-26. 3.

MILIONIS HJ, WINDER AF, MIKHAILIDIS DP. Lipoprotein (a) and stroke. **J Clin Pathol** 2000; 53:487-496.

MILLER M et al. Triglycerides and Cardiovascular Disease. **Circulation.** 2011; 123(20):2292-2333.

MONTALESCOT G, SECHTEM U, ACHENBACH S, ANDREOTTI F, ARDEN C, BUDAY A. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease. The Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. **Eur Heart J.** 2013; 34(38):2949-3003.

MOTTA VT. **Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações.** 5ª ed. Rio de Janeiro: Med book; 2009;115-136.

NAMAZI G, ASA P, MOVAHEDIAN A, SARRAFZADEGAN N, SADEGHI M, POURFARZAM M. Investigation of membrane fatty acid profiles in erythrocytes of patients with stable coronary artery disease. **Journ al of Clinical Lipido logy**, 2016.

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, 1600–1607.

NORDSTRÖM A, LEWENSOHN R. Metabolomics: moving to the clinic. **Journal of Neuroimmune Pharmacology** 2010; 5(1):4-17.

PAN W et al. Elevation of ceramide and activation of secretory acid sphingomyelinase in patients with acute coronary syndromes. **Coronary artery disease** 2014; 25:3, 230-235.

PARK JY, PAIK JK, KIM OY, CHAE JS, JANG Y, LEE JH. Interactions between the APOA5 -1131T>C and the FEN1 10154G>T polymorphisms on ω 6 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids and coronary artery disease. **Journal of Lipid Research** 2010; 51:3281-88.

PARRA FC, AMADO RC, LAMBERTUCCI JR, ROCHA J, ANTUNES CM., PENA SDJ. Color and genomic ancestry in Brazilians. **PNAS** 2003; 100:177-182

PATEL MR, PETERSON ED, DAI D, BRENNAN JM, REDBERG RF, ANDERSON HV. Low diagnostic yield of elective coronary angiography. **N Engl J Med.** 2010; 362(10):886-95

PATEL S, AHMED S. Emerging field of metabolomics: big promise for cancer biomarker identification and drug discovery. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis** 2015; 107:63-74.

PATI U, PATI N. Lipoprotein (a), atherosclerosis, and apolipoprotein (a) gene polymorphism. **Mol Gen Met** 2000; 71:87-92.

PATTI GJ, YANES O, SIUZDAK G. Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. **Nature reviews Molecular cell biology** 2012; 13(4):263.

PEÑA-DÍAZ A, IZAGUIRRE-AVILA R, ANGLÉS-CANO E. Lipoprotein Lp(a) and atherothrombotic disease. **Arch Med Res** 2000; 31:353-359.

PEREIRA PB et al. Perfil lipídico em escolares de Recife-PE. **Arq Bras Cardiol** 2010; 95:5, 606-13.

PINCUS MR, MCPHERSON RA. **Diagnósticos Clínicos e Tratamento Por Métodos Laboratoriais de Henry**. 21° ed. Barueri, SP, editora Manole. 2012. 1664 p.

POLANCZYK CA, RIBEIRO JP. Coronary artery disease in Brazil: contemporary management and future perspectives. **Heart**. 2009; 95:870-6.

PRYOR DB, HARRELL FE, LEE KL, CALIFF RM, ROSATI RA. Estimating the likelihood of significant coronary artery disease. **Am J Med**. 1983; 75:771-80.

PRYOR DB, SHAW L, MCCANTS CB, et al., Value of the history and physical in identifying patients at increased risk for coronary artery disease. **Ann Intern Med**. 1993; 118:81-90.

PSATY, BM, FURBERG CD, KULLER LH, BORHANI NO, RAUTAHARJU PM, O'LEARY DH, BILD DE, ROBBINS J, FRIED LP, REID C. Isolated systolic hypertension and subclinical cardiovascular disease in the elderly. Initial findings from the Cardiovascular Health Study. **JAMA** 1992; 268, 1287–1291.

PYTEL E, OLSZEWSKA-BANASZCZYK M, KOTER-MICHALAK M, BRONCEL M. Increased oxidative stress and decreased membrane fluidity in erythrocytes of CAD patients. **Biochem. Cell Biol**. 2013; 91:1–4.

QUEHENBERGER O, ARMANDO AM, BROWN AH, MILNE SB, MYERS DS, MERRILL AH, SULLARDS CM. Lipidomics reveals a remarkable diversity of lipids in human plasma. **Journal of lipid research**, 2010; 009449.

RABELO DM et al. Avaliação da eficácia da atenção farmacêutica no tratamento das dislipidemias. **Revista Acadêmica Conecta FASF** 2017; 1:2.

REES A. The apo (a) gene: structure/function relationships and the possible link with thrombotic atheromatous disease. **Br Med Bull** 1990; 46:873-890

RENNINGER W, WENDT GG, NAWROCKI P. Beitrag zur problematik des Lp-systems. **Humangenetik** 1965; 1:658-667.

RHEE EP, GERSZTEN RE. Metabolomics and cardiovascular biomarker discovery. **Clinical chemistry** 2012;58(1):139-147.

RIBEIRO ASS. Índice de dessaturação delta-9 em pacientes com eventos clínicos de doença aterosclerótica. Mestrado (**Dissertação**) - Faculdade de Ciências da Saúde, 2015. 89fls.

RIDKER PM, RIFAI N, ROSE L, BURING JE, COOK NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. **N Engl J Med** 2002; 347:1557-1565.

RIFAI N, RIDKER PM. High-sensitivity C - reactive protein: a novel and promising marker of coronary heart disease. **Clin Chem** 2001; 47:403-411.

RIM L, ALI B, SLIM BA. Lipoprotein (a): a new risk factor for coronary artery disease. **Tunis Med** 2000; 78:648-652

ROBERTS LD, MCCOMBIE G, TITMAN CM, GRIFFIN JL. A matter of fat: an introduction to lipidomic profiling methods. **Journal of Chromatography B** 2008;871(2):174-181.

ROCHA CP, OLIVEIRA LC. Identificação de fatores de risco em família com prevalência da doença arterial coronariana. **Cadernos da Escola de Saúde** 2017; 1(7).

ROGER VL, GO AS, LLOYD-JONES DM, BENJAMIN EJ, BERRY JD, BORDEN WB, BRAVATA DM, DAI S, FORD ES, FOX CS, FULLERTON HJ, GILLESPIE C, TURNER MB; American Heart Association Statistics Committee & Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, 2012; 125(1): e2-e220.

ROSENFELD ME. Macrophage Proliferation in Atherosclerosis: An Historical Perspective. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2014; 34:e21-e22.

ROSS R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. **N Engl J Med**. 1999; 349:115-26.

ROSS R. Mechanisms of disease: atherosclerosis an inflammatory disease. **N Eng J Med** 1999; 340:115-126.

SALVARO RP, ÁVILA JÚNIOR S. Perfil lipídico e a sua relação com fatores de risco cardiovascular em estudantes de nutrição, **Revista da SOCERJ**. 2009;22:5,309-317.

SANTOS PCJL et al. Interferência de medicamentos utilizados nos exames laboratoriais para monitoramento de dislipidemias e Diabetes Mellitus. **Unisanta-Health Science** 2017;1:1, 18-32.

SATO Y, SUZUKI I, NAKAMURA T, BERNIER F, AOSHIMA K, ODA Y. Identification of a new plasma biomarker of Alzheimer's disease using metabolomics technology. **Journal of lipid research** 2012;53(3):567-576.

SBC. Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretrizes de Prevenção da Aterosclerose. **Arq Bras Cardiol** 2001; 77(Supl III):1-48.

SCHMIDT MI, DUNCAN BB, AZEVEDO E SILVA G, MENEZES AM, MONTEIRO CA, BARRETO SM. Chronic noncommunicable diseases in brazil: Burden and current challenges. **Lancet** 2011; 377:1949-61

SELWYN AP, BRAUNWALD E. Isquemic heart disease. **In**: Kasper DL, Braunwald E., Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jamelson JL (Eds). Harrison's: principles of internal medicine. 16th ed.McGraw-Hill, 2004; 1434-44.

SHARRETT AR, BALLANTYNE CM, COADY SA, HEISS G, SORLIE PD, CATELLIER D, PATSCH W, Atherosclerosis Risk in Communities Study Group. Coronary heart disease prediction from lipoprotein cholesterol levels, triglycerides, lipoprotein (a), apolipoproteins A-I and B, and HDL density subfractions. **Circulation** 2001; 104:1108-13.

SILVA AS. Acompanhamento Farmacoterapêutico em Pacientes com Dislipidemia em uso de sinvastatina no Componente Especializado de Assistência Farmacêutica: um estudo piloto; Pernambuco; **Revista Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**; 2013; 34(1):51-57.

SONG J, KWON N, LEE MH, KO YG, LEE JH, KIM OY. Association of serum phospholipid PUFAs with cardiometabolic risk: Benefi cial effect of DHA on the suppression of vascular proliferation/infl ammation. **J. Song et al., / Clinical Biochemistry** 2014: 361–368

SOX HC, HICKAM DH, MARTON KI, et al., Using the patient's history to estimate the probability of coronary artery disease: a comparison of primary care and referral practices. **Am J Med.** 1990; 89:7-14.

STARY HC, CHANDLER AB, DINSMORE RE, FUSTER V, GLAGOV S, INSULL W JR, ROSENFELD ME, SCHWARTZ CJ, WAGNER WD, WISSLER RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Atherosclerosis, American Heart Association. **Arterioscler Thromb Vasc Biol** 1994; 14:840-856.

STOCK J. The emerging role of lipidomics. **Atherosclerosis** 2012; 221(1):38-40.

STRYER L. Biosynthesis of membrane lipids and steroids. **In:** Stryer L, editor. Biochemistry. 4th edition. New York: WH Freeman, 1996, p.697-8.

TARASOV K, EKROOS K, SUONIEMI M, KAUKHANEN D, SYLVÄNNE T, HURME R, MÄRZ W. Molecular lipids identify cardiovascular risk and are efficiently lowered by simvastatin and PCSK9 deficiency. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism** 2014;99(1):E45-E52.

TAVAKOL M, ASHRAF S, BRENER SJ. Risks and Complications of Coronary Angiography: A Comprehensive Review. **Glob. J. Health Sci.** 2012, 4, 65–93.

TEO K, CHOW CK, VAZ M, RANGARAJAN S & YUSUF S. The Prospective Urban Rural Epidemiology (PURE) study: examining the impact of societal influences on chronic noncommunicable disease in low-, middle-, and high-income countries. **Am. Heart J.** 2009; 158, 1–7.

TINA. QuantaApolipoprotein A-1ver.2. **COBAS Integra400/700/800**. Indianapolis: Roche Diagnostics®, 2007. Bula.

TOUSOULIS D, DAVIES G, STEFANADIS C, TOUTOUZAS P, AMBROSE JA. Inflammatory and thrombotic mechanisms in coronary atherosclerosis. **Heart** 2003; 89:993-997.

TUNSTALL-PEDOE H, VANUZZO D, HOBBS M, MÄHÖNEN M, CEPAITIS Z, KUULASMAA K, KEIL U. **Estimation of contribution of changes in coronary care to improving survival, event rates, and coronary heart disease mortality across the WHO MONICA Project populations.** *Lancet*, 2000; 355(9205):688–700.

TRYGLYCERIDES. **Indianapolis:** Roche Diagnostics®, 2008. Bula.

UTERMANN G. The mysteries of lipoprotein(a). **Science** 1989; 8:904-910.

VINAYAVEKHIN N, HOMAN EA, SAGHATELIAN A. Exploring disease through metabolomics. **ACS chemical biology** 2009; 5(1):91-103.

WATERMAN CL, KIAN-KAI C, GRIFFIN JL. Metabolomic strategies to study lipotoxicity in cardiovascular disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids** 2010; 1801(3):230-234.

WATSON AD, GEFFEN D. Lipidomics: A global approach to lipid analysis in biological systems. **J Lipid Res** 2013; 47:2101-11.

WATSON AD. Thematic review series: systems biology approaches to metabolic and cardiovascular disorders. Lipidomics: a global approach to lipid analysis in biological systems. **Journal of lipid Research** 2006; 47(10):2101-2111,.

WHO, World Health Organization (WHO). **Global status report on noncommunicable diseases 2010.** Geneva: WHO; 2011. Disponível em: http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report2010/en/ Acessado em 6 de outubro de 2018.

WHO. World Health Organization. MONICA (Multinational Monitoring of Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Project. Myocardial Infarction and Coronary Death in the World Health Organization MONICA Project. Registration Procedures, Event Rates, and Case-Fatality Rates in 38 Populations from 21 Countries in Four Continents. **Circulation** 1994; 90: 583-612.

WHO. World Health Organization. **Global status report on noncommunicable disease** 2014. Geneva; 2014.

WHO. World Health Organization. **Health systems: improving performance.** Geneva: WHO, 2005.

WHO. World Health Organization. MONICA Project (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease): a major international collaboration. WHO MONICA Project

Principal investigators. **J Clin Epidemiol** 1988, 41 (2): 105-114.

WHO. World Health Organization. **Obesity**: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO; 2000. [WHO Technical Report Series 894].

WHO. World Health Organization. **Obesity**: preventing and managing the global epidemic. Geneva: Program of Nutrition, Family and Reproductive Health; 1998 (Technical Report Series 894).

WHO. World Health Organization. **Physical Status**: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: WHO; 1995. [Technical Report Series no 854].

WHO. World Health Organization. World health statistics 2009. Geneva: World Health Organization. Zabłocka, A., and Janusz, M. 2008. Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych. (Two faces of reactive oxygen species). **Postępy. Hig. Med. Dosw.** 2009; 62: 118–124.

WONG ND. Epidemiological studies of CHD and the evolution of preventive cardiology. **Nat Rev Cardiol.** 2014; 11(5):276–89.

WU KK, FOLSOM AR, HEISS G, DAVIS CE, CONLAN MG, BARNES R. Association of coagulation factors and inhibitors with carotid artery atherosclerosis: early results of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Ann Epidemiol.** 1992;2(4):471-80.

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, 788–795.

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; 364:937–952.

ZEN V. Doença Arterial Coronariana: avaliação através de marcadores não convencionais: Adiponectina de alto peso molecular, VAI e LAP / Vanessa Zen. -- 2015. 167 f. Tese (**Doutorado**) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

APÊNDICES

APÊNDICE A- FICHA - PROTOCOLO

FICHA-PROTOCOLO
PRONTUÁRIONº Data da entrevista: ____/____/____
Nº

I. IDENTIFICAÇÃO	
Nome: _____	Iniciais: _____
Endereço: _____ Telefone: _____	
Data de Nascimento: ____/____/____	Idade: (1) <60 anos(2) >60 anos
II. DADOS SOCIOECONÔMICOS	
1. Cor da pele auto-referida: (1) Branca (2) Negra (3) Amarela (4) Parda	2. Estado Civil: (1) Solteira (2) Casada/ União consensual (3) Desquitada ou separada judicialmente (4) Divorciada (5) Viúva
3. Escolaridade (1) Sem instrução e menos de 1 ano de estudo (2) Ensino fundamental incompleto (3) Ensino fundamental completo	(4) Ensino Médio incompleto (5) Ensino Médio completo (6) Ensino Superior incompleto (7) Ensino Superior completo
4. Ocupação: (1) Empregado (2) Conta própria (3) Trabalhador doméstico (4) Trabalhadores na produção para o próprio consumo	(5) Não remunerado (6) Empregadores (7) Trabalhadores na construção para o próprio uso
5. Renda mensal domiciliar per capita (1) Sem rendimento a $\frac{1}{4}$ (2) Mais de $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ (3) $\frac{1}{2}$ a 1	(4) 1 a 2 (5) 2 a 3 (6) 3 a 5 (7) mais de 5

III. HÁBITOS DE VIDA E SOCIAIS	
6. Tabagismo (1) fuma (2) não fuma	7. Se SIM, qual frequência? (1) 4 a 7 vezes por semana (diariamente ou quase) (2) Até 3 vezes por semana (fins de semana) (3) Eventualmente / raramente
8. Etílista? (1) bebe (2) não bebe	9. Se SIM, qual frequência? (1) 4 a 7 vezes por semana (diariamente ou quase) (2) Até 3 vezes por semana (fins de semana) (3) Eventualmente / raramente
10. Atividade física	11. Se SIM, qual frequência?

(1) sim(2) não	(1) 4 a 7 vezes por semana (2) Até 3 vezes por semana (3) Eventualmente / raramente
IV. ANTECEDENTES PESSOAIS E FAMILIARES	
Pessoais 12. HASP (1) sim(2) não(3) se SIM, grau de parentesco _____ 13. DMP (1) sim(2) não(3) se SIM, grau de parentesco _____ 14. ICOP (1) sim(2) não(3) se SIM, grau de parentesco _____ 15. AVCP (1) sim(2) não(3) se SIM, grau de parentesco _____	Familiares 16. HASF (1) sim(2) não(3) se SIM, grau de parentesco _____ 17. DMF (1) sim(2) não(3) se SIM, grau de parentesco _____ 18. ICOF (1) sim(2) não(3) se SIM, grau de parentesco _____ 19. AVCF (1) sim(2) não(3) se SIM, grau de parentesco _____ 20. Menopausa (1) sim(2) não (3) se SIM, quanto tempo () <5anos () >5anos (4) se NÃO, ciclo menstrual

* HASP – Hipertensão arterial sistêmica prévia; DMP – Diabetes mellitus prévia; ICOP – Insuficiência cardíaca obstrutiva prévia; AVCP – Acidente vascular cerebral prévia; HASF – Hipertensão arterial sistêmica familiar; DMF – Diabetes mellitus familiar; ICOF – Insuficiência cardíaca obstrutiva familiar; AVCF – Acidente vascular cerebral familiar; RCQ – Relação Cintura/ Quadril; IMC – Índice de Massa Corporal † OR: razão de chances; IC: intervalo de confiança; DAC: doença arterial coronariana

V. MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS	
21. IMC Peso (kg): Altura (cm): IMC (kg/ m²): (1) baixo peso (IMC < 18,5 kg/m²) (2) eutrofia (IMC 18,5-24,9 kg/m²) (3) sobrepeso (IMC > 25 kg/m²) (4) obesidade (IMC > 30 kg/m²)	22. RCQ Média da Circ. Quadril (cm): Média da Circ. Abdominal (cm): Razão Circunferência Quadril: CA/Quadril (1) ≤ até 1 - Normal (2) > 1 - Alterado
23. PAS 1ª P.A.S (mmHg) sentado: 2ª P.A.S (mmHg) sentado: Média P.A.S (sentado): (1) < 130 mmHg (2) ≥ 130 mmHg	24. PAD 1ª P.A.D (mmHg) sentado: 2ª P.A.D (mmHg) sentado: Média P.A.D (sentado): (1) < 80 mmHg (2) ≥ 80 mmHg
25. FC _____ bat/min 26. Precórdio: sopro (1) sim (2) não	26. Pulsos arteriais Presente (1) sim (2) não Simétrico (1) sim (2) não

VI. RESULTADOS EXAMES LABORATORIAS	
Glicemia Basal	_____ mg/ dL
Colesterol Total	_____ mg/ dL
CT/HDL	_____ mg/ dL
HDL Colesterol	_____ mg/ dL
LDL Colesterol	_____ mg/ dL
VLDL Colesterol	_____ mg/ dL
Triglicérides	_____ mg/ dL
Relação LDL/HDL	_____ mg/ dL
ApoA	_____ mg/ dL
PCR - us	

*As concentrações de CT, LDL-C, HDL-C e TG são em mg/dl e as da PCR-us.† HDL-C: colesterol da lipoproteína de alta densidade; CT: colesterol total; TG: triglicérides; VLDL-C: colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade; LDL-C: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; PCR-as: proteína C reativa de alta sensibilidade; ApoA – Apolipoproteína A; Circ./Quadril – Relação circunferência do quadril; Proteína C-Reativa de Alta Sensibilidade (PCR-us). ‡ OR: razão de chances; IC: intervalo de confiança; DAC: doença arterial coronariana

ANEXOS

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário (a), em uma pesquisa. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado (a) de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Presidente Dutra, localizado à Rua Barão de Itapary nº 227, Centro. São Luis – MA CEP: 650020-070 Tel: (98) 21091215.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Estudo:

UTILIDADE CLÍNICA DE DIFERENTES MEDIDAS DOS LIPÍDIOS E DE ATIVIDADE INFLAMATÓRIA NA DETECÇÃO DE DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA EM MULHERES.

Este estudo se destina a avaliar os resultados das dosagens bioquímicas citadas e relacionar com o resultado do exame de cateterismo. Este estudo é importante por que vai determinar preventivamente o risco do paciente enfartar, e ser tratado preventivamente. O estudo será iniciado em de 2008 e terminará em Dezembro de 2009.

O estudo será feito da seguinte maneira: Todos os pacientes que foram encaminhados para fazer o exame de cateterismo, conforme solicitação médica e que aceitarem participar do trabalho, será realizada coleta de sangue dos participantes no laboratório do hospital para análise dos níveis de PCR ultrasensível, lipidograma completo e apolipoproteínas A e B, e determinação do perfil lipídico pela técnica da lipidômica, que servirão para determinar o nível das gorduras no sangue e o nível da atividade inflamatória afim de que com esses dados se possa determinar os fatores de risco para doença arterial coronariana.

Existe um pequeno incômodo no momento da coleta do exame, pela picada da agulha. O risco de infecção é desprezível, pois a coleta de sangue será realizada por profissionais habilitados e com materiais descartáveis do próprio hospital. Você contará com a assistência do pesquisador se necessário, em todas as etapas de sua participação no estudo.

Os benefícios que você deverá esperar com a sua participação, mesmo que indiretamente serão: diagnóstico precoce da doença arterial coronariana (DAC) e prognóstico da doença, se presente e encaminhamento para o especialista, para tratamento.

Sempre que você desejar serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo. A qualquer momento, você poderá recusar a continuar participando do estudo e, também, poderá retirar seu consentimento, sem que para isto sofra qualquer penalidade ou prejuízo, ou seja, sem qualquer prejuízo da continuidade do seu acompanhamento médico. Não haverá cobranças em dinheiro assim como os participantes não receberam qualquer quantia em troca da sua participação.

Será garantido o sigilo quanto a sua identificação e das informações obtidas pela sua participação, exceto aos responsáveis pelo estudo, e a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto. Você não será identificada em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Eu, _____, finalmente tendo compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado quanto minha participação

no mencionado estudo e, estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implica, concordo em dele participar e para isso eu dou o meu consentimento sem que tenha sido forçado ou obrigado, podendo ligar para o pesquisador responsável ou para o Comitê de Ética do HU para esclarecer quaisquer dúvidas.

Pesquisador responsável: Prof. Dr. Jose Albuquerque de Figueiredo Neto
CRM- MA 2758

São Luis, ____/____/____

Assinatura do sujeito ou responsável

Endereço do sujeito ou responsável

Em caso de dúvidas, esclarecimentos ou reclamações.

Pesquisador Responsável: Jose Albuquerque de Figueiredo Neto
Rua Engenheiro Rui Mesquita Ed. Dom Gabriel lote 6-7 apto. 402 Ipem Calhau

Comitê de Ética em pesquisa do Hospital Universitário Presidente Dutra:
Rua Barão de Itapary, 227 Centro São Luis-MA CEP – 65020-070 tel. (98) 2109-1250.

ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO

Plataforma Brasil - Ministério da Saúde

Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP/ Hospital São Paulo

PROJETO DE PESQUISA

Título: Utilidade clínica de diferentes medidas dos lipídeos e de atividade inflamatória na detecção de doença arterial coronariana em mulheres.

Pesquisador: Jose Albuquerque de Figueiredo Neto

Versão: 1

Instituição: Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP/ EPM

CAAE: 00573712.1.0000.5505

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 6734

Data da Relatoria: 09/03/2012

Apresentação do Projeto:

Introdução: Investigações realizadas com a determinação dos lipídeos têm como objetivo identificar parâmetros mais sensíveis e específicos para a predição de doença arterial coronariana (DAC). Estudos recentes demonstraram, que a determinação de alterações lipídicas, pela técnica da lipidômica, poderia permitir o diagnóstico de doença arterial coronariana, podendo ser utilizada tanto para o diagnóstico clínico, e como técnica de screening populacional. **Métodos:** Esta pesquisa é parte do projeto de pesquisa intitulado “Utilidade clínica de diferentes medidas dos lipídeos e de atividade inflamatória na detecção de doença arterial coronariana em mulheres”. Realizou-se estudo tipo caso controle, envolvendo 292 pacientes encaminhados ao serviço de hemodinâmica do Hospital Universitário Presidente Dutra (HUUFMA) de São Luis-MA, no período de 10 de abril de 2009 a 31 de julho de 2009. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUUFMA, conforme parecer consubstanciado nº 119/08 de 8 de abril de 2009. Após concordarem em participar da pesquisa, os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), responderam a um questionário onde se avaliou aspectos sociodemográficos, econômicos e fatores de risco para DAC. Coletou-se uma amostra de 10 ml de sangue por punção venosa, para análise dos exames laboratoriais.

Objetivo da Pesquisa:

GERAL: Determinar as características demográficas, clínicas, laboratoriais, resposta inflamatória e perfil lipídico pela técnica da lipidômica, e alterações angiográficas de pacientes submetidos a cineangiocoronariografia para diagnóstico de doença arterial coronariana.

Objetivo Secundário:

ESPECÍFICOS: Determinar o perfil lipídico, utilizando a técnica de lipidômica, em pacientes submetidos a cineangiocoronariografia para detecção de doença arterial coronariana.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os pacientes não foram submetidos a risco adicional posto que a coleta de exames laboratoriais é realizada de forma rotineira nos pacientes submetidos a cineangiocoronariografia.

Benefícios:

Os resultados poderão ajudar a identificar marcadores lipídicos, que estão associados a um maior risco do desenvolvimento de doença arterial coronariana.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa pretende testar a hipótese de que a avaliação dos lipídeos pela técnica de lipidômica, pode auxiliar na identificação de pacientes portadores de doença arterial coronariana.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Recomendações:

Não há recomendações a serem feitas

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O colegiado acata o parecer do relator, encontrando-se o projeto aprovado.

SAO PAULO, 09 de Março de 2012

Assinado por:

José Osmar Medina Pestana

ANEXO C – PARECER CONSUBSTANCIADO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
COMITÊ ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer Nº. **119/08**

Pesquisador (a) Responsável: **José Albuquerque de Figueiredo Neto**

Equipe executora: **Mariana Aquino dos Santos Costa e José Albuquerque de Figueiredo Neto**

Tipo de Pesquisa: **Pós- Graduação.**

Registro do CEP: **509/08** Processo Nº. **5002/2008-50**

Instituição onde será desenvolvido: **Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão HU-UFMA**

Grupo: **III**

Situação: **APROVADO**

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão analisou na sessão do dia **20.03.09** o processo Nº. **5002/2008-50**, referente ao projeto de pesquisa: "Utilidade clínica de diferentes medidas dos lipídios e de atividade inflamatória na detecção de doença arterial coronariana em mulheres", tendo como pesquisador (a) responsável: **José Albuquerque de Figueiredo Neto**, cujo objetivo geral é **"Determinar alterações no perfil lipídico, bem como da atividade inflamatória, em um grupo de indivíduos submetidos a angiografia coronariana, buscando estabelecer a possível correlação entre esses parâmetros e a gravidade da doença arterial coronariana"**.

Tendo apresentado pendências na época de sua primeira avaliação, veio em tempo hábil supri-las adequada e satisfatoriamente de acordo com as exigências das Resoluções que regem esse Comitê. Assim, mediante a importância social e científica que o projeto apresenta a sua aplicabilidade e conformidade com os requisitos éticos, somos de parecer favorável à realização do projeto classificando-o como **APROVADO**, pois o mesmo atende aos requisitos fundamentais da Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEP, inicialmente em 06/07/2009 e ao término do estudo, gravado em CD ROM.

São Luís, 06 de abril de 2009.

João Inácio Lima de Souza
Prof. Dr. João Inácio Lima de Souza

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Universitário da UFMA
Ethica homini habitat est

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão

Rua Barão de Itapary, 227 Centro C.E.P. 65. 020-070 São Luís – Maranhão Tel: (98) 2109-1250

E-mail cep@huufma.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
COMITÊ ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO

Parecer Nº. **119/08**

Pesquisador (a) Responsável: **José Albuquerque de Figueiredo Neto**

Equipe executora: **Mariana Aquino dos Santos Costa e José Albuquerque de Figueiredo Neto**

Tipo de Pesquisa: **Pós- Graduação.**

Registro do CEP: **509/08** Processo Nº. **5002/2008-50**

Instituição onde será desenvolvido: **Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão HU-UFMA**

Grupo: **III**

Situação: **APROVADO**

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão analisou na sessão do dia **20.03.09** o processo Nº. **5002/2008-50**, referente ao projeto de pesquisa: "Utilidade clínica de diferentes medidas dos lipídios e de atividade inflamatória na detecção de doença arterial coronariana em mulheres", tendo como pesquisador (a) responsável: **José Albuquerque de Figueiredo Neto**, cujo objetivo geral é "Determinar alterações no perfil lipídico, bem como da atividade inflamatória, em um grupo de indivíduos submetidos a angiografia coronariana, buscando estabelecer a possível correlação entre esses parâmetros e a gravidade da doença arterial coronariana".

Tendo apresentado pendências na época de sua primeira avaliação, veio em tempo hábil supri-las adequada e satisfatoriamente de acordo com as exigências das Resoluções que regem esse Comitê. Assim, mediante a importância social e científica que o projeto apresenta a sua aplicabilidade e conformidade com os requisitos éticos, somos de parecer favorável à realização do projeto classificando-o como **APROVADO**, pois o mesmo atende aos requisitos fundamentais da Resolução 196/96 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Relatórios parciais e finais devem ser apresentados ao CEP, inicialmente em 06/07/2009 e ao término do estudo, gravado em CD ROM.

São Luís, 06 de abril de 2009.

João Inácio Lima de Souza
Prof. Dr. João Inácio Lima de Souza

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Universitário da UFMA
Ethica homini habitat est

Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão

Rua Barão de Itapary, 227 Centro C.E.P. 65. 020-070 São Luís – Maranhão Tel: (98) 2109-1250

E-mail cep@huufma.br