



UNIVERSIDADE DO ALGARVE  
Faculdade de Ciências e Tecnologia  
Departamento de Química e Farmácia

# **A Lesão Endotelial como Alvo Terapêutico na Doença Cardíaca Isquémica**

Jorge Correia dos Santos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da  
Professora Doutora Mónica Sofia Leal Condinho

2017



UNIVERSIDADE DO ALGARVE  
Faculdade de Ciências e Tecnologia  
Departamento de Química e Farmácia

# **A Lesão Endotelial como Alvo Terapêutico na Doença Cardíaca Isquémica**

Jorge Correia dos Santos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Ciências Farmacêuticas

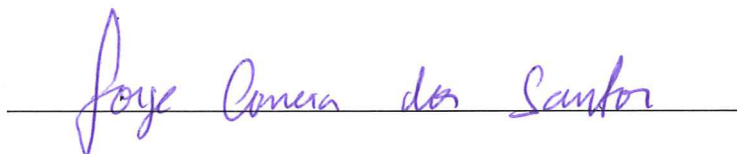
Trabalho efetuado sob a orientação da  
Professora Doutora Mónica Sofia Leal Condinho

2017

## **A Lesão Endotelial como Alvo Terapêutico na Doença Cardíaca Isquémica**

### **Declaração de autoria de trabalho**

Declaro ser o autor deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.



*Copyright* Jorge Correia dos Santos

*A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho, através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.*

## **Agradecimentos**

A elaboração desta dissertação representa o culminar de um extenso percurso académico que não teria sido realizado sem o apoio absoluto de diversas pessoas. Dito isto, chegou o momento de escrever algumas palavras a quem contribuiu diretamente para a conclusão desta longa jornada.

Em primeiro lugar, quero deixar o maior e mais sincero agradecimento à minha orientadora, a Professora Doutora Mónica Sofia Leal Condinho, que prontamente se disponibilizou para nortear este trabalho, tendo demonstrado sempre uma dedicação incomensurável. Não consigo imaginar-me a terminar esta dissertação sem o seu apoio, motivação e profissionalismo ímpar.

À professora Doutora Isabel Ramalinho, pela dedicação e trabalho incansável efetuado em proveito dos alunos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Algarve.

À Universidade do Algarve e ao Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas por me terem proporcionado um estudo individualizado e diferenciador, baseado numa relação de proximidade entre o aluno e a instituição, a qual considero insubstituível.

Um especial agradecimento às equipas de trabalho que encontrei no Centro Hospitalar do Algarve – Hospital de Faro e na Farmácia Comunitária Crespo Santos, por me terem facultado uma oportunidade de estágio curricular na companhia de um grupo profissional e comprometido com a minha formação.

Aos meus colegas de curso e amigos mais próximos com quem tive o privilégio de partilhar um período muito especial. Os incontáveis momentos e aventuras passados serão guardados, afetuosamente, num lugar especial entre as minhas melhores memórias.

Por último, um especial agradecimento à Catarina e à minha família, por me terem moldado na pessoa que sou hoje. Sem vocês, nada disto teria sido possível.

## **Resumo**

A Doença Cardíaca Isquêmica (DCI), manifestada nas suas várias formas é a principal causa de morte no mundo, com especial incidência nos países industrializados, apresentando-se como um dos principais problemas de saúde global da atualidade. A DCI é uma condição clínica em que se verifica um fornecimento inadequado de sangue e oxigénio a uma parte do tecido do miocárdio. A lesão endotelial adquire especial importância, ao assumir-se como a principal causa fisiopatológica da DCI, tendo por base um conjunto variado de mecanismos fisiopatológicos. A aterosclerose da aorta e dos seus ramos principais, destaca-se pela importância no processo de doença, e é desenvolvida em resultado de uma resposta ao dano crónico, repetitivo e multifatorial da parede arterial, com acentuada componente fibroproliferativa.

A procura de uma melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos nas diferentes fases de desenvolvimento da doença tem estimulado a comunidade científica a identificar e investigar novos alvos terapêuticos capazes de diminuir os graves índices epidemiológicos da DCI, dos quais fazem parte as novas moléculas inibidoras da biossíntese de colesterol e os anticorpos monoclonais. Este trabalho pretende incidir, especialmente sobre duas vertentes: (i) elucidar acerca dos mecanismos envolvidos na lesão endotelial, e (ii) interetar essa informação com as terapêuticas farmacológicas presentemente disponíveis e outras em desenvolvimento.

Considerando que os mecanismos inflamatórios desempenham uma função preponderante no processo fisiopatológico da instabilidade da placa aterosclerótica coronária e posteriores complicações trombóticas, esta revisão monográfica é complementada com um capítulo que pretende realçar a importância dos biomarcadores inflamatórios, nomeadamente, as suas aplicações no contexto da DCI. Paralelamente à associação identificada entre a proteína C reativa de alta sensibilidade e o risco de morbimortalidade cardiovascular entre doentes de elevado risco cardiovascular e/ou com DCI comprovada, encontram-se novos biomarcadores inflamatórios, como as citocinas e moléculas de adesão celular, entre outros.

**Palavras-chave:** Doença Cardíaca Isquêmica, Lesão Endotelial, Aterosclerose, Alvos Terapêuticos, Biomarcadores Inflamatórios.

## **Abstract**

Ischemic heart disease, in its various forms, is the leading cause of death in the world, with special incidence in the industrialized countries, meaning one of the main problems of nowadays global health. It is a clinical condition in which an inadequate supply of blood and oxygen reaches part of the myocardial tissue. The endothelial lesion becomes especially important as the main cause of ischemic heart disease, under a varied set of pathophysiological mechanisms. The atherosclerosis of the aorta and its main branches stands out for its importance in the disease process, and is developed due to a response to multifactorial, repetitive and chronic damage of the arterial wall, with an accentuated fibroproliferative component.

The search for a better understanding of the pathophysiological mechanisms involved in the different phases of disease development has stimulated the scientific community to identify and investigate new therapeutic targets capable of reducing the serious epidemiological indexes of ischemic heart disease, including the new molecules inhibiting the biosynthesis of cholesterol and monoclonal antibodies. This work aims to focus on two aspects in particular: (i) to elucidate the mechanisms involved in endothelial injury, and (ii) to intersect this information with presently available pharmacological therapeutics and those still in development.

Considering that inflammatory mechanisms play a greater role in the pathophysiological process of coronary atherosclerotic plaque instability and later thrombotic complications, this monographic revision is complemented with a chapter that aims to highlight the importance of inflammatory biomarkers, namely their applications in the context of ischemic heart disease. Parallel to the identified association between the high-sensitivity C-reactive protein and the risk of cardiovascular morbidity and mortality among patients at high cardiovascular risk and/or with proven ischemic heart disease, new inflammatory biomarkers can be found, like cytokines and cell adhesion molecules, among others.

**Keywords:** Ischemic Heart Disease, Endothelial Lesion, Atherosclerosis, Therapeutic Targets, Inflammatory Biomarkers.

**Índice Geral**

<b>Índice de Figuras .....</b>	<b>vii</b>
<b>Índice de Quadros.....</b>	<b>viii</b>
<b>1 - Anatomofisiologia Cardiovascular .....</b>	<b>1</b>
1.2 – Estrutura Vascular Arterial .....	4
<b>2 – Fisiopatologia da Doença Cardíaca Isquêmica e da Lesão Endotelial .....</b>	<b>6</b>
2.1 – Notas Históricas e Definição .....	6
2.2 – Dados Epidemiológicos .....	8
2.3 – Fatores de Risco.....	11
2.3.1 – Cálculo do Risco Cardiovascular .....	12
2.4 – A Lesão Endotelial como Mecanismo Fisiopatológico da DCI .....	13
2.4.1 – Aterosclerose – A Hipótese da Resposta à Lesão .....	15
2.4.2 – Classificação Patológica da Aterosclerose e a Lesão Inicial.....	16
2.4.3 – Retenção Lipídica e Ativação Celular.....	17
2.4.4 – Recrutamento Leucocitário .....	20
2.4.5 – Evolução da Placa Aterosclerótica.....	22
2.4.5.1 – Placa Estável.....	24
2.4.5.2 – Placa Instável.....	25
2.4.6 – Óxido Nítrico e a Disfunção Endotelial .....	26
<b>3 – A Lesão Endotelial como Alvo Terapêutico .....</b>	<b>29</b>
3.1 – Estatinas - Inibidores Competitivos da Enzima 3-hidroxi-3metilglutaril-coenzima A Redutase.....	29
3.1.1 – Classificação, Mecanismo de Ação e Segurança .....	31
3.1.1.1 – Segurança das Estatinas.....	33
3.1.2 – Efeitos Pleiotrópicos das Estatinas.....	34
3.2 – Inibidores da Adenosina Trifosfato Citrato Liase - Ácido Bempedóico .....	36
3.3 – Inibidores da Pró-proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9 .....	38
3.4 – Terapêuticas do colesterol HDL .....	40
3.4.1 – Inibidores da Proteína de Transferência de Colesterol Esterificado .....	41
3.4.2 – Infusão de Agentes HDL.....	42
3.5 – Ácidos Gordos Ômega-3 .....	43
3.6 – Imunomoduladores - A Inflamação como Alvo Terapêutico .....	45
3.7 – Antioxidantes .....	47

<b>4 – Biomarcadores Inflamatórios de Instabilidade da Placa Aterosclerótica Coronária .....</b>	<b>51</b>
4.1 – Proteína C-reativa.....	52
4.2 – Moléculas de Adesão .....	54
4.3 – Citocinas.....	55
4.4 – Outros Marcadores .....	56
<b>5 – Perspetiva Crítica do Autor.....</b>	<b>58</b>
<b>6 – Conclusão .....</b>	<b>61</b>
<b>7 - Referências Bibliográficas .....</b>	<b>64</b>
<b>8 - Anexos .....</b>	<b>71</b>

## **Índice de Figuras**

<b>Figura 1.1</b> – Sistema cardiovascular.....	1
<b>Figura 1.2</b> – Circulação coronária..	3
<b>Figura 2.1</b> – Taxa de mortalidade prematura por DCI na região Europeia, últimos dados reportados (2006-2010). .....	10
<b>Figura 2.2</b> – Ativação endotelial por infiltração de LDL. ....	19
<b>Figura 2.3</b> – Infiltração dos linfócitos T na inflamação da placa. ....	21
<b>Figura 2.4</b> – Óxido nítrico derivado do endotélio. ....	27
<b>Figura 3.1</b> – Potenciais mecanismos de estabilização da placa através de uma terapêutica com estatinas.. .....	34
<b>Figura 4.1</b> – Associação entre os níveis de PCR e a incidência de ECM.....	54

## **Índice de Quadros**

<b>Quadro 2.1</b> – Principais causas da isquemia do miocárdio.....	13
<b>Quadro 2.2</b> – Classificação patológica das lesões ateroscleróticas.....	16
<b>Quadro 3.1</b> – Redução dos valores de LDL (%) em relação às diferentes doses (mg) de estatinas.....	31

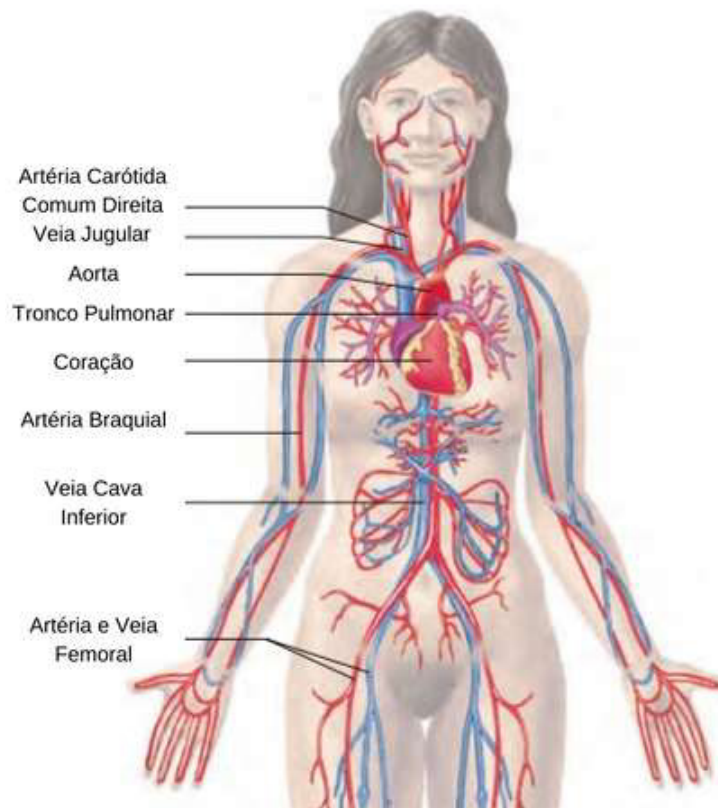
## **Lista de Abreviaturas**

<b>ACAT1</b>	Acil-coenzima A: colesterol aciltransferase
<b>ACL</b>	Adenosina trifosfato citrato liase
<b>AcM</b>	Anticorpos monoclonais
<b>AMPK</b>	Adenosina monofosfato proteína quinase
<b>APC</b>	Célula apresentadora de antígeno
<b>Apo(A)</b>	Apolipoproteína A
<b>Apo(A1)</b>	Apolipoproteína A1
<b>CD4+/Th</b>	Linfócitos T <i>helper</i>
<b>CE</b>	Colesterol esterificado
<b>CETP</b>	Proteína de transferência do colesterol esterificado
<b>CL</b>	Colesterol livre
<b>DCI</b>	Doença cardíaca isquémica
<b>DCV</b>	Doença cardiovascular
<b>DHA</b>	Ácido docosa-hexaenóico
<b>DM</b>	Diabetes mellitus
<b>EAM</b>	Enfarte agudo do miocárdio
<b>EAMcST</b>	Enfarte agudo do miocárdio com supra desnivelamento do segmento ST
<b>ECM</b>	Eventos coronários <i>major</i>
<b>eNOS</b>	Enzima óxido nítrico sintetase
<b>EPA</b>	Ácido eicosapentaenóico
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>FHS</b>	<i>Framingham heart study</i>
<b>GM-CSF</b>	Fator estimulante de colónias dos macrófagos granulócitos
<b>HDL</b>	Lipoproteína de alta densidade
<b>HDL-C</b>	Colesterol HDL
<b>HMG-CoA</b>	Enzima 3-hidroxi-3metilglutaril-coenzima A redutase
<b>hsPCR</b>	Proteína C reativa de alta sensibilidade
<b>ICAM</b>	Moléculas de adesão intercelular

<b>iCETP</b>	Inibidores da proteína de transferência de colesterol esterificado
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferão-gama
<b>IL</b>	Interleucina
<b>LDL</b>	Lipoproteína de baixa densidade
<b>LDL-C</b>	Colesterol LDL
<b>LDLR</b>	Recetores LDL
<b>Lp(a)</b>	Lipoproteína(a)
<b>Lp-PLA2</b>	Fosfolipase A2 associada à lipoproteína
<b>MMP</b>	Metaloproteinases
<b>MPO</b>	Mieloperoxidase
<b>NC</b>	Núcleo lipídico necrótico
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>NOS</b>	Espécies reativas de azoto
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>oxLDL</b>	Lipoproteínas de baixa densidade oxidadas
<b>PCR</b>	Proteína C reativa
<b>PCSK9</b>	Pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9
<b>PUFA</b>	Ácidos gordos polinsaturados
<b>RCV</b>	Risco cardiovascular
<b>RE</b>	Retículo endoplasmático
<b>ROS</b>	Espécies reativas de oxigénio
<b>SCA</b>	Síndromes coronárias agudas
<b>SCORE</b>	<i>Systematic coronary risk evaluation</i>
<b>SMCs</b>	Células musculares lisas
<b>TCFA</b>	Fibroateroma de capa fina
<b>TG</b>	Triglicerídeos
<b>TLR</b>	Recetores <i>toll-like</i>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral alfa
<b>VCAM</b>	Moléculas de adesão vascular
<b>VLDL-C</b>	Colesterol das lipoproteínas de muito baixa densidade

## 1 - Anatomofisiologia Cardiovascular

O coração é o órgão central da circulação. Comumente caracterizado como uma bomba que se contrai vigorosamente para permitir o transporte de sangue através dos vasos sanguíneos pelo corpo humano, é a sua contração mecânica a responsável pelo débito cardíaco do qual depende a integridade da circulação sanguínea. O sistema cardiovascular resulta do funcionamento integrado destes três elementos – coração, sangue e vasos sanguíneos (1).



**Figura 1.1 – Sistema cardiovascular.** Adaptado de (1).

A parede cardíaca é constituída por uma massa contráctil, o miocárdio (que constitui até 95% da totalidade desta parede), revestido internamente por uma membrana fina, o endocárdio e envolvido por um saco fibroso, o pericárdio. Está localizado na porção mediana da cavidade torácica entre a face mediastínica dos dois pulmões, numa região denominada de mediastino anterior (2).

O coração humano é notavelmente eficiente, duradouro e fiável, capaz de bombear mais de 6000 litros de sangue por dia e de bater mais de 40 milhões de vezes num ano,

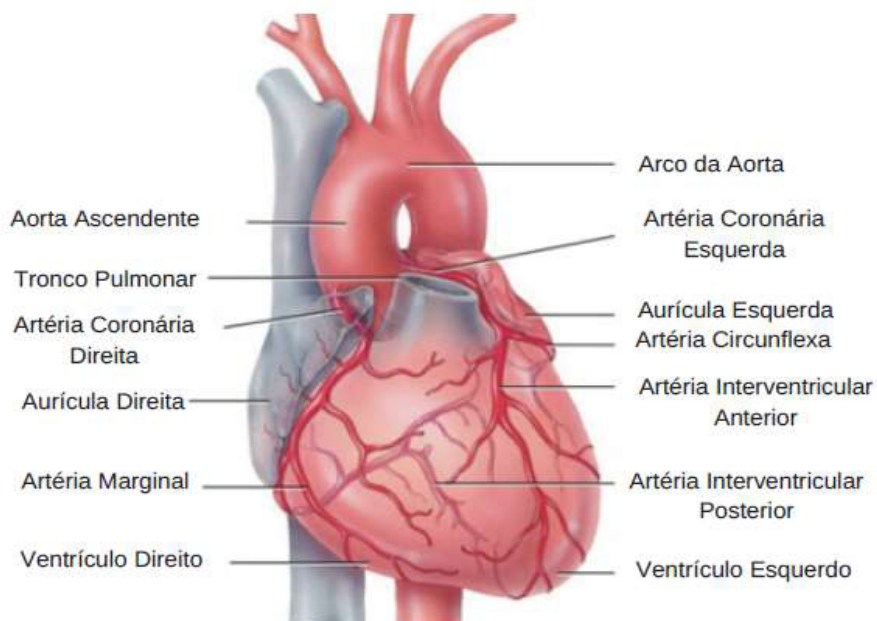
pelo que é necessário assegurar aos seus tecidos uma fonte estável de nutrientes vitais e ainda de facilitar a eliminação dos produtos de excreção (3).

O fornecimento eficaz de sangue aos tecidos do corpo humano pelo coração requer uma função normalizada de todos os seus componentes essenciais, dos quais estão incluídos o miocárdio e a circulação arterial coronária. A contração das câmaras cardíacas é conseguida pelo músculo cardíaco, composto primariamente por células musculares especializadas denominadas por miócitos cardíacos. Estas células alongadas e ramificadas, contêm um ou ocasionalmente dois núcleos localizados no seu centro e a unidade básica estrutural e funcional da contração do músculo, o sarcómero, resulta de um arranjo organizado de miofilamentos compostos principalmente por actina, miosina e proteínas reguladoras de que são exemplo a troponina e a tropomiosina. A organização do miocárdio consiste em feixes de fibras de músculo cardíaco entrelaçados e dispostos em espiral em torno da circunferência do coração. Quando as fibras musculares passam pelo processo de contração, sofrem um encurtamento dos sarcómeros ocorrendo ainda uma torção dos feixes ao longo da sua disposição em espiral, o que permite uma melhor compressão do conteúdo das câmaras cardíacas e resulta na otimização do volume sistólico de ejeção (1,4).

Para corresponder às elevadas necessidades energéticas do músculo cardíaco (espesso na parede cardíaca e muito ativo a nível metabólico), os miócitos - células especializadas que possuem um elevado número de mitocôndrias - dependem quase exclusivamente da fosforilação oxidativa, o que os torna extremamente vulneráveis à isquemia pelas quantidades de oxigénio requeridas.

Uma fonte constante de sangue arterial é essencial para a manutenção de uma função cardíaca saudável. A maior parte do tecido do miocárdio depende dos nutrientes e do oxigénio que é fornecido por um sistema de circulação exclusivo, mediado pelas duas artérias coronárias. Estas artérias têm origem nos respetivos óstios situados na base da aorta, ao nível do bordo das válvulas semilunares aórticas, inicialmente ao longo da superfície externa do coração (artérias coronárias epicárdicas) e penetrando depois no miocárdio (artérias intramurais) onde dão origem a arteríolas que resultam ultimamente numa rede bastante desenvolvida de capilares que envolvem individualmente as células musculares cardíacas (3).

De referir a existência de variações anatómicas interindividuais frequentes, nomeadamente a nível da origem e percurso dos diferentes ramos das artérias coronárias com impacto direto implícito nos territórios vasculares e no respetivo padrão de distribuição arterial, assumindo grande importância na prática clínica (3).



**Figura 1.2 – Circulação coronária.** Geralmente, a artéria coronária esquerda origina dois ramos: a artéria circunflexa e a interventricular anterior. Por outro lado, a artéria coronária direita origina a artéria interventricular posterior e a marginal direita. Estas apresentam-se como um sistema único onde a maior parte da perfusão do miocárdio ocorre durante a diástole. Ou seja, quando as artérias não estão ocluídas pelas cúspides valvulares e a microcirculação não se encontra comprimida pela contração muscular. Adaptado de (5).

Uma perfusão cardíaca inadequada (isquemia), constitui um dos principais fatores causador de lesão cardíaca e, em última análise, de doença cardiovascular (DCV). O conceito de fornecimento de sangue arterial aos tecidos, consoante as suas diferentes necessidades metabólicas, torna-se essencial para o entendimento da fisiopatologia da isquemia do miocárdio e por conseguinte, do conjunto das manifestações clínicas que possam advir desta entidade fisiopatológica.

Neste sentido, a manutenção da integridade estrutural e funcional não só do sistema de circulação coronária como também da aorta e dos seus ramos principais, assume uma função nuclear na preservação das funções biológicas inerentes ao sistema cardiovascular e na manutenção da homeostase individual com resultados que se refletem no estado de saúde.

## 1.2 – Estrutura Vascular Arterial

Os vasos sanguíneos constituem a principal estrutura de ligação entre o coração e os tecidos. Sendo parte integrante do sistema circulatório, asseguram o transporte de sangue pelo corpo e desempenham um papel importante em inúmeras patologias, das quais se destacam as patologias com origem isquémica no tecido cardíaco. Os vasos sanguíneos dividem-se em artérias, arteríolas, capilares, vénulas e veias, dependendo do seu tamanho, localização e função (2,5).

A parede de um vaso sanguíneo consiste em três camadas ou túnicas concêntricas constituídas por tecidos diferentes: um revestimento interno endotelial (tecido epitelial pavimentoso simples que reveste os sistemas linfáticos e circulatório), uma camada média constituída por músculo liso e tecido conjuntivo elástico e um revestimento externo de tecido conjuntivo. As camadas estruturais de um vaso sanguíneo compreendem a túnica interna ou íntima, a túnica média e a túnica externa ou adventícia. As modificações ao nível da arquitetura básica das camadas resultam nos vários tipos de vasos sanguíneos e nas diferenças funcionais e estruturais entre eles (5).

A túnica íntima forma o revestimento interno de um vaso sanguíneo, estando em contacto direto com o sangue que circula no lúmen. O endotélio, constituído por uma lâmina fina de células achatadas que reveste a face interna de todo o sistema circulatório, promove um ambiente protetor da função vascular. As células endoteliais desempenham funções em inúmeras ações vasculares, incluindo entre outras, regulação mecânica do fluxo sanguíneo, secreção de mediadores moleculares que influenciam o tónus vascular e alteração da permeabilidade capilar. A túnica íntima é ainda composta por uma membrana basal profunda ao endotélio que fornece uma base de suporte para a camada epitelial subjacente e por uma lâmina elástica interna que forma o limite com a túnica média (1,5).

A túnica média caracteriza-se por uma lâmina composta por tecido conjuntivo e muscular, apresentando variações entre os diferentes tipos de vasos. Relativamente espessa, é composta basicamente por elementos de sustentação e contráteis (células musculares lisas [SMCs], que se estendem de forma circular em torno do lúmen e quantidades variáveis de fibras elásticas e fibras de colagénio). A túnica adventícia é composta de tecido conjuntivo denso, rico em fibras e contém inúmeros nervos e pequenos vasos (*vasa vasorum*) responsáveis pela nutrição dos tecidos constitutivos das paredes vasculares (1,5).

Em condições fisiológicas, as artérias apresentam uma elevada complacência, o que significa que as paredes arteriais possuem elevada capacidade de distensão e expansão (variável de acordo com as características conferidas pela diferente composição dos vasos) em resposta a pequenos aumentos de pressão e outros estímulos. As artérias de grande calibre ou artérias elásticas são as maiores artérias do corpo humano, possuem um diâmetro variável e paredes relativamente finas que representam um décimo do diâmetro total do vaso. Estas artérias caracterizam-se por lâminas elásticas bem definidas e por uma túnica média espessa. Quando comparadas com outras artérias, a maior porção da parede arterial é composta por tecido elástico e uma pequena porção de músculo liso, o que previne uma queda abrupta da pressão sanguínea e a manutenção do fluxo sanguíneo (reco elástico) quando os ventrículos estão relaxados (1,5).

As artérias musculares incluem as artérias de pequeno e médio calibre e são relativamente espessas em relação ao seu diâmetro. A maior parte da espessura das paredes destas artérias resulta das SMCs existentes na túnica média. As artérias musculares são frequentemente chamadas de artérias de distribuição porque o tecido muscular liso permite uma maior regulação do fluxo sanguíneo. A constrição e o relaxamento do músculo liso dos vasos sanguíneos intervêm de forma perentória na regulação dinâmica do fluxo sanguíneo (1).

No contexto etiológico das doenças cardíacas de origem isquémica é igualmente importante mencionar o conceito de circulação colateral. A união dos ramos de duas ou mais artérias que suprem uma mesma região do corpo é chamada de anastomose, formando trajetórias alternativas que permitem ao sangue atingir igualmente um determinado tecido ou órgão. Se o fluxo sanguíneo for, momentaneamente, interrompido (mecanismos próprios da homeostasia cardiovascular ou ação de algum mecanismo fisiopatológico), a circulação para uma parte específica do corpo permanece assegurada na hipótese de existirem alternativas estabelecidas. Este percurso de circulação alternativo por ação de uma anastomose é conhecido como circulação colateral. No contexto da circulação coronária, a existência de circulação colateral desempenha uma conhecida função na preservação da contratilidade do músculo cardíaco, sendo frequentemente, um fator diferenciador do resultado final de um evento coronário ao limitar a extensão da necrose tecidual (5).

## 2 – Fisiopatologia da Doença Cardíaca Isquémica e da Lesão Endotelial

### 2.1 – Notas Históricas e Definição

É difícil estimar em que momento da história o ser humano começou a perceber que era atingido por um conjunto de doenças que afetavam o coração e os vasos sanguíneos. Através de uma pequena exposição de acontecimentos históricos relacionados com as origens da doença cardíaca isquémica (DCI), é possível observar pela evolução de conceitos, descrições clínicas e prognósticos, como esta doença acompanha a humanidade desde a sua origem.

A descoberta da aterosclerose entre indivíduos dos povos que habitavam diferentes regiões do globo, desde a antiguidade pré-clássica, constituiu um dos primeiros exemplos de que as DCV apresentavam incidência no ser humano da antiguidade. Com recurso a técnicas especializadas, foram observados processos de calcificação vascular (um processo fisiopatológico correlacionado com a aterosclerose) em tecidos vasculares remanescentes de corpos mumificados, cujas amostras são representativas de diferentes culturas e períodos da história do Homem (6).

Estudos semelhantes permitiram perceber o quão universal foi esta entidade patológica e afirmar que as DCV, manifestadas neste contexto por sinais de aterosclerose são tão antigas como a própria humanidade (7). Apesar da universalidade desta manifestação patológica, só na segunda metade do milénio passado é que a investigação começou a encarar esta situação como objeto de estudo. Perto do final do século XVI, Gabriele Fallopio escreveu sobre uma “degeneração das artérias em osso” sendo que estas artérias “ossificadas” eram frequentemente observadas pelos anatomistas da época (8). No ano de 1740, Johann Friedrich afirmou que o endurecimento das artérias coronárias derivava do pus e não do osso e quinze anos mais tarde, em 1755, von Haller terá sido o primeiro a identificar tais lesões como “ateroma”, um termo de etimologia grega (do grego *athere*) que significa sopa, por remeter para uma matéria de característica pastosa (9,10).

As primeiras referências históricas de que a sensação de dor manifestada no peito com irradiação para os membros superiores, caracterizada por aperto no tórax e acompanhada de ansiedade ou medo de morte estariam associadas a uma doença que afetava o coração, são encontradas na antiga literatura egípcia e romana. O termo “Angina

de Peito” surge adequadamente descrito em 1772, por William Haberdén que associava a sua etiologia a complicações fisiológicas que se manifestavam pela alteração da circulação sanguínea normalizada, mais concretamente a nível da circulação coronária. Em 1809, Allan Burns propôs uma teoria onde indicava que a isquemia do miocárdio seria a causa da Angina de Peito, tendo previsto a importância de uma perfusão adequada de sangue arterial ao miocárdio para uma função cardíaca normal. Mais tarde, em 1815 Hodgson, apoiou a teoria proposta por Burns e destacou a relevância da circulação colateral em situações de aterosclerose das principais artérias, apesar do conceito de DCI ainda não ter sido estabelecido. Posteriormente, William Osler, terá sido um dos primeiros a indicar que a Angina se tratava de uma síndrome ao invés de uma doença propriamente dita (11).

Em 1912 a base patológica do Enfarte Agudo do Miocárdio (EAM) e as suas respetivas características clínicas foram identificadas por James Herrick ao correlacionar o conceito com a obstrução das artérias coronárias e, indicando que uma variação do local da lesão seria responsável por provocar uma diferença significativa na manifestação do sintoma (11,12).

Todas as descrições históricas dos diferentes períodos temporais acima referidos (entre outras, onde a confusão entre os principais aspetos da Angina de Peito e do Enfarte eram frequentes) acabaram por contribuir para a atual caracterização e definição destas síndromes, as quais constituem a base do entendimento da DCI (11).

No grupo das DCV, caracterizadas por afetarem o coração e/ou os vasos sanguíneos, integra-se a DCI, também designada por doença arterial coronária. A DCI é uma condição clínica em que se verifica um fornecimento inadequado de sangue e oxigénio a uma parte do tecido do miocárdio e ocorre sempre que está instalado um desequilíbrio entre as necessidades de oxigenação do músculo cardíaco e a respetiva perfusão sanguínea (13). A situação de isquemia do miocárdio pode resultar, direta ou indiretamente, em lesão cardíaca. Tem como mecanismo fisiopatológico mais comum a aterosclerose das artérias coronárias, desenvolvida em resultado de uma resposta fisiológica ao dano crónico, repetitivo e multifatorial da parede arterial, com assinalada componente inflamatória (14).

A DCI apresenta-se, geralmente, na forma de uma ou mais das seguintes manifestações clínicas (13):

- Síndromes Coronárias Agudas (SCA):
  - i. Angina Instável;
  - ii. EAM, é a forma mais importante de DCI, onde a isquemia provoca necrose do tecido muscular cardíaco (EAM sem supradesnivelamento do segmento ST e EAM com supradesnivelamento do segmento ST - EAMcST);
  - iii. Morte Súbita.
- Síndromes de Carácter Crónico:
  - iv. Angina de Peito. A gravidade da isquemia é insuficiente para provocar um enfarte. Constitui, no entanto, um prognóstico de EAM;
  - v. DCI crónica associada a Insuficiência Cardíaca.

## 2.2 – Dados Epidemiológicos

Como para qualquer doença, os estudos epidemiológicos associados à DCI desempenham um papel essencial no melhor entendimento da mesma e em especial, dos fatores que predis põem para o seu desenvolvimento.

Antes de serem apresentados alguns dados epidemiológicos relativos à DCI, é necessário referir que as estimativas do impacto da doença, na maior parte das regiões do mundo são baseadas em projeções grosseiras visto que os registos credíveis de morbidade e mortalidade apenas cobrem uma determinada parte da população mundial, e a informação existente sobre mortalidade e saúde das populações é ainda, frequentemente, fragmentada e inconsistente em muitas destas zonas do mundo (15).

A DCI manifestada nas suas várias formas é a principal causa de morte no mundo, com especial incidência nos países industrializados (15). Nos Estados Unidos da América (EUA), segundo o *National Center for Health Statistics* (2014), uma em cada sete mortes deveu-se exclusivamente à DCI. É estimado que todos os anos, 660 mil americanos sofram um novo evento coronário (definido como uma primeira hospitalização por EAM ou morte por DCI), 305 mil sejam alvo de um evento coronário recorrente, que 160 mil EAM sejam silenciosos e que um evento coronário seja responsável pela morte de um americano a cada 84 segundos (16,17).

Dados ainda referentes a este país indicam que 16,5 milhões de habitantes com idade igual ou superior a 20 anos sofrem com DCI, sendo a prevalência maior no género masculino. O custo económico direto (médico) e indireto (associado maioritariamente a produtividade perdida) relacionados com a DCI em 2012 e 2013 (média anual) foi de 199,6 mil milhões de dólares. Entre 2013 e 2030, está projetado que os encargos médicos associados à DCI dupliquem (17,18).

As DCV estão a adquirir cada vez mais um carácter global, no qual países em desenvolvimento experienciam uma transição epidemiológica, onde o padrão de mortalidade elevada devido a doenças infectocontagiosas, complicações associadas à maternidade (e/ou período perinatal) e deficiências nutricionais é substituído pelo incremento das doenças crónicas e degenerativas tendencialmente manifestadas em idades mais avançadas (19).

Os números até aqui indicados devem ser encarados com preocupação, no entanto os mesmos apresentam uma melhoria em relação aos números que prevaleciam no passado. Desde o pico de mortalidade atingido na década de 60, a taxa de mortalidade por DCI caiu quase para metade nos EUA. Este fenómeno resultou, primariamente, da prevenção (alcançada por uma intervenção em resposta aos conhecidos fatores de risco) e do progresso a nível do diagnóstico e da terapêutica, os quais permitiram tratamentos mais efetivos e seguros bem como uma intervenção clínica atempada (precoce) na doença. Contudo, continuar esta tendência positiva no século XXI constitui um desafio face ao envelhecimento da população e ao quadro epidémico da obesidade, entre outros fatores (3).

Na Europa [compreendida pelo conjunto dos 53 estados membros da região europeia da Organização Mundial de Saúde (OMS) e não pelos 28 estados membros da União Europeia], a realidade em termos qualitativos tende a ser bastante semelhante quando comparada à verificada nos EUA. A principal causa de morte é igualmente a DCI, seguida pelas doenças cerebrovasculares. Em conjunto, são responsáveis por 35% da totalidade dos óbitos (20). Os dados mais recentes indicam que uma em cada cinco mortes é causada pela DCI, sendo responsável pela morte de 1,8 milhões de habitantes na região europeia, dos quais 680 mil óbitos foram verificados na UE. Enquanto a mortalidade prematura por DCI nos países do ocidente europeu tem vindo gradualmente a decrescer, a mesma taxa tem vindo a diminuir a um ritmo menos acentuado, estando mesmo

estagnada ou apresentando um aumento ligeiro em determinados países do leste da Europa (20-22). É possível sublinhar ainda que a epidemiologia da DCI, em concordância com o que acontece em relação às DCV, é dependente da idade, género e da distribuição dos principais determinantes em saúde (20).



**Figura 2.1 – Taxa de mortalidade prematura por DCI na região Europeia, últimos dados reportados (2006-2010).** As taxas de mortalidade para as doenças do sistema cardiovascular variam largamente entre países da região europeia. A média para a região europeia relativa à taxa de mortalidade prematura por DCI assume o valor de 47,5 óbitos por 100 000 habitantes. Esta taxa, quando avaliada individualmente por país, pode atingir valores até cinco vezes mais elevados no género masculino quando comparado ao género feminino. Adaptado de (20).

No que diz respeito a Portugal, verifica-se um quadro epidemiológico semelhante ao observado nos países ocidentais da região europeia. O decréscimo gradual das DCV acompanha a tendência dos anos passados, permanecendo ainda, como principal causa de mortalidade. O peso representado pelas doenças do aparelho circulatório atingiu pela primeira vez, no ano de 2013 um valor inferior a 30% da taxa de mortalidade total. Os dados mais recentes, referentes também ao ano de 2013, indicam que as mortes no continente português por DCI atingiram os 6 500 óbitos, dos quais 4 300 respeitantes a morte por EAM (23).

Curiosamente, a taxa de mortalidade padronizada por doenças cerebrovasculares (54,6 óbitos por 100 000 habitantes) em Portugal é superior à taxa de mortalidade padronizada por DCI (32,9 óbitos por 100 000 habitantes). Esta realidade é inversa à verificada na quase totalidade dos países europeus, não estando as razões desta situação devidamente identificadas (23).

### 2.3 – Fatores de Risco

Define-se fatores de risco como uma característica ou um traço de um indivíduo ou população que está, precocemente, presente na vida e que se associa ao risco aumentado de desenvolver uma doença futura. O seu entendimento é um ponto de partida nuclear para diminuir as probabilidades individuais de desenvolvimento de doença, proceder nas fases mais precoces do seu desenvolvimento ou impedir a sua progressão para quadros de consequências mais gravosas. Enquadrar este aspeto na DCI revela-se importante na medida em que os diferentes fatores de risco apresentam uma componente de ação sinérgica e a exposição de um ou mais fatores de risco *major* é comum entre os indivíduos que desenvolvem a doença. Tal implica uma abordagem multifatorial na previsão do risco global. Com base neste aspeto, quando são analisados e avaliados os diferentes fatores de risco associados a um indivíduo, deve ser sempre considerada esta perspetiva multifatorial, na medida em que a probabilidade de combinação de fatores de risco é superior ao desenvolvimento acentuado de um fator isolado. Assim, o impacto real destes no sujeito depende, frequentemente, do quadro geral dos fatores de risco que lhe estão inerentes. É importante referir, neste contexto, que os doentes com DCI podem não manifestar quaisquer sinais ou sintomas até que ocorra um evento coronário na forma de EAM ou de morte súbita. (16,24).

Estão identificados como principais fatores de risco: os hábitos tabágicos, a dislipidemia, a hipertensão arterial, os fatores psicológicos e o *stress* psicossocial, o sedentarismo, o excesso de peso e a obesidade, a diabetes mellitus (DM) e os fatores de carácter inalterável onde se incluem a história familiar de DCI, o género e a idade. Quando analisamos os fatores de risco numa perspetiva de integração com o indivíduo, é possível observar que as duas determinantes causais mais preponderantes para o desenvolvimento da doença estão, intrinsecamente, relacionadas com o ambiente e com o padrão comportamental individual, para além dos fatores genéticos e epigenéticos (24).

Atualmente, um terço das mortes por DCI são derivadas do tabagismo e/ou exposição ao fumo ambiental do tabaco, o que faz dos hábitos tabágicos um dos três fatores de risco coronário clássicos, identificados no *Framingham Heart Study* (FHS) e em outros conhecidos estudos de coorte prospetivos (13,25).

A estimativa do risco da DCI e de outros eventos cardiovasculares assume-se como um campo de investigação dinâmico que tem como objetivo fornecer diferentes

dados e ferramentas úteis na diminuição da incidência e prevalência de eventos isquêmicos cardíacos, com o intuito final da redução da morbimortalidade por DCI (26).

### 2.3.1 – Cálculo do Risco Cardiovascular

As relações causais entre os conhecidos elementos envolvidos no processo patogénico e as DCV encontram-se associadas por um grau de incerteza que pode ser interpretado através de uma correspondência probabilística, designada por risco. Todas as diretrizes atuais sobre a prevenção da DCV na prática clínica recomendam a avaliação do risco cardiovascular (RCV) global (27).

A intervenção terapêutica individual deve ser adaptada ao RCV total na medida em, que quanto maior for o valor de risco, mais intensiva deverá ser a intervenção. A necessidade de proceder à avaliação do RCV tem como fundamentação o carácter multifatorial das DCV e o produto da relação sinérgica, dinâmica e exponencial entre os vários fatores de risco. O cálculo do RCV através dos fatores de risco individuais permite estratificar os doentes consoante os valores obtidos. Este procedimento possibilita a definição de prioridades na prevenção cardiovascular e auxilia os profissionais de saúde na decisão e gestão do risco, através do recurso a medidas modificadoras do estilo de vida e da instituição de terapêutica farmacológica. Os objetivos e a intensidade do tratamento devem ser planificados em função do RCV, seguindo a aplicação de uma terapêutica personalizada a cada doente (28).

O RCV é calculado recorrendo a algoritmos matemáticos obtidos através de estudos epidemiológicos de grande dimensão e potência estatística. Representam uma forma objetiva de determinar a probabilidade da ocorrência de um evento cardiovascular (fatal ou não fatal, consoante o sistema em questão) ao longo de um determinado intervalo de tempo. O resultado do cálculo é traduzido em escalas de RCV, as quais constituem ferramentas essenciais na prática clínica. Não obstante, a aplicação de sistemas de avaliação de risco deve ser clinicamente avaliada tendo em consideração que a sua aplicabilidade é dependente de diferentes variáveis associadas ao doente.

Estão disponíveis vários sistemas de avaliação do RCV a 10 anos, dos quais se destacam o *Framingham* e a escala SCORE (*Systematic Coronary Risk Evaluation*), entre outros de que são exemplo o ASSIGN, Q-RISK, PROCAM, CUORE, *Arriba* e *Globorisk*. Na prática, a maioria dos sistemas de estimativa de risco apresenta resultados muito semelhantes quando aplicados a populações reconhecidamente comparáveis em relação

ao original do estudo. Desde 2003, as diretrizes europeias sobre a prevenção das DCV na prática clínica recomendam a utilização do algoritmo de risco SCORE, desenvolvido pelas entidades científicas europeias relacionadas com a prevenção cardiovascular (27).

#### 2.4 – A Lesão Endotelial como Mecanismo Fisiopatológico da DCI

A investigação e o progresso técnico-científico que se tem verificado nas últimas décadas tem contribuído, transversalmente, para o melhor conhecimento sobre a patogénese da DCI. Tal esteve na base da revolução do seu tratamento (marcado pelo aparecimento de opções terapêuticas mais efetivas) e da melhoria do estado de saúde dos doentes, com repercussões diretas na diminuição dos números associados à mortalidade por esta doença (14,28-30).

Sendo a DCI uma condição resultante da interação entre alterações fisiopatológicas nas artérias coronárias e do miocárdio, numa perspetiva clínica, pode manifestar-se na forma de SCA ou síndromes de carácter crónico (ver seção 2.1).

Para abordar, de forma conveniente, as opções terapêuticas existentes e o racional inerente a uma utilização correta e ajustada das diferentes estratégias e esquemas terapêuticos, é necessário entender, primeiramente, os mecanismos fisiopatológicos subjacentes ao aparecimento e desenvolvimento da doença. A isquemia de uma determinada região do miocárdio resulta de um cenário etiológico complexo e multifatorial como indicado no quadro abaixo (Quadro 2.1).

**Quadro 2.1 – Principais causas da isquemia do miocárdio.** Adaptado de (31).

<b>A)</b> Diminuição da Perfusão do Miocárdio pelas Artérias Coronárias (Obstrução Mecânica)	Ateroma Arterite Coronária Trombose Espasmo Embolia Estenose do(s) óstio(s) coronário(s)
<b>B)</b> Diminuição do Suprimento de Sangue Arterial do Miocárdio	Anemia Carboxihemoglobina aumentada Hipotensão.
<b>C)</b> Aumento das Necessidades de Oxigénio	Aumento do débito cardíaco ( <i>e.g.</i> Hipertiroidismo) Hipertrofia do Miocárdio

Neste contexto de multiplicidade de fenômenos etiológicos associados a isquemia do miocárdio, a lesão endotelial adquire especial importância ao assumir-se como a principal causa fisiopatológica da DCI. Tendo por base um conjunto variado de mecanismos arterioscleróticos, destaca-se, pela importância no processo de doença, a aterosclerose (especialmente das artérias coronárias). A aterosclerose, surge em regiões de maior suscetibilidade a lesão, como resposta a um dano (e/ou perante perda de função das células endoteliais) repetitivo, multifatorial e continuado no tempo, que compreende uma cascata inflamatória e oxidativa com acumulação de lípidos e tecido fibroso nas paredes dos vasos.

A disfunção das células endoteliais (disfunção endotelial) é um termo da medicina cardiovascular tipicamente utilizado para referir anomalias na produção e/ou biodisponibilidade do óxido nítrico (NO), também chamado monóxido de azoto, derivado do endotélio e subsequentes alterações perniciosas na reatividade vascular. No propósito desta monografia, o termo disfunção endotelial almeja englobar as alterações mais preponderantes no fenótipo funcional das células endoteliais, que estão diretamente relacionadas com o desenvolvimento aterosclerótico.

O conceito de arteriosclerose (palavra de origem grega) que significa literalmente, “endurecimento das artérias” corresponde a um termo genérico que se refere ao espessamento da parede arterial associado a perda de elasticidade. De uma maneira geral, a arteriosclerose pode manifestar-se sob a forma de três modelos padronizados de lesão que apresentam diferenças nas respectivas consequências clínicas e patológicas (3,32).

- Arteriolosclerose: Processo de espessamento das arteríolas constituídas por uma ou duas camadas de SMCs na túnica média com capacidade de provocar lesões isquêmicas. A lesão apresenta 2 subtipos (variações hialinas ou hiperplásticas) relacionados entre si, mas histologicamente distintos;
- Arteriosclerose de Monckeberg: caracterizada por um processo de calcificação arterial que segundo o autor (Monckeberg), envolvia apenas a túnica média das artérias e as lesões não invadiam o lúmen do vaso. Esta lesão de caráter idiopático ou associado a DM e/ou insuficiência renal, geralmente não possui significado clínico e afeta na maior parte dos casos, indivíduos com mais de 50 anos. Atualmente já se estabeleceu que a camada íntima das artérias também está envolvida no processo de lesão;

- Aterosclerose: a forma mais frequente e modelo de lesão clinicamente mais relevante. Afeta as artérias elásticas e musculares, sendo a placa de ateroma a lesão característica.

Os assuntos que serão, posteriormente, abordados neste capítulo, fazem referência aos diversos mecanismos de lesão endotelial com especial ocorrência nas artérias coronárias e com relevância para o desenvolvimento da DCI. É de salientar que outros mecanismos de lesão endotelial cuja etiologia subjacente compreenda alterações congênitas ou adquiridas (de que constituem exemplos, o aneurisma ou a dissecação vascular), traumatismos mecânicos, vasculites, infecções bacterianas, entre outros capazes de provocar (in)diretamente lesão endotelial, sem relevância no contexto patológico e principalmente terapêutico desta doença, não serão abordados nesta revisão monográfica. Esta monografia tem como principal objetivo identificar e explicitar os principais processos envolvidos na lesão endotelial com significado clínico na DCI, considerando este fenómeno como alvo terapêutico farmacológico de suma importância.

#### 2.4.1 – Aterosclerose – A Hipótese da Resposta à Lesão

O conceito clássico que interpretava a aterosclerose como uma desordem metabólica, essencialmente baseada na alteração bioquímica inequívoca do perfil lipídico com manifestada deposição de lípidos na parede das artérias, constituiu, no passado, a sua base etiológica principal. Não estando esta interpretação completamente errada, a história natural da aterogénese ultrapassa largamente o exclusivo envolvimento da dislipidemia.

A interligação dos distúrbios lipídicos com a disfunção vascular durante a aterogénese e subseqüentes manifestações clínicas estão associadas a uma fisiopatologia muito mais complexa quando comparada a uma visão simplista fundamentada na deposição de matéria e detritos celulares nos vasos arteriais (31,33).

Diversos fatores como as alterações hemodinâmicas (*e.g.* tensão de cisalhamento), desequilíbrios bioquímicos (*e.g.* dislipidemia, DM), resposta imunitária, existência de processos inflamatórios associados e diversos determinantes genéticos, contribuem para uma lesão endotelial que assume um papel etiológico nuclear na aterogénese. A função endotelial, antes desconhecida, tem adquirido relevância crescente, interpretando as artérias como sistemas vivos dinâmicos e fisiologicamente muito participativos. Do

mesmo modo, é agora conhecida a relação entre a progressão aterosclerótica e os mais diversos mecanismos inflamatórios associados a eventos isquémicos cardíacos.

A visão contemporânea de que o processo fisiopatológico da aterosclerose se desenvolve em virtude da lesão endotelial provocada por um conjunto diversificado de agentes (*response-to-injury hypothesis*) foi proposto por Russel Ross, no ano de 1973. Este modelo teórico de “resposta à lesão” que integra as diferentes variáveis etiológicas numa entidade provocatória de dano endotelial, constitui a base do entendimento atual sobre a patogénese da aterosclerose (31,34-36).

A aterosclerose coronária é, presentemente, entendida como uma resposta inflamatória crónica, multifatorial e marcada por uma forte componente fibroproliferativa. Esta resposta é caracterizada, inicialmente, pela acumulação de lípidos, macrófagos e aglomerados de SMCs na camada íntima das artérias epicardíacas de média e grande dimensão (3,31,37).

#### 2.4.2 – Classificação Patológica da Aterosclerose e a Lesão Inicial

A aterosclerose, pela sua qualidade progressiva, encontra-se caracterizada tendo em consideração as diferentes fases do desenvolvimento da placa ateromatosa. A classificação patológica destas lesões apresenta-se no quadro seguinte (Quadro 2.2).

**Quadro 2.2 – Classificação patológica das lesões ateroscleróticas.** Adaptado de (38).

Classificação Histológica das Lesões		Termos Adicionais (Observação macroscópica)	
Tipo I	Macrófagos espumosos isolados	Estria gordurosa	Lesão inicial
Tipo II	Múltiplas camadas de células espumosas		
Tipo III	Pré-ateroma, lesão intermédia	-----	Lesão avançada, lesão ampliada
Tipo IV	Ateroma	Placa fibrolipídica, placa fibrosa	
Tipo V	Fibroateroma		
Tipo VI	Lesão fissurada, ulcerada, hemorrágica ou trombótica	Lesão complicada	
Tipo VII	Lesão calcificada	Lesão calcificada	
Tipo VIII	Lesão fibrótica	-----	

A lesão inicial aterosclerótica é compreendida pela formação de estrias gordurosas, ou estrias lipídicas (do inglês, *fatty streaks*) que precedem as formas

ateromatosas associadas a uma fase mais avançada da doença. Estas lesões primárias, características da aterosclerose, ao contrário do que é frequentemente considerado, apresentam prevalência significativa na população jovem. Este tipo de lesão apresenta sempre um caráter assintomático e demonstra capacidade de progressão para quadros de lesão mais graves ou de regressão, podendo, eventualmente, desaparecer (39).

A estria gordurosa resulta na acumulação subendotelial de macrófagos que contêm elevadas quantidades de lípidos armazenados no citoplasma. Os macrófagos carregados de lípidos são, frequentemente, referidos por células espumosas (do inglês, *foam cells*) devido à sua aparência sugestiva após observação microscópica. As células espumosas estão presentes em todas as fases da aterosclerose, participam nas respostas inflamatórias e na remodelação tecidual da camada íntima arterial. Este modelo de lesão é facilmente identificado nos tecidos vasculares pela observação macroscópica de áreas de descoloração amarelada na superfície da íntima (40,41).

#### 2.4.3 – Retenção Lipídica e Ativação Celular

A acumulação lipídica no espaço intersticial requer uma fonte de lípidos e não resulta simplesmente do aumento da permeabilidade do endotélio. O seu depósito nos tecidos dos vasos sanguíneos está fortemente associado a uma elevação dos valores lipídicos plasmáticos, particularmente em relação aos valores aumentados de colesterol.

A infiltração e retenção de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) na camada íntima inicia uma resposta inflamatória na parede arterial. As moléculas de LDL podem sofrer modificações químicas através de processos oxidativos por ação de espécies reativas de oxigénio (ROS, do inglês *reactive oxygen species*) geradas na parede arterial dos locais de inflamação, dando origem a lipoproteínas de baixa densidade oxidadas (oxLDL). As moléculas de LDL podem ainda ser alvo de modificação através de mecanismos de glicação não enzimáticos (particularmente observada em doentes com DM), ativação vascular celular, ou ainda, por ataque enzimático. Estas alterações químicas produzem moléculas como hidroperóxidos, e outros produtos de degradação de ácidos gordos e fosfolípidos com capacidade para ativar as células endoteliais, preferencialmente em locais de elevada tensão hemodinâmica (13,42).

O contributo das modificações moleculares ao nível do LDL aumenta extensamente a sua absorção pelos macrófagos. A internalização de moléculas

extracelulares de oxLDL é efetuada por mecanismos de endocitose celular (fagocitose e pinocitose) através de interação molecular que envolve os recetores de membrana sendo este passo fundamental na diferenciação dos macrófagos em células espumosas. Os macrófagos expressam recetores *scavenger* específicos para as oxLDL o que permite uma ingestão aumentada destas moléculas (33). O equilíbrio entre o influxo de colesterol, a sua esterificação e libertação são necessários para evitar uma sobrecarga lipídica no interior dos macrófagos e em último caso para evitar o desenvolvimento ateromatoso.

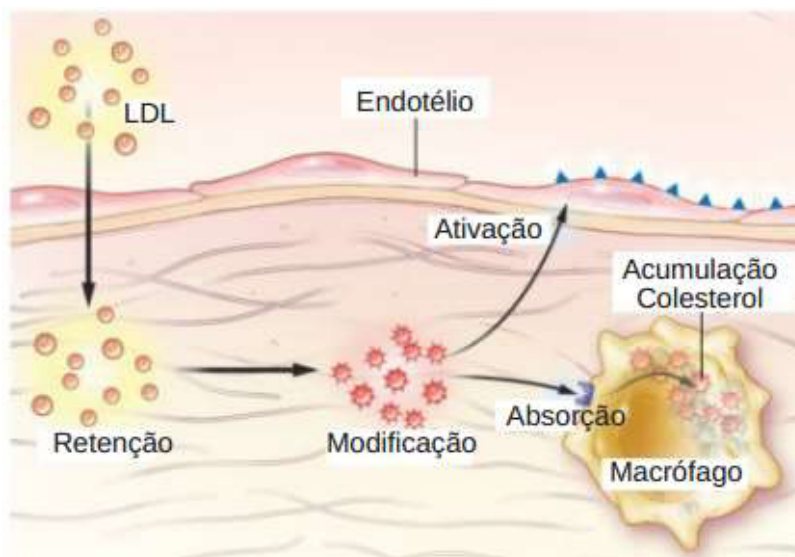
Quando o colesterol derivado da absorção de partículas de oxLDL não é eliminado numa determinada extensão, promove-se a sua acumulação na forma de gotículas lipídicas citoplasmáticas. Os macrófagos ativados libertam citocinas (proteínas libertadas pelas células imunitárias), protéases, *ROS*, espécies reativas azoto (*NOS*) citotóxicas e outras substâncias pró-inflamatórias para o meio extracelular capazes de provocar dano tecidular e induzir morte celular que acabam, colateralmente, por afetar o endotélio.

Tal como a captação de colesterol, o equilíbrio dinâmico entre as quantidades de colesterol livre (CL) e colesterol esterificado (CE) apresentam-se críticos para a regulação do conteúdo de colesterol intracelular nos macrófagos esponjosos. Após internalização das moléculas de LDL no lisossoma tardio, o CE é degradado em CL por ação da lipase ácida lisossomal. Para evitar a toxicidade celular associada ao CL libertado, é acionado um mecanismo regulatório mediado por duas enzimas existentes no retículo endoplasmático (RE). As moléculas de CL sofrem nova esterificação por ação enzimática da acil-coenzima A: colesterol aciltransferase 1 (ACAT1) e os produtos são armazenados em gotículas lipídicas citoplasmáticas. A ocorrência persistente deste processo estimula a acumulação excessiva de colesterol esterificado nos macrófagos resultando numa primeira resposta fisiológica manifestada pela conversão das populações de macrófagos em células espumosas (38,40,41).

O CE resultante da nova esterificação enzimática é hidrolisado através da enzima colesterol éster hidrólase neutra para eliminar o CL intracelular por transportadores de efluxo, sendo este passo reconhecido como o fator limitante da velocidade de saída do CL das células. Este ciclo envolvente da esterificação e hidrólise de moléculas lipídicas é determinante na homeostasia do colesterol intracelular e altamente dependente do funcionamento enzimático (40,41).

O primeiro passo do transporte inverso do colesterol dos tecidos periféricos para o fígado consiste no efluxo de colesterol. O colesterol acumulado pelos macrófagos é removido através de transportadores transmembranares ou por outros mecanismos (tal como a difusão passiva), sendo posteriormente captados pelas lipoproteínas de alta densidade (HDL). O transporte ativo através dos transportadores ABC (ABCA1, ABCG1 e SR-BI) é o principal responsável pelo efluxo de colesterol em grandes quantidades para aceitadores extracelulares. Para compreendermos como estes mecanismos são importantes na fisiopatologia da aterosclerose, uma conhecida alteração genética no transportador ABCA1 encontra-se na base da doença de Tangier (padrão autossômico recessivo). Esta condição é caracterizada pela acentuada redução quantitativa de HDL, responsável pelo aumento de células espumosas em diversos tecidos com respetivo aumento da suscetibilidade do desenvolvimento da aterosclerose e alta incidência de complicações cardiovasculares e neuropáticas (40,41).

Em adição, os padrões hemodinâmicos típicos associados aos segmentos mais propensos ao desenvolvimento aterosclerótico provocam um aumento da expressão de moléculas de adesão e genes inflamatórios pelas células endoteliais. Este fator em conjunto com a acumulação lipídica é responsável pela potenciação da resposta inflamatória arterial inicial, através da ativação das células endoteliais. (33,39,42).



**Figura 2.2 – Ativação endotelial por infiltração de LDL.** Particularmente em doentes com hipercolesterolemia, o excesso de LDL é retido na camada íntima arterial. Modificações oxidativas e enzimáticas provocam a formação de lípidos pró-inflamatórios que induzem a expressão de moléculas de adesão leucocitária pelas células endoteliais. A internalização dos lípidos modificados, pelos macrófagos é responsável pela sua transformação em células espumosas. Adaptado de (39).

As células endoteliais ativadas, expressam diversos tipos de moléculas de adesão leucocitária (selectinas), as quais fazem com que as células presentes no sangue, quando em contacto com a superfície vascular (processo de “rolamento”), adiram ao endotélio no local de ativação. Neste mecanismo estão envolvidas moléculas de adesão específicas do endotélio, como as moléculas de adesão intercelular 1 e 2 (ICAM-1 e ICAM-2) e a molécula de adesão vascular celular 1 (VCAM-1). Como as VCAM-1 estão tipicamente aumentadas em resposta à hipercolesterolemia, as células que expressam recetores para estas moléculas (monócitos e linfócitos) aderem seletivamente nos locais propensos a lesão. Após a interação célula-recetor, são produzidas quimiocinas que estimulam a migração celular através das junções endoteliais para o espaço subendotelial (39,42).

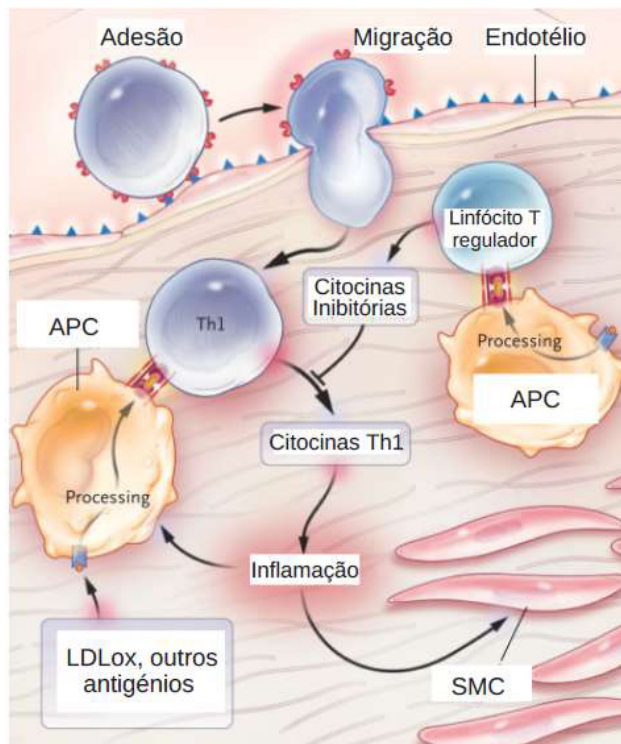
As variações genéticas associadas aos genes codificadores de proteínas que controlam o metabolismo de colesterol e outros lípidos podem alterar significativamente a propensão individual de desenvolvimento aterosclerótico. Por exemplo, as variações genéticas pró-aterogénese que alteram os genes codificadores dos recetores LDL (LDLR), da apolipoproteína A (Apo(A)) e da apolipoproteína E resultam em valores aumentados de LDL em circulação (42).

#### 2.4.4 – Recrutamento Leucocitário

As citocinas são moléculas quimiotáticas de grande importância para a resposta inflamatória vascular na aterosclerose. Produzidas na camada íntima, no local de lesão conjuntamente com o fator estimulante de colónias dos macrófagos granulócitos (GM-CSF, do inglês *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) induzem a migração de monócitos para o espaço subendotelial onde se diferenciam em macrófagos. Este passo é crucial para a instalação de mecanismos ateroscleróticos e é regulado positivamente pela expressão dos recetores de reconhecimento padrão que incluem os recetores *scavenger* e *toll-like* (TLR – do inglês *Toll-like receptors*) (43).

A acumulação de leucócitos caracteriza a formação de lesões ateroscleróticas incipientes. Os tipos de células inflamatórias geralmente encontrados na lesão inicial são macrófagos derivados dos monócitos e linfócitos e desempenham um papel nuclear na formação do ateroma. A infiltração de linfócitos T (Figura 2.3) é uma característica que está sempre presente em lesões ateroscleróticas. Este processo é predominantemente representado pelas populações de linfócitos T *helper* (CD4<sup>+</sup> ou Th) que reconhecem antígenos apresentados pelas moléculas de classe II do complexo *major* de

histocompatibilidade (MHC). Quando os recetores dos linfócitos T antígeno-específicos são ativados, é iniciada uma cascata produtora de citocinas, moléculas de superfície celular e enzimas que promovem uma resposta dos linfócitos T *helper* (subtipo Th1) com produção do interferão-gama (IFN- $\gamma$ ), uma citocina ativadora de macrófagos (39).



**Figura 2.3 – Infiltração dos linfócitos T na inflamação da placa.** As células apresentadoras de antígenos (APC) desencadeiam a ativação de células T antígeno-específicas na parede arterial. Os linfócitos Th1 produzem citocinas (*e.g* interferão- $\gamma$ ) responsáveis pela ativação de macrófagos e outras células em função da resposta inflamatória. Os linfócitos T reguladores intervêm neste mecanismo através da produção de citocinas anti-inflamatórias (como a IL-10 e fator de transformação do crescimento  $\beta$ ). O desequilíbrio entre fatores pró e anti-inflamatórios vai determinar a progressão da lesão. Adaptado de (39).

O IFN- $\gamma$  aumenta a eficiência da apresentação de antígenos e a síntese do fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e de interleucina 1 (IL-1), citocinas que atuam conjuntamente para induzir a produção de diversas moléculas citotóxicas e inflamatórias por parte de outras células (macrófagos, fibroblastos e células endoteliais).

As citocinas produzidas pelos linfócitos T (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1) provocam a produção de elevadas quantidades de moléculas da cascata de citocinas. Estas citocinas também são produzidas em vários tecidos em resposta à infecção e no tecido adiposo de pacientes com síndrome metabólica. Como resultado, podem ser detetadas concentrações elevadas de proteínas de fase aguda como a IL-6 e proteína C reativa (e ainda de amiloide sérico e fibrinogénio especialmente no fígado) na circulação periférica. Nesta perspetiva,

a ativação de um número limitado de células imunitárias pode despoletar uma potente cascata inflamatória, tanto na lesão em formação como a nível sistémico.

Estas fontes de citocinas pró-inflamatórias com potencial de ativação de células vasculares e dos subtipos leucocitários demonstram um crescente interesse clínico. A perspectiva futura do desenvolvimento de marcadores inflamatórios úteis na análise de lesões ateroscleróticas exacerbadas, como é o caso de placas extremamente instáveis e em risco iminente de rutura, desnudamento ou hemorragia, encontra especial aplicação na DCI. Sabe-se, atualmente, que um grande número de indivíduos assintomáticos está em risco de sofrer uma SCA ou outra manifestação cardíaca isquêmica por alteração do comportamento da placa aterosclerótica. À luz desta evidência, a tentativa de identificar estes indivíduos com recurso a marcadores biológicos tem-se assumido, cada vez mais, como uma área de desenvolvimento científico com bastante potencial (ver seção 4).

#### 2.4.5 – Evolução da Placa Aterosclerótica

A estria gordurosa precede frequentemente o desenvolvimento de uma placa aterosclerótica avançada, contudo nem todas progredem para a formação de ateromas complexos. Como referido anteriormente, a acumulação lipídica, a ativação endotelial, a inflamação e a proliferação das SMCs conduzem a um universo de reações positivamente reguladas, conhecidas como a força motriz do crescimento da placa aterosclerótica. É o equilíbrio particular entre os processos regulatórios da evolução da placa (atividade celular e vias metabólicas) em diferentes locais anatómicos que vai determinar as consequências clínicas exatas (42).

A evolução da placa de ateroma acontece ao longo de uma linha temporal de acontecimentos dinâmica e extremamente variável, face à sua interdependência com inúmeros fatores. As relações entre o estado da placa e as síndromes cardíacas isquémicas estão atualmente bem estabelecidas, pelo que é importante compreender em que medida a evolução da placa compromete a fisiologia do sistema cardiovascular (13).

Em relação aos processos envolvidos na progressão da placa, à medida que os macrófagos espumosos libertam citocinas pró-inflamatórias tais como o TNF- $\alpha$  e a IL-1, é promovido o recrutamento e proliferação de SMCs e fibroblastos (através da produção local de fatores de crescimento, incluído formas de fator de crescimento derivado de plaquetas e fatores de crescimento dos fibroblastos). Estas entidades celulares segregam

elevadas quantidades de matriz extracelular que inclui, entre outros, colagénio e proteoglicanos. Um passo fundamental na transição das estrias gordurosas para uma placa aterosclerótica mais avançada é a acumulação desta matriz extracelular em conjugação com uma deposição lipídica também extracelular (13,42).

Inicialmente, os lípidos da matriz infiltram-se entre as SMCs da camada íntima e ao longo da progressão da lesão, tendem a coalescer e a formar aglomerados lipídicos de grandes dimensões, responsáveis pela génese do núcleo do ateroma. Estes núcleos são ainda constituídos por moléculas de LDL diretamente depositadas, material resultante da apoptose celular e tecidos necróticos, sendo referido como núcleo lipídico necrótico (NC, do inglês *necrotic lipidic core*).

Ao longo da evolução das lesões ateroscleróticas, desenvolvem-se plexos abundantes de microvasos com origem nos *vasa vasorum* arteriais. As redes microvasculares recém-desenvolvidas podem contribuir de várias formas para complicações da lesão. Os vasos sanguíneos formados constituem uma extensa área de superfície que permite a livre circulação de leucócitos e moléculas inflamatórias preponderantes. Em adição, as placas ateroscleróticas mostram frequentemente sinais de hemorragia (fibrina e hemossiderina), reforçando a teoria de que a microvasculatura constrói focos de hemorragia intraplaca. A sua tendência acrescida a ratura pode levar ao extravasamento vascular capaz de provocar trombos no próprio local, com complicações aumentadas (13).

Os fibroblastos são também recrutados para a placa, possivelmente a partir da camada adventícia, ou de precursores celulares em circulação. Os fibroblastos segregam grandes quantidades de colagénio responsáveis pela fibrose ou cicatrização do tecido envolvente. Este processo de maturação da placa responsável pela formação do fibroateroma é dependente da evolução do NC e da matriz cicatricial circundante. O conteúdo em lípidos e colagénio na placa aterosclerótica é bastante variável, até no mesmo doente. Algumas placas são predominantemente constituídas por NC deformados revestidos por uma capa fibrosa fina enquanto que outras placas são essencialmente constituídas por tecido fibroso, sendo então referidas por placas fibróticas (42).

A maioria dos ateromas não causa sintomas e muitos nunca chegam a provocar qualquer manifestação clínica. Inúmeros doentes com aterosclerose difusa morrem por outras doenças não relacionadas, sem presença de manifestações significativas de

aterosclerose. Por detrás da grande variabilidade individual da expressão clínica da doença aterosclerótica estão fenómenos de remodelação vascular. A deposição da matriz extracelular é inicialmente acompanhada pela manutenção do tamanho do lúmen apesar da invasão da placa aterosclerótica (fenómeno de Glagov). Os vasos afetados pela aterogénese, numa fase inicial, tendem a aumentar de diâmetro num mecanismo conhecido por dilatação compensatória, contudo, existem limites para a adaptabilidade da remodelação vascular. Quando a lesão provoca obstrução de, aproximadamente, 40% do diâmetro total do vaso, o crescimento da placa começa a exceder a capacidade de dilatação do vaso, verificando-se uma diminuição efetiva da área de secção transversal, a chamada remodelação negativa (13,42).

Assim, durante grande parte da história natural da doença, o ateroma não provoca estenose que limite a perfusão tecidual. A diminuição do lúmen restringe o fluxo sanguíneo distal sem que isso constitua um fator funcional limitante. Só quando cerca de 75% da área do lúmen arterial se apresenta comprometida é que a perfusão distal pode tornar-se inadequada para suprir as necessidades nutricionais do tecido, o que leva ao surgimento de sintomas clínicos, particularmente quando coexistentes com hipoxia, anemia ou hipotensão (13,42).

Os modelos atuais qualificam a placa aterosclerótica estável como origem de doença lenta e progressiva enquanto que a placa aterosclerótica instável ou vulnerável é compreendida como fundamento de eventos súbitos. A rutura da placa torna-se perigosa na medida em que expõe material pró-trombótico e pró-inflamatório contido no núcleo da placa (fosfolípidos, fator tecidual e outras moléculas promotoras da adesão plaquetária) ao sangue. Ocorre preferencialmente quando a capa fibrosa apresenta uma espessura fina e está parcialmente danificada. A quantidade de células imunitárias ativadas encontra-se aumentada nestes locais de lesão com produção de moléculas inflamatórias e enzimas proteolíticas que podem enfraquecer a capa fibrosa e ativar também as células do núcleo. Quando o dano da capa fibrosa é iniciado e propagado em placas estáveis, ocorre a sua conversão para uma placa vulnerável, caracterizada por uma estrutura instável passível de rutura total.

#### 2.4.5.1 – Placa Estável

A placa estável acumula tipicamente uma matriz fibrosa adicional, não sofrendo nenhuma mudança repentina ao nível da sua estrutura e dimensão. Como referido

anteriormente, em algumas placas ateroscleróticas, a quantidade de tecido fibroso ou cicatricial pode atingir uma extensão variável. O NC pode ser completamente revestido por uma capa fibrosa espessa, separando-a de forma relativamente segura do endotélio subjacente. Estas lesões podem ainda calcificar em determinados casos e sofrer metaplasia óssea (formação de osso) ao longo do tempo. As placas estáveis tendem ainda a manifestar um menor grau de inflamação quando comparadas às placas instáveis. Contudo o crescimento contínuo da lesão pode ser suficiente para diminuir o lúmen arterial, reunindo os fatores necessários para o doente manifestar um quadro sintomático (Angina de Peito) (42).

#### 2.4.5.2 – Placa Instável

A placa instável caracteriza-se por sofrer rutura da superfície do endotélio, o que provoca a formação de um trombo dentro do lúmen vascular. Esta formação trombótica pode diminuir rapidamente o lúmen arterial, provocando eventos cardiovasculares, como são exemplo as diferentes manifestações de EAM ou morte súbita (este último, frequentemente provocado por arritmias induzidas por isquemia) (42).

A rutura da placa pode ocorrer quando existe uma estenose prévia grave com oclusão de 75% da secção transversal da artéria. Em contrapartida, também pode ocorrer quando existe uma oclusão crónica com menor percentagem de área seccional do lúmen comprometida, ou seja, quando não é provável que exista isquemia sintomática. O trombo resultante pode causar oclusão total ou parcial, da artéria, mas em ambos os casos, os fragmentos do trombo possuem capacidade para provocar embolia do tecido alvo, obstruindo vasos de menor calibre e levando à isquemia tecidual. Em alguns fibroateromas, a capa fibrosa torna-se marcadamente fina por ação de metaloproteinases (MMP) da matriz. Este tipo de placa é frequentemente referido como fibroateroma de capa fina (TCFA, do inglês, *thin cap fibroatheroma*). Após rutura da capa fibrosa o conteúdo pró-trombótico do núcleo lipídico entra em contacto com o sangue, ativando a cascata de coagulação e agregação plaquetária.

Em adição à rutura dos TCFAs, existem outras formas de placa aterosclerótica que podem sofrer rutura aguda. Estes mecanismos alternativos de destabilização da placa ocorrem tipicamente sem a rutura total da capa fibrosa e nestes casos, o processo é denominado desnudação ou erosão da placa. Neste mecanismo, a superfície do endotélio torna-se descontínua, expondo o tecido conjuntivo subjacente que desencadeia a

formação de um trombo. Ao contrário do que acontece na ruptura da placa, a totalidade do núcleo não entra em contacto com o sangue. Existe assim, uma tendência para que o trombo formado em erosões da placa atinja menores dimensões quando comparado ao observado em rupturas da placa.

Existem então duas causas principais de trombose coronária repentina: a ruptura da placa e a desnudação endotelial. Embora a inflamação seja efetivamente determinante em alguns casos de rompimento da placa, a trombose súbita das artérias coronárias também ocorre em doentes por rompimento da placa de ateroma que contêm poucas células inflamatórias. Assim, nestes casos, mecanismos alternativos podem estar envolvidos. As possíveis causas de ruptura da placa na ausência de inflamação significativa incluem vasoespasmos, degeneração endotelial, hemorragia intraplaca e protrusão física dos cristais de colesterol através dos elementos da parede vascular (42).

#### 2.4.6 – Óxido Nítrico e a Disfunção Endotelial

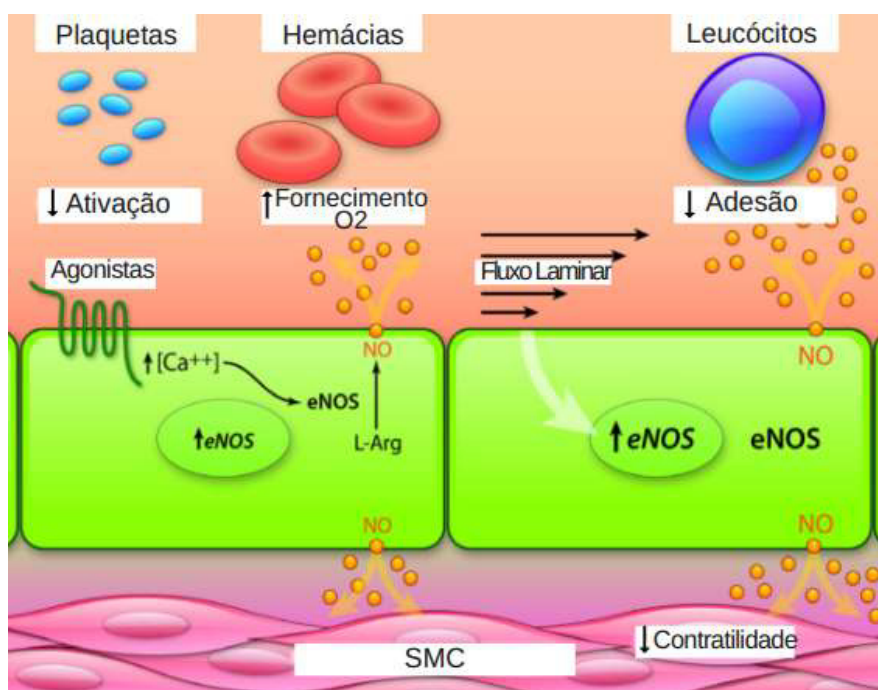
A demonstração da preponderância do revestimento endotelial na produção de diversos fatores autacóides constituiu um grande progresso conceitual no campo da biologia celular vascular. Estes fatores possuem potentes efeitos regulatórios sobre o comportamento de diversos tipos celulares presentes na parede vascular (pericitos vasculares e SMCs) e no sangue como plaquetas e leucócitos (44).

O endotélio é atualmente entendido como um sensor biológico capaz de detetar e responder perante estímulos mecânicos, físicos ou químicos sendo, portanto, interpretado como um tecido multifuncional (45). É destacada a segregação de uma vasta quantidade de mediadores biologicamente ativos que desempenham funções fulcrais na manutenção da homeostasia cardiovascular. Em particular, a prostaciclina derivada do endotélio e o tromboxano A<sub>2</sub> derivado das plaquetas que foram caracterizados como componentes mutuamente antagónicos de um balanço hemostático/trombótico dinâmico na interface entre o sangue e o vaso sanguíneo. Esta propriedade permitiu a interpretação destes mediadores como potenciais alvos terapêuticos sendo que a modelação farmacológica do metabolismo do ácido araquidónico permanece como uma importante estratégia terapêutica e preventiva da doença cardiovascular aterosclerótica (44).

Caracterizada como uma desordem sistémica que antecede a formação de lesões ateroscleróticas clinicamente significativas, a disfunção endotelial nas artérias coronárias

ateroscleróticas foi inicialmente demonstrada por Ludmer *et al* (46) e, posteriormente, relacionada com a alteração na síntese e biodisponibilidade do NO. Adicionalmente, é conhecido um efeito fisiológico de proteção ateromatosa estreitamente correlacionado com o balanço entre substâncias libertadas pelo endotélio, no qual o NO é reconhecido como um dos compostos vasoativos de maior relevância. Este sinalizador celular desempenha um papel nuclear na vasodilatação, inflamação e no *stress* oxidativo, principalmente através da produção de ROS (45,47).

O NO, primeiramente identificado como um fator relaxante derivado do endotélio (do inglês endothelium-derived relaxing factor), é uma molécula gasosa que atua na sinalização de diferentes processos biológicos. Este radical livre é descrito como um gás solúvel capaz de se difundir livremente através das membranas celulares e desempenhar funções como potente mediador parácrino, característica que suporta a sua alta atividade biológica. A síntese de NO é efetuada pelas células endoteliais através da metabolização da L-arginina por ação da isoforma endotelial da enzima óxido nítrico sintetase (eNOS).



**Figura 2.4 – Óxido nítrico derivado do endotélio.** As células endoteliais produzem NO por ação da eNOS em resposta a agonistas dos recetores celulares (*e.g.* acetilcolina, bradicinina) e alterações do fluxo sanguíneo. O NO difunde-se rapidamente através da membrana plasmática endotelial para ativar a guanil ciclase de diversos tipos celulares presentes no sangue e na parede vascular. Esta ativação promove entre outras, vasodilatação, diminuição da agregação plaquetária, da adesão leucocitária e da síntese de citocinas. O NO interage ainda com a hemoglobina dos eritrócitos aumentando o fornecimento de oxigénio aos tecidos. A exposição crónica das células do endotélio ao fluxo laminar resulta na regulação positiva da transcrição da eNOS. Adaptado de (44).

A eNOS (uma enzima constitutiva dependente do  $Ca^{2+}$ ), é expressa principalmente no endotélio vascular e desempenha um papel importante na regulação da reatividade vascular e no desenvolvimento e progressão da aterosclerose (45). As células endoteliais endocárdicas também expressam esta forma enzimática constitutiva que desempenha funções regulatórias sobre a contração do miocárdio e do tónus coronário. A produção basal do NO pelas células endoteliais contribui ainda para a regulação do tónus vasomotor e preservação do comportamento anti-trombótico do revestimento vascular sendo o processo global de síntese, alvo de uma regulação transcricional e pós-tradução complexa. Ainda, especialmente relevantes para a homeostase vascular estão os efeitos do NO sobre as SMCs adjacentes, nos leucócitos e plaquetas. Muitas destas ações fisiológicas são mediadas por ativação da guanil ciclase solúvel, que catalisa a conversão do trifosfato de guanosina em monofosfato de guanosina cíclico (44).

Outras funções do NO são reguladas por reações químicas de s-nitrosilação (adição de um grupo NO a um tiol cis para formar uma proteína azotada). Este processo tem demonstrado capacidade para modificar a função das proteínas de uma maneira reversível, que é análoga à fosforilação. No sistema cardiovascular, foi demonstrado que a s-nitrosilação de várias proteínas alvo intervém na regulação de processos fisiológicos celulares importantes, incluindo a proliferação celular, apoptose, exocitose, atividade de canais iônicos, fluxo sanguíneo e o fornecimento sistémico de oxigénio (44).

A redução da atividade biológica do NO, provocada tanto pela diminuição da via de síntese como pelo aumento da sua degradação por *stress* oxidativo (a reação com o radical superóxido inativa o NO, com formação do ião peroxinitrito) é identificada como o mecanismo de maior importância no processo da disfunção endotelial (44,45).

Atualmente, a função do NO na mediação das propriedades reguladoras do endotélio encontra-se bem estabelecida. Identicamente, o entendimento de como os fatores de risco da aterosclerose provocam disfunção endotelial (com perda da atividade biológica do NO) é cada vez maior. A disfunção endotelial pode, entre outros, provocar inflamação, oxidação de lipoproteínas, proliferação do músculo liso, depósito lipídico e formação de trombos na parede vascular. De acordo com o acima referido, todos estes fatores contribuem para o desenvolvimento e progressão da aterosclerose. É importante considerar que a patogénese da disfunção endotelial e as suas consequências fisiopatológicas estendem-se muito para além do metabolismo endotelial do NO.

### 3 – A Lesão Endotelial como Alvo Terapêutico

A terapêutica farmacológica desempenha um papel preponderante na estratégia multidisciplinar do tratamento e gestão efetiva das doenças cardiovasculares de origem aterosclerótica, onde está incluída a DCI. Neste contexto, a compreensão e interpretação da lesão endotelial posiciona-se como alvo terapêutico farmacológico de reconhecida utilidade.

Ao longo das últimas décadas, o tratamento farmacológico tem sofrido avanços muito significativos no campo da manutenção e melhoria da função endotelial. O tratamento farmacológico em conjunto com o reconhecimento da necessidade de tratar outros fatores de risco específicos e do benefício de determinadas modificações comportamentais de estilo de vida, são premissas indispensáveis para a proteção do normal funcionamento do aparelho cardiovascular. Apesar de existirem muitos estudos que sugerem a existência de diversas opções farmacológicas, cuja utilidade na prevenção e progressão da doença aterosclerótica e do dano endotelial foi comprovada, o tratamento concreto destes distúrbios tem-se revelado uma realidade difícil de alcançar. Isto deve-se, em especial, à inexistência de um método reconhecido para prevenir e/ou remodelar toda a superestrutura vascular. Assim, uma abordagem terapêutica individualizada com avaliação abrangente da saúde vascular através da função endotelial pode revelar-se benéfica para proporcionar um tratamento adaptado e de acordo com as especificidades da condição patológica de cada doente (48).

No decorrer deste capítulo apresenta-se, analisa-se e discute-se do ponto de vista farmacológico, informação atual e detalhada sobre diferentes classes disponíveis, dando particular ênfase às novas opções terapêuticas em investigação, com relevância no contexto da DCI e que exerçam ação na função endotelial. Em anexo, encontra-se um quadro resumo das diversas abordagens terapêuticas (Anexo 1) referidas.

#### 3.1 – Estatinas - Inibidores Competitivos da Enzima 3-hidroxi-3metilglutaril-coenzima A Redutase

A disponibilidade de agentes mais efetivos na redução dos valores de colesterol e a melhor compreensão da aterogénese ajudaram a comprovar que a terapêutica de controlo da dislipidemia possui efeitos benéficos que ultrapassam a simples redução da deposição lipídica na parede arterial. A redução dos valores de colesterol resulta no aumento muito diminuído do lúmen arterial, no entanto, este fator contribui para o

decréscimo das SCA e da morbimortalidade provocada pela DCI. Isto deve-se aos efeitos benéficos adicionais do tratamento farmacológico das dislipidemias sobre a parede arterial, uma vez que intervêm na correção da disfunção endotelial e respetiva reatividade vascular (espasmo) e na estabilidade da placa de ateroma. A estabilização da placa em relação ao risco de trombose parece resultar da redução dos níveis de colesterol LDL (LDL-C), das alterações do metabolismo do colesterol e das lipoproteínas e da biologia da parede arterial (49,50).

O destaque máximo dos fármacos antidislipidémicos é ocupado pelas estatinas que integram os medicamentos mais estudados para a prevenção e tratamento das DCV. As estatinas são capazes de limitar a progressão da aterosclerose coronária e reduzir significativamente a morbidade e mortalidade cardiovascular sendo amplamente recomendadas para os níveis de prevenção primária e secundária das DCV em ambos os géneros e em todas as faixas etárias (51).

Paralelamente à redução dos níveis plasmáticos de LDL-C, os benefícios do tratamento com estatinas são atribuídos aos efeitos pleiotrópicos que incluem a melhoria da função endotelial e redução da inflamação e formação de trombos. As estatinas apresentaram ainda capacidade de retardar a progressão e de promover inclusive, a regressão da aterosclerose coronária. Hoje em dia, encontra-se bem estabelecida a segurança e eficácia das estatinas na prevenção e no tratamento da DCI, independentemente dos níveis de colesterol individual. No contexto da prática clínica começam a surgir linhas de intervenção terapêutica que sugerem que as estatinas devem ser prescritas a todos os doentes com DCI que não apresentem contra-indicações para o tratamento farmacológico em questão (51,52).

As estatinas foram, primeiramente, isoladas a partir do fungo *Penicillium citrinum* no ano de 1976 e identificadas como moléculas inibidoras da síntese do colesterol. Atualmente, esta classe representa os fármacos mais efetivos e melhor tolerados no tratamento da dislipidemia, tendo revolucionado a terapêutica farmacológica das DCV e marcado com grande impacto a medicina clínica pela capacidade de alterar por completo a história natural da DCI (52,53).

## 3.1.1 – Classificação, Mecanismo de Ação e Segurança

As estatinas podem ser classificadas em três categorias com base na sua potência e eficácia na redução da concentração plasmática de LDL-C. A redução estimada dos valores de LDL, em função das diferentes estatinas e doses, encontra-se apresentada no quadro seguinte (Quadro 3.1).

**Quadro 3.1 – Redução dos valores de LDL (%) em relação às diferentes doses (mg) de estatinas.** Adaptado de (54,55).

Redução de LDL (%)	Ator. (mg)	Fluva. (mg)	Lova. (mg)	Prava. (mg)	Rosu. (mg)	Sinva. (mg)	Pita. (mg)
> 40	> 20	-	-	-	> 5	> 40	
30-40	10	80	40/80	-	-	20	> 2
20-30	-	40	10/20	20/40	-	10	1
< 20	-	20	-	10	-	-	-

Legenda: Ator = atorvastatina; Fluva = fluvastatina; Lova = lovastatina; Prava = pravastatina; Rosu = rosuvastatina; Sinva = sinvastatina e Pita = pitavastatina.

As moléculas de primeira geração (menos potentes), compreendem a pravastatina, a lovastatina e a fluvastatina tendo sido introduzidas nos finais dos anos 80 e 90. Esta geração, que tem a pravastatina como a molécula mais estudada, demonstrou reduzir os níveis de LDL-C, da mortalidade cardiovascular e dos eventos coronários. Adicionalmente, demonstraram eficácia na fase de prevenção, no tratamento dos doentes sintomáticos com DCI e na diminuição do RCV. A pravastatina e a fluvastatina notabilizaram-se rapidamente devido à sua baixa interação com outros fármacos, visto não sofrerem metabolização pelos sistemas do citocromo P450 (CYP450). Este fator permite a sua utilização como alternativa a doentes com contra-indicação/intolerância para estatinas mais potentes (56).

A segunda geração foi marcada pela introdução da atorvastatina e sinvastatina. Estas moléculas demonstraram possuir efetividades superiores na redução dos níveis plasmáticos de LDL-C quando comparadas às estatinas de primeira geração. As doses diárias de 10 e 20mg de atorvastatina e sinvastatina, permitem obter, respetivamente, uma redução superior a 30% da concentração de LDL quando comparadas a doses diárias de 20-40mg necessárias das estatinas de primeira geração (56).

As estatinas de terceira geração incluem a rosuvastatina e a pitavastatina, moléculas que possuem elevada potência e eficácia, sendo por isso muitas vezes denominadas como “super estatinas”. As propriedades da rosuvastatina devem-se às características da sua estrutura química que permite uma forte ligação com a enzima 3-hidroxi-3metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) redutase. O baixo potencial de interação com outros fármacos é devido à sua natureza hidrofílica, o que evita a biotransformação pela conversão em intermediários solúveis em água para eliminação. A pitavastatina também possui várias vantagens farmacocinéticas sobre as moléculas de primeira e segunda geração, sendo principalmente metabolizada através da glucuronidação, enquanto, uma pequena fração é metabolizada pelos CYP2C9 e CYP3A4. Como a pitavastatina é fracamente metabolizada pelos CYP450 em comparação com outras estatinas, apresenta a vantagem de não produzir interações inesperadas com outros fármacos. Estas moléculas são maioritariamente utilizadas como alternativa a outras estatinas em doentes de alto risco que mais frequentemente desenvolvem intolerância a estatinas (56).

As estatinas são análogos estruturais da HMG-CoA, intermediário da via do mevalonato e substrato natural da enzima HMG-CoA redutase. Devido à sua semelhança estrutural, exercem o seu efeito principal (redução dos níveis de LDL) por inibição enzimática da HMG-CoA redutase. Ao inibir a conversão da HMG-CoA em mevalonato, inibem uma etapa inicial e limitante da velocidade de biossíntese do colesterol. A diminuição dos níveis de colesterol pela inibição da síntese hepática resulta na expressão aumentada do gene LDLR. Em resposta à redução do conteúdo de CL nos hepatócitos, as proteínas de ligação ao elemento regulador do esterol (SREBPs, do inglês *sterol regulatory element-binding protein*) que se encontram associadas ao envelope nuclear e membranas do RE, são clivadas por proteases e transportadas para o núcleo. Estes fatores de transcrição, quando ativados, ligam-se especificamente às sequências de DNA do elemento regulador do esterol e são responsáveis pela intensificação da transcrição e aumento da expressão dos LDLR. Associado à terapêutica com estatinas é, adicionalmente, verificado uma redução da degradação dos LDLR. A expressão aumentada de LDLR na superfície dos hepatócitos pressupõe uma remoção mais acentuada de LDL do sangue, diminuindo assim os níveis de LDL-C plasmático (50).

### 3.1.1.1 – Segurança das Estatinas

No ano de 2001, a cerivastatina foi retirada voluntariamente dos mercados pelo fabricante (Bayer) por identificação de risco acrescido de rabdomiólise (conhecida reação adversa, embora rara, associada à utilização de estatinas, em particular quando prescrita conjuntamente com fibratos). Esta situação suscitou algumas questões relacionadas com a segurança das estatinas que só ficaram devidamente elucidadas anos mais tarde (57).

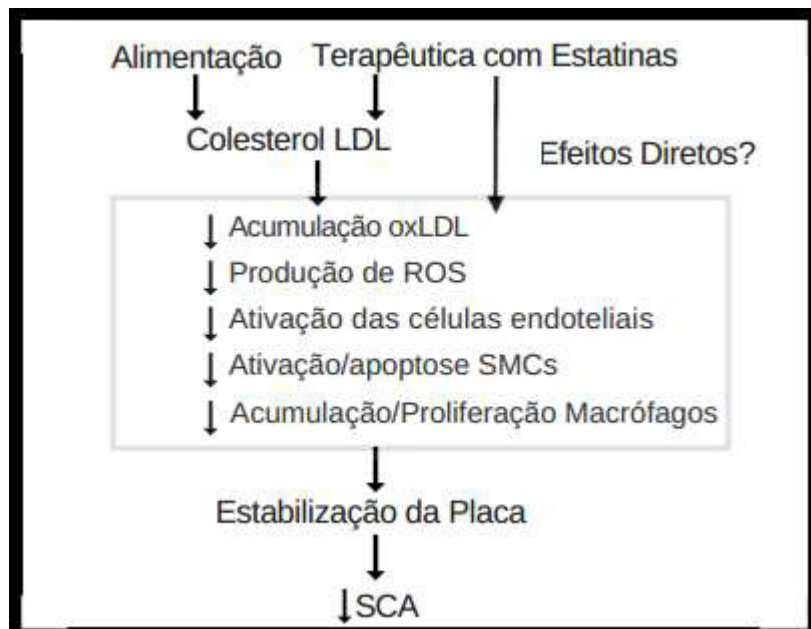
Atualmente, o perfil de segurança das estatinas encontra-se bem documentado, sabendo-se que as moléculas mais recentes e reconhecidamente mais potentes, quando utilizadas em doses altas (80mg/dia) podem provocar entre outros, proteinúria, hematúria e exercer uma ação desfavorável no metabolismo da glicose. Os efeitos secundários associados apresentaram-se de carácter transitório e reversível, regredindo, em geral, com a redução da dose. As diretrizes atuais apenas sugerem a redução de dose e a suspensão do regime terapêutico com estatinas em condições extremas, considerando que os benefícios das estatinas superam largamente os riscos da sua utilização (51,56). No entanto, apesar dos padrões terapêuticos apontarem as estatinas como fármacos preferenciais para a redução dos níveis de LDL-C, muitos doentes continuam a experienciar eventos cardiovasculares e permanecem expostos a um elevado risco coronário. Este aspeto realça a importância de desenvolver novas estratégias terapêuticas (que reúnam uma eficácia e tolerabilidade favorável) para a prevenção e tratamento da DCI, particularmente, em doentes de risco acrescido (*e.g.* DM ou SCA).

Um dos principais problemas associados à estratégia terapêutica com estatinas está relacionado com a falta de adesão à terapêutica (especialmente em doses moderadas ou altas). Os efeitos adversos mais comuns das estatinas podem levar a fenómenos de hepatotoxicidade ou estarem associados a uma indole muscular que pode variar entre mialgia e rabdomiólise. Mesmo sendo raros, estes eventos estão diretamente envolvidos na redução da *compliance* por parte do doente e da adesão terapêutica. Apesar dos benefícios comprovados e da grande disponibilidade de estatinas, um elevado número de doentes é incapaz de alcançar níveis lipídicos dentro dos objetivos terapêuticos, definidos em função do seu RCV. Em Portugal, 63% dos doentes de alto risco (DCV, DM e/ou risco SCORE  $\geq 5\%$  e  $< 10\%$ ) tratados com estatinas não atingiram valores de LDL-C inferiores a 100mg/dL. O perfil dos efeitos secundários (dependente da dose) está em

parte, interligado a esta realidade, sendo que doses altas de estatinas estão associadas a maior incidência e gravidade das reações adversas (57,58).

### 3.1.2 – Efeitos Pleiotrópicos das Estatinas

Os principais efeitos das estatinas encontram-se relacionados com a redução de colesterol e triglicéridos (TG), o que culmina na melhoria do perfil lipídico. Para além destas propriedades, associam-se outras atividades biológicas importantes das quais se destacam os potenciais efeitos de proteção cardíaca, em parte atribuídos à atividade anti-inflamatória e antioxidante, principalmente ao nível da função endotelial coronária. Embora estes mecanismos independentes da atividade lipídica não estejam completamente estabelecidos, a sua importância merece especial discussão (48,50).



**Figura 3.1 – Potenciais mecanismos de estabilização da placa através de uma terapêutica com estatinas.** A redução de lípidos melhora um conjunto de características associadas à vulnerabilidade da placa. A diminuição de oxLDL no ateroma previne a ativação endotelial, o que leva a um menor recrutamento de monócitos. As células endoteliais produzem menores quantidades de ROS o que limita a modificação química das moléculas de LDL. A redução de macrófagos que expressam moléculas proteolíticas, pró-trombóticas e anti fibrinolíticas aumenta a matriz extracelular, como o colagénio intersticial (essencial na estabilidade da placa) com supressão da formação de trombos, resultando numa menor incidência de SCA. Adaptado de (59).

Como não existe qualquer evidência científica inequívoca que demonstre que os efeitos pleiotrópicos representem um mecanismo de ação associado à classe, difiram entre moléculas ou sejam relevantes de uma perspectiva clínica ou biológica, até que não estejam completamente identificados, a seleção de uma determinada estatina não deve ser baseada em nenhum destes efeitos (50).

A terapêutica com estatinas está associada à prevenção do *stress* oxidativo e da ativação endotelial, efeitos que estão relacionados com a expressão da eNOS e aumento da produção endotelial de NO, com melhoria da função endotelial, independentemente da alteração observada nos níveis plasmáticos de colesterol (50,59).

Como visto anteriormente, a vulnerabilidade das placas à ruptura e trombose possui maior relevância clínica do que o grau de estenose provocado. As estatinas possuem capacidade de intervir na estabilidade da placa através de diversos mecanismos. Diferentes estudos (*in vitro*) demonstraram que a inibição da infiltração de monócitos na parede arterial e a secreção de MMP pelos macrófagos diminui a degradação dos componentes da matriz extracelular, responsável pelo enfraquecimento da composição da capa fibrosa das placas ateroscleróticas. As estatinas parecem ainda inibir a proliferação das SMCs e estimular a apoptose, levantando-se neste aspeto, dúvidas sobre o benefício deste mecanismo. A proliferação reduzida das SMCs e a potenciação da apoptose podem retardar a hiperplasia inicial e o processo de estenose, no entanto, existe a possibilidade teórica deste acontecimento enfraquecer a capa fibrosa e destabilizar a lesão (48,50,59). A atividade redutora da proliferação celular induzida pelas estatinas e a estimulação da apoptose foi estendida para a biologia tumoral pelos efeitos benéficos demonstrados (60).

A cerivastatina mostrou ação inibitória (*in vitro*) da replicação de macrófagos induzida pelo fator estimulante das colónias de macrófagos (M-CSF), em concentrações passíveis de serem atingidas em doentes tratados. Esta abordagem reduziu a ativação de macrófagos, conforme determinado pela diminuição da atividade da MMP-9 e expressão do fator tecidual. Outros estudos também demonstram que a fluvastatina e a sinvastatina podem desempenhar ação semelhante no que diz respeito ao crescimento de macrófagos e ativação das células endoteliais. Estes efeitos sobre a população de macrófagos pressupõem o favorecimento da estabilização da placa na superestrutura vascular (59).

O reconhecimento da componente inflamatória no processo aterosclerótico veio atribuir maior importância ao papel anti-inflamatório das estatinas. A administração de estatinas diminui os níveis plasmáticos de proteína C reativa de alta sensibilidade (hsPCR), um marcador sensível para a inflamação. A magnitude individual da redução desta proteína não se correlaciona com a diminuição dos níveis plasmáticos de LDL-C, fator que apoia a relevância clínica dos vários efeitos não relacionados com o colesterol sobre a inflamação vascular atribuída às estatinas (50,59,61).

A partir da introdução das estatinas (1987), verificou-se um aumento da divulgação de estudos de elevada relevância. Um deles, o JUPITER, veio trazer dados importantes para a estratégia da prevenção das DCV. Procurou-se determinar se a terapêutica com estatinas poderia ser efetiva na prevenção dos primeiros eventos cardiovasculares numa população (não elegível para uma terapia com estatinas pelos valores de LDL-C serem inferiores a 130mg/dL) em risco de desenvolver doença vascular e com níveis elevados de hsPCR. Este ensaio demonstrou uma redução de 44% em todos os eventos vasculares nos doentes tratados com 20mg de rosuvastatina durante um período médio de acompanhamento de 1,9 anos e uma redução dos EAM em 54% no mesmo período (61). Este ensaio veio confirmar que os doentes com elevação da hsPCR encontram-se em risco vascular independentemente da normalização dos níveis plasmáticos de LDL-C e que a terapêutica com estatinas possui capacidade para reduzir esse risco em metade.

A maior evidência de um efeito redutor extra lipídico de uma estatina está relacionado com a redução, mediada pela rosuvastatina, dos eventos de tromboembolismo, um *endpoint* adicionalmente especificado no estudo JUPITER. A redução destes eventos em 43% foi consistente com estudos observacionais prévios e indícios laboratoriais que sugeriram a existência de benefícios não lipídicos do tratamento com estatinas, no âmbito da coagulação. Estas moléculas demonstram capacidade de redução da agregação plaquetária e de diminuição do depósito de trombos plaquetários, exercendo ainda, efeitos variáveis sobre os níveis de fibrinogénio, estando os níveis elevados de fibrinogénio associados a um aumento de incidência de DCI (50,62).

### 3.2 – Inibidores da Adenosina Trifosfato Citrato Liase - Ácido Bempedóico

O ácido bempedóico (ETC-1002) consiste num agente redutor do colesterol em investigação. Esta pequena molécula é inibidora da adenosina trifosfato citrato liase (ACL), uma enzima celular responsável pela produção de precursores de ácidos gordos e síntese de colesterol. Reduz eficazmente os valores de LDL-C e apolipoproteína B [Apo(B)] e apresenta um mecanismo de ação duplo. A ACL é uma enzima importante, altamente expressa no tecido lipídico (fígado e tecido branco adiposo), com efeitos significativos no metabolismo do colesterol e ácidos gordos. Na via de biossíntese do colesterol (mamíferos), a ACL, para além de intervir numa etapa anterior à reação efetuada pela HMG-CoA redutase, relaciona o metabolismo energético dos glícidos com

a produção de ácidos gordos através da catálise da reação de síntese da acetil-CoA (substrato fundamental na biossíntese lipídica), tornando esta enzima um alvo preferencial para intervenção antidislipidémica (63).

Entre os diversos inibidores da ACL testados (*e.g.* hidroxicitrato e diversas benzosulfonamidas), o ácido bempedóico é a molécula que se encontra no estado mais avançado de desenvolvimento, possuindo biodisponibilidade e especificidade melhorada em comparação a compostos anteriormente desenvolvidos. Administrado por via oral, com uma semivida de 15-24h é rapidamente absorvido no intestino delgado. É importante referir que os recetores de superfície celular através dos quais esta molécula entra no fígado são distintos dos transportadores de estatinas, não se verificando por isso, uma absorção hepática competitiva. O ácido bempedóico é um pró-fármaco convertido num metabolismo ativo (ETC-1002-CoA) pela atividade endógena da acil-CoA sintase. Através da inibição da síntese de colesterol hepático, esta molécula induz a expressão dos LDLR e estimula a absorção das partículas de LDL no fígado, o que contribui para a redução dos níveis de LDL-C no sangue. Como o fármaco é convertido no metabolito ativo especificamente no fígado, do ponto de vista teórico deverá evitar as reações adversas do espectro muscular tipicamente observadas com as estatinas (63).

As experimentações iniciais em animais demonstraram que o ETC-1002 é ainda responsável pela ativação da adenosina monofosfato (AMP) proteína quinase ativada (AMPK, do inglês *adenosine monophosphate-activated protein kinase*). Esta enzima sinalizadora chave, intervém na transferência de substratos energéticos para tecidos alvo em necessidade, aumenta a gliconeogénese, a  $\beta$ -oxidação dos ácidos gordos e a densidade mitocondrial, o que resulta na produção de efeitos favoráveis sobre o metabolismo dos lípidos e dos glúcidos e na atenuação da inflamação (64).

Apesar dos testes em modelos animais sugerirem efeitos da inibição da ACL na síntese de ácidos gordos e colesterol, o perfil clínico observado no ser humano demonstra uma ação limitada à síntese de colesterol, sem efeito no metabolismo dos ácidos gordos. Embora os estudos clínicos tenham apresentado uma redução da hsPCR, no contexto generalizado verificou-se um efeito neutro nos parâmetros cardiometabólicos, tais como o peso, metabolismo da glicose, resistência à insulina e pressão sanguínea. Estas observações indicam que os efeitos do ETC-1002 na ativação da AMPK no ser humano, provavelmente, não apresentam relevância clínica. Os resultados dos ensaios clínicos

atualmente disponíveis apresentam-se bastante promissores e sugerem que o ácido bempedóico poderá representar muito brevemente, uma nova abordagem terapêutica preponderante na redução do LDL-C (64).

### 3.3 – Inibidores da Pró-proteína Convertase Subtilisina/Kexina Tipo 9

A pró-proteína convertase subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9) é uma enzima que no ser humano é codificada pelo gene PCSK9. A proteína codificada é sintetizada no núcleo como um precursor enzimático inativo, sofrendo ativação por clivagem autocatalítica intramolecular do seu segmento N-terminal no RE. Esta protéase serínica é principalmente sintetizada no fígado e desempenha um papel fundamental na regulação do metabolismo do colesterol. Libertada pelos hepatócitos, a PCSK9 liga-se aos LDLR circundantes e forma um complexo que sofre endocitose e posterior degradação lisossomal, regulando assim os níveis de colesterol das lipoproteínas apo-B circulantes. A inibição da PCSK9 permite o aumento da expressão e subsequente atividade dos LDLR, o que resulta na redução do colesterol das lipoproteínas de muito baixa densidade VLDL (VLDL-C) e LDL-C (65,66).

A abordagem alternativa que se encontra num estado de desenvolvimento mais avançado no contexto da redução de LDL-C é a inibição da PCSK9 com recurso a anticorpos monoclonais (AcM). Os novos anticorpos anti-PCSK9 incluem o alirocumab e o evolocumab, tendo recebido, recentemente, aprovação da *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento de segunda linha em doentes em risco, incapazes de atingir os objetivos terapêuticos de LDL-C, mesmo tendo sido submetidos a uma terapia máxima tolerada com estatinas ou em doentes intolerantes às mesmas.

Os AcM têm exibido uma eficácia notável e consistente na redução do LDL-C (50% em monoterapia e 70% em combinação com uma estatina) associados a um excelente perfil de segurança e tolerabilidade a curto prazo. Uma meta-análise recente analisou 24 ensaios de fase II e III que testaram os AcM anti-PCSK9, tendo obtido uma redução de 47,5% nos valores do LDL-C. A meta-análise suprarreferida sugere grandes benefícios em quadros de DCI e na mortalidade cardiovascular (67).

A inibição da PCSK9 com o evolocumab (estudo Fourier) adicionado a um regime terapêutico combinado com estatinas, permitiu diminuir os valores de LDL-C em aproximadamente 60%, para valores base próximos dos 30mg/dL. Este foi o primeiro

grande estudo a avaliar os *outcomes* cardiovasculares de um AcM em doentes com DCV estabelecida. Foi determinado que a adição do evolocumab a uma terapêutica com estatinas, reduziu significativamente o risco de eventos cardiovasculares, incluindo eventos coronários (como EAM e hospitalização por Angina de Peito). Estes dados recentes vieram demonstrar que indivíduos com doença cardiovascular aterosclerótica podem beneficiar de valores de LDL-C inferiores aos níveis alvo recomendados. (68)

Apesar dos AcM mostrarem uma semivida (*in vivo*) relativamente curta, a eficácia desta terapêutica é acompanhada de aplicações frequentes e custos dispendiosos. Mais recentemente, desenvolveu-se uma imunização ativa (através de um péptido desenhado para mimetizar o epítipo N-terminal da proteína PCSK9 madura humana) contra a PCSK9 endógena. O desenvolvimento de uma imunização ativa permite uma aplicação mais ampla e com vantagem custo-efetividade no controlo do LDL-C a longo prazo. A vacina (AT04A) foi testada quanto à sua eficácia em ratinhos *knockout*, tendo induzido uma resposta imunitária contra a PCSK9 sem nenhum efeito secundário, levando a uma redução significativa dos lípidos plasmáticos ao longo do período de intervenção. Observou-se ainda uma redução da inflamação sistémica e vascular e dos respetivos biomarcadores inflamatórios e redução do número, tamanho e gravidade das lesões ateroscleróticas da aorta e do conteúdo do NC (69).

O tratamento com anticorpos anti-PCSK9 resulta em reduções profundas no LDL-C e na lipoproteína(a) [(Lp(a)], uma lipoproteína com propriedades comuns ao LDL, mas que contém uma proteína exclusiva [Apo(a)], um homólogo estrutural do plasminogénio, apresentando entre eles um nível de segurança aparentemente semelhante e um importante indicador de benefício na sobrevivência em comparação à ausência de tratamento anti-PCSK9. Assim a terapêutica com AcM anti-PCSK9 parece constituir uma estratégia segura e eficaz para doentes com dislipidemia. Os resultados dos ensaios que se encontram em progresso irão fornecer dados adicionais sobre a segurança desta estratégia inovadora e sobre a relação da redução do LDL-C com os eventos cardiovasculares. Relativamente à vacina AT04A, acarreta o potencial para surgir como uma solução terapêutica ideal no controlo dos valores LDL-C quando aplicada a um longo período temporal (particularmente pelo contexto de custo-efetividade e pelo benefício anti-inflamatório apresentado). A AT04A encontra-se atualmente inserida num ensaio clínico de fase I (67).

### 3.4 – Terapêuticas do colesterol HDL

No ano de 1977, o FHS surgiu como o primeiro estudo de grande dimensão a evidenciar os valores diminuídos de colesterol HDL (HDL-C) como um importante fator de risco da DCI. Alguns anos mais tarde, David Gordon e colaboradores indicaram que o aumento de 1mg/dL nos valores de HDL-C estava significativamente associado a um decréscimo entre os 2 e os 3% do risco de DCI (70,71). Estes estudos, entre outros, foram responsáveis pelo estabelecimento da relação inversamente proporcional entre os valores de HDL-C e o risco acrescido de DCI e outras doenças de etiologia aterosclerótica. O suporte epidemiológico desta relação inversa, constituiu uma das observações mais reprodutíveis da epidemiologia clínica e veio revelar-se como um dos impulsionadores mais preponderantes para o desenvolvimento de terapêuticas destinadas a aumentar os valores de HDL-C.

O ácido nicotínico (niacina ou vitamina B3), um dos fármacos mais antigos no tratamento da dislipidemia possui inúmeros efeitos no metabolismo lipídico, sendo um agente efetivo para o aumento dos níveis de HDL-C. Adicionalmente, este fármaco utilizado numa dose de 2g/dia reduz os TG tão eficazmente como os fibratos e as estatinas mais potentes e os níveis de LDL-C. Apesar de exercer um efeito notável nos diversos parâmetros lipídicos, as reações adversas (*e.g.* efeitos cutâneos, dispepsia e hepatotoxicidade) foram as principais responsáveis pela limitação da sua utilização terapêutica (50,51).

A publicação de dois estudos referência de grandes dimensões, um utilizando uma formulação de niacina de libertação prolongada e o outro uma terapêutica combinada de niacina com laropriprant não demonstrou qualquer efeito benéfico. No entanto, em ambos os estudos foi identificado um aumento dos riscos de ocorrência de reações adversas sérias, algumas das quais tendo sido anteriormente identificadas em estudos com ácido nicotínico. A publicação destes ensaios provocou um impacto tremendo entre a comunidade científica e, atualmente, nenhuma medicação com ácido nicotínico está aprovada na Europa. Nos EUA e Canadá, o uso de ácido nicotínico tem sido relegado para aplicações muito exclusivas das quais se incluem o tratamento da Lp(a) elevada e a sua utilização em doentes intolerantes a estatinas tendo em consideração os potenciais benefícios (72).

As terapêuticas que procuram intervir nos valores de LDL-C demonstraram resultados impressionantes, no entanto, a constatação de que uma aplicação idêntica no âmbito do HDL-C não apresenta benefício, até ao momento, é de alguma forma incompreendida. É fundamental que o HDL seja interpretado como uma partícula mais complexa que o LDL, com uma miríade de funções associadas que se estendem para além do metabolismo lipídico. Adicionalmente a uma função essencial no transporte inverso de colesterol, o HDL apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antiagregantes plaquetárias, sendo ainda interveniente chave na resposta imunitária inata e na regulação do metabolismo da glicose (73). O universo do HDL engloba partículas que diferem entre si na composição, tamanho e função e a sua heterogeneidade funcional está presumivelmente relacionada com as diferenças do seu proteoma e lipidoma. Apesar dos diversos reveses no desenvolvimento farmacológico, do qual o ácido nicotínico é um exemplo representativo, a comunidade científica permanece comprometida neste campo investigacional, com diversos agentes emergentes em desenvolvimento, dos quais se destacam as duas classes imediatamente apresentadas.

#### 3.4.1 – Inibidores da Proteína de Transferência de Colesterol Esterificado

Os inibidores da proteína de transferência de colesterol (iCETP) constituem uma estratégia experimental promissora (*e.g.* anacetrapib, um inibidor potente altamente seletivo) originalmente concebidos para aumentar a concentração do HDL-C e reduzir o RCV. Estes inibidores possuem como mecanismo de ação o bloqueio da proteína de transferência do colesterol esterificado (CETP) que tem como função facilitar a transferências de CE e TG entre lipoproteínas plasmáticas. Em função do seu mecanismo de ação, é conseguida uma diminuição da concentração de colesterol em lipoproteínas pró-ateromatosas, tais como o LDL-C (na mesma ordem de grandezas obtida com as estatinas) e Lp(a). Contrariamente, são obtidos incrementos nas concentrações de HDL-C e apolipoproteína A1 (Apo(A1)), o principal componente proteico das partículas de HDL plasmático (74,75).

No ano de 2015, os estudos que envolviam dois iCETP foram terminados por provocarem um aumento assinalável da mortalidade cardiovascular (torcetrapib) e por não possuírem melhorias significativas nos doentes, apesar do aumento de HDL-C. No final desse mesmo ano, um ensaio de fase III que avaliava os efeitos clínicos do

evacetrapib em pacientes de alto risco para eventos vasculares foi terminado após a determinação de uma baixa probabilidade do estudo atingir os *outcomes* primários. Anteriormente já o dalcetrapib tinha sido terminado pelo mesmo motivo: falta de eficácia.

Não obstante, os iCETP continuam a mostrar-se promissores em relação à melhoria dos *outcomes* cardiovasculares em doentes com dislipidemia e em doentes com história anterior de doença aterosclerótica. O perfil de segurança do anacetrapib encontra-se bem caracterizado e dissociado dos efeitos *off-target* tipicamente observados com o torcetrapib. O ensaio de fase III (REVEAL) viu os seus resultados publicados muito recentemente, tendo procurado avaliar a efetividade e segurança da adição de anacetrapib a um tratamento base de atorvastatina em doentes com doença vascular aterosclerótica identificada. Teve, ainda, como objetivo determinar se a modificação lipídica com o anacetrapib reduzia o risco de morte coronária, EAM ou revascularização coronária [conjuntamente conhecidos como eventos coronários *major* (ECM)]. Este estudo permitiu demonstrar pela primeira vez que a adição desta molécula (100mg/dia) a um regime intensivo de estatinas, durante um período de acompanhamento médio de 4 anos, resultou na diminuição da incidência de ECM (9%). O tratamento foi bem tolerado e não foram detetados quaisquer problemas de segurança relevantes (76). Estes dados contrastam com os resultados negativos obtidos nos anteriores estudos com outros iCETP.

Os resultados principais deste ensaio são encorajadores. Os participantes iniciaram o estudo com níveis muito baixos de LDL-C, não obstante, a adição de anacetrapib permitiu reduzir ainda mais esses valores (em aproximadamente 20%). A redução do risco de EAM e outros eventos cardiovasculares foi conseguida sem problemas maiores de segurança. Ainda é precoce aferir acerca da validade do anacetrapib como importante opção terapêutica, no entanto, suportada por estes resultados modestos mas muito encorajadores, relança a esperança, depositada no passado, sobre esta classe de fármacos experimentais. É importante referir que apesar de não ter sido possível determinar o mecanismo pelo qual o anacetrapib provocou uma redução dos EMC, a duplicação dos níveis de HDL-C não teve, aparentemente grande impacto nos objetivos primários do estudo. (76).

### 3.4.2 – Infusão de Agentes HDL

Existe um grande número de abordagens promissoras em fase embrionária de desenvolvimento que procuram aumentar o HDL e/ou melhorar a sua funcionalidade.

Estas estratégias incluem, entre outros: infusão de HDL; complexos fosfolipídicos de Apo(A1) e variantes; utilização de péptidos miméticos (sintéticos) de HDL; *upregulation* dos transportadores ABCA1, ABCG1 e da lecitina colesterol aciltransferases, uma enzima presente no HDL que intervém no transporte de colesterol para o fígado; agonistas seletivos do recetor hepático X (LXR); e oligonucleotídeos *antisense*, direcionados a vários alvos figurantes na via do HDL. A manipulação destes alvos tem como objetivo aumentar o transporte inverso de colesterol ao remover o colesterol dos macrófagos periféricos, e reduzir, em última análise, impacto aterosclerótico na estrutura vascular. Destas diferentes vias, a inibição da CETP é aquela que aparentemente demonstra maior robustez nos aumentos de HDL-C (75,77).

Os agentes de infusão incluem uma larga classe terapêutica com potencial para aumentar a concentração de partículas do HDL (HDL-P) e a função de HDL. Estas opções terapêuticas estão concebidas para doentes com SCA a rutura da placa. As infusões de HDL são produzidas através da mistura fosfolipídica com Apo(A1) recombinante que mimetizam a pré- $\beta$ 1-HDL [forma monomérica da Apo(A1)]. Estas infusões permitem obter uma redução do volume da placa de ateroma. A Apo(A1) nativa foi avaliada tendo demonstrado efeitos favoráveis na morfologia da placa, no entanto o desenvolvimento desta estratégia foi descontinuado devido a toxicidade hepática. Apesar de terem sido efetuadas continuadas refinações nestas formulações, a segurança e tolerabilidade ainda não foi devidamente estabelecida pelos ensaios atualmente disponíveis (64).

### 3.5 – Ácidos Gordos Ómega-3

O ser humano é incapaz de colocar ligações duplas a partir do carbono nove das cadeias longas de ácidos gordos polinsaturados (PUFA, do inglês *polyunsaturated fatty acids*) o que faz destas moléculas sintetizadas por plantas e microalgas marinhas, elementos essenciais na dieta humana. A experiência obtida através da utilização de substâncias ricas em PUFA, permitiu constatar diversos aspetos sobre o papel dos ácidos gordos na prevenção e tratamento das DCV. Uma das ideias mais frequentemente disseminadas na literatura é a existência de ação terapêutica do óleo de peixe na DCI, insuficiência cardíaca e arritmias, além de constituir uma alternativa ou complemento às estratégias terapêuticas padrão na hipertrigliceridemia e DM (78,79).

Os dados mais concretos sobre os benefícios cardiovasculares dos ácidos gordos ómega-3 ( $\omega$ -3) PUFAs são, essencialmente, fornecidos por 3 estudos de grande dimensão

que demonstraram uma redução dos eventos cardiovasculares, entre os 19% e os 45% (80). O estudo DART, publicado no ano de 1989 foi o primeiro estudo a demonstrar a eficácia do óleo de peixe na DCI e a sua utilidade na prevenção das DCV (81). Mais recentemente, o estudo GISSI- Prevenzione, avaliou os benefícios da toma de 1g/dia de PUFAs em doentes sobreviventes de um EAM recente. Este estudo determinou que o risco de morte por todas as causas diminuiu 28% e que, o risco de morte subida ao fim de quatro meses sofreu uma redução de 45%. O terceiro estudo referido (JELIS, 2007) selecionou 18 mil doentes com hipercolesterolemia, os quais foram, aleatoriamente, designados para receberem uma terapêutica isolada de estatina, ou uma terapêutica combinada de estatina e 1800mg/dia de ácido docosa-hexaenóico (EPA). Durante os 5 anos de duração do estudo, o grupo de doentes com história de DCI que receberam o tratamento combinado com EPA experimentaram uma redução de 19% dos EMC (82,83).

Os  $\omega$ -3 PUFA, encontrados em elevadas concentrações no óleo de peixe são cada vez mais utilizados na gestão das DCV. Estes óleos quando em doses compreendidas de 2-4g/dia de EPA e ácido docosa-hexaenóico (DHA) reduzem os valores elevados de TG. Adicionalmente à redução dos TG, demonstram, supostos benefícios que incluem a melhoria da função endotelial, vasodilatação e diminuição da agregação plaquetária e excitabilidade dos miócitos (51,80-84). Apesar destes benefícios possuírem suporte teórico e observacional, a função dos ácidos gordos  $\omega$ -3 na redução da mortalidade cardiovascular, em especial dos EAM e da morte súbita não se encontra estabelecida (57,84).

Ao longo dos últimos anos, surgiu um crescente número de dados científicos que contribuíram para a alteração do paradigma relativo à forma como a inflamação é contida e dissipada. Nos novos modelos que procuram explicitar os processos inflamatórios, a resolução da inflamação é interpretada como um processo ativo e mediado por compostos derivados de moléculas lipídicas. No início do século foram descobertas famílias de mediadores químicos (resolvinas e protectinas, potentes sinais anti-inflamatórios lipídicos envolvidos na resolução da inflamação) que estão diretamente envolvidas no bloqueio da migração, infiltração e recrutamento de neutrófilos e no bloqueio da migração e apoptose de células T. As protectinas e as resolvinas são moléculas derivadas dos ácidos gordos  $\omega$ -3, sendo o EPA um substrato da família das resolvinas e o DHA convertido em ambas (57,79).

O efeito mais potente do óleo de peixe na aterosclerose parece estar relacionado com o seu potencial de ação na inflamação da placa, agindo como um estabilizador das placas vulneráveis (não se limitando a uma redução do valor de TG). Esta proposta de mecanismo de ação dos óleos de peixe sobre os mediadores inflamatórios parece sustentar os resultados positivos observados em diversos ensaios que tiveram como objetivo avaliar a relação do óleo de peixe com a estabilidade da placa (84,85).

No contexto de prevenção primária das DCV é atualmente recomendado à população em geral o consumo de, pelo menos, duas porções de peixe por semana em conjunto com o consumo regular de outras fontes de  $\omega$ -3 PUFA (nozes, soja e óleo de linhaça). Na prevenção secundária, o recurso a suplementos de  $\omega$ -3 PUFA não é mais recomendado face aos dados mais recentes que não identificaram qualquer benefício nesta suplementação, particularmente em doentes que já sofreram um evento cardiovascular (51).

### 3.6 – Imunomoduladores - A Inflamação como Alvo Terapêutico

Uma percentagem substancial de eventos cardiovasculares de origem aterosclerótica ocorre em indivíduos sem dislipidemia evidente. Como tal, uma grande parte da atenção científica tem sido direcionada para as causas fisiopatológicas da aterosclerose dissociadas das etiologias lipídicas. Dado que a inflamação está intrinsecamente envolvida em todas as fases da aterosclerose, sendo das principais *driving forces*, as opções farmacológicas que visam modular a resposta inflamatória sistémica e/ou local começaram a adquirir uma crescente preponderância nas estratégias da redução do RCV, em particular, do desenvolvimento aterosclerótico (64).

O crescente interesse no desenvolvimento de terapêuticas anti-inflamatórias específicas como meio de prevenção e tratamento das DCV de origem aterosclerótica resultou no redirecionamento das terapêuticas imunomoduladoras já existentes e no desenvolvimento de novas opções. As recentes abordagens terapêuticas anti-inflamatórias estão, essencialmente, categorizadas em dois modelos concepcionais: as terapêuticas que possuem como alvo as vias centrais da sinalização inflamatória (IL-1, TNF- $\alpha$  e IL-6) e as terapêuticas que procuram interpretar outras vias como alvo terapêutico (*e.g.* 5-lipoxigenase, fosfolipase A2 e moléculas de adesão). Ainda que estes agentes não tenham, até ao momento, demonstrado capacidade para reduzir o risco de

desenvolvimento aterosclerótico, estes alvos terapêuticos continuam a demonstrar um potencial enorme (64).

A selectina-P, uma molécula de adesão encontrada nas células endoteliais e plaquetas ativadas que intervém no recrutamento de leucócitos para o espaço subendotelial e promoção de micropartículas pró-coagulantes, parece estar envolvida na patogénese da lesão do músculo cardíaco em doentes com SCA. Com ação neste alvo, surgiu o inclacumab, um anticorpo monoclonal específico para a selectina-P em desenvolvimento para o tratamento e prevenção das doenças cardiovasculares ateroscleróticas (86). O inclacumab (20mg/kg) reduz, significativamente, o dano pós-procedimento (*e.g.* intervenção coronária percutânea) no tecido do miocárdio, em doentes com EAM sem supradesnivelamento do segmento ST. Estes dados fornecidos pelo estudo SELECT-ACS foram os primeiros do género a suportar fortemente o racional envolvido na estratégia que procura validar a selectina-P com alvo terapêutico em doentes com SCA (87).

Dois potentes e inovadores ensaios clínicos que antecipam os seus resultados para o final dos anos de 2017 e 2018, procuram avaliar os *outcomes* cardiovasculares da aplicação das terapêuticas imunomodeladoras. Considerando a natureza destas terapêuticas, deve ser dada uma atenção cuidadosa aos riscos associados à modulação imunitária associada. Estes ensaios possuem capacidade para vir acrescentar uma dimensão revolucionária no tratamento e gestão das DCV e perspetivar um novo futuro para a intervenção farmacológica da aterosclerose (64).

O estudo CIRT, vai procurar avaliar se uma dose baixa de metotrexato será capaz de reduzir as taxas de ECM entre doentes com DCI estável e com DM tipo 2 ou síndrome metabólica, condições associadas a uma resposta pró-inflamatória acentuada (64,88). Já o estudo CANTOS, atualmente em desenvolvimento em mais de 40 países, envolveu participantes com DCI estável, sem história de EAM e com valores de hsPCR superior a 2mg/L. Como objetivo principal, este estudo procura avaliar se a redução da inflamação entre doentes que tiveram um EAM anterior, resultava na diminuição do risco de um evento cardiovascular futuro. Foi ainda especificamente testado, se o bloqueio da citocina pró-inflamatória IL-1 $\beta$  com o canakinumab, reduzia as taxas de incidência recorrente de ECM em doentes de elevado risco (persistência dos valores elevados da hsPCR). Este ensaio, envolveu um anticorpo monoclonal que tem como alvo a IL-1 $\beta$  e pareceu ter

diminuído os marcadores inflamatórios (hs-CRP, IL-6 e fibrinogénio) sem influência nos lípidos durante a fase inicial do estudo (89). Muito recentemente, a última publicação efetuada pelo estudo CANTOS veio concluir que a terapêutica anti-inflamatória com doses trimestrais de 150mg de canakinumab levou a uma diminuição da taxa de eventos cardiovasculares recorrentes (90).

Em particular, os últimos resultados do estudo CANTOS possuem implicações de grande alcance, na medida em que foi claramente demonstrado, pela primeira vez, que uma redução da inflamação, permite diminuir significativamente o RCV, independentemente dos níveis de colesterol. Estes dados, absolutamente inéditos, permitem abrir um novo preâmbulo no que diz respeito ao tratamento farmacológico das DCV, em especial das doenças de origem aterosclerótica (ver perspetiva crítica do autor, seção 5).

No que diz respeito ao desenvolvimento de inibidores da fosfolipase A2 associada à lipoproteína (Lp-PLA2, do inglês, *lipoprotein-associated phospholipase A2*) o impacto do darapladib (um inibidor oral seletivo da Lp-PLA2), na função endotelial continua a carecer de dados. A Lp-PLA2 é uma enzima altamente expressa nas lesões ateroscleróticas, em particular, nas placas instáveis. Com capacidade para aumentar a inflamação através da produção de precursores do ácido araquidónico a partir dos fosfolípidos membranares, foi, teoricamente apontada como um potencial alvo terapêutico. O darapladib não exibiu redução significativa do risco de eventos cardiovasculares em doentes com DCI. Igualmente, um outro ensaio clínico mais recente, efetuado em doentes com SCA, não apresentou redução do risco de ECM por ação da mesma molécula (57,91-92).

### 3.7 – Antioxidantes

A contribuição do *stress* oxidativo para o processo aterosclerótico e progressão da DCI resulta da interação de um conjunto variado de mecanismos dos quais se destacam a oxidação de moléculas de LDL, alterações do efluxo de colesterol e redução da biodisponibilidade do NO nas SMCs com distúrbio dos mecanismos regulatórios do tónus vascular. Existem duas opções principais para abordar o tratamento do *stress* oxidativo: recorrer a moléculas antioxidantes para contrariar o estado de oxidação celular ou bloquear a produção excessiva de ROS (93).

O potencial do ácido ascórbico (vitamina C) como tratamento teve na sua gênese as observações epidemiológicas que associavam a sua utilização a um efeito de proteção cardiovascular. O ácido ascórbico parecia, ainda, regular positivamente diversos componentes do sistema cardiovascular, incluindo a renovação de enzimas antioxidantes, melhoria da vasodilatação arterial, redução dos marcadores inflamatórios e melhoria do perfil lipídico (94,95). Apesar do otimismo inicial, as análises subsequentemente realizadas em ensaios clínicos de grande dimensão vieram demonstrar que a suplementação de ácido ascórbico estava associada a um benefício terapêutico reduzido (96,97).

Considerando o conhecimento sobre o papel dos ROS na aterosclerose, a ideia de que uma dieta rica em antioxidantes seria capaz de atenuar os efeitos nocivos destes radicais deveria ser uma dedução lógica. Os antioxidantes derivados da alimentação com maior potencial terapêutico incluem o ácido ascórbico, alfa-tocoferol (vitamina E), polifenóis,  $\beta$ -caroteno, licopeno e outros carotenoides. O ácido ascórbico e o alfa-tocoferol são dos antioxidantes mais estudados como potencial tratamento para a DCI por possuírem capacidade para melhorar a função endotelial e reduzirem o *stress* oxidativo.

Os dados obtidos entre várias moléculas antioxidantes não são concordantes e os resultados mostram-se muitas vezes contraditórios. Enquanto alguns estudos de dimensão relativamente pequena e efetuados em intervalos de tempo curtos demonstram benefícios do uso de antioxidantes na redução do RCV, estudos de maior dimensão e potência têm falhado, constantemente, na identificação de um efeito protetor de qualquer um destes antioxidantes (utilizado isoladamente ou em associação) no âmbito da prevenção primária e secundária de eventos cardiovasculares. O ácido ascórbico é, atualmente, considerado como sendo ineficaz na prevenção ou tratamento da DCI. Apesar destes e outros agentes antioxidantes possuírem ação anti-ateromatosa, os efeitos na função endotelial, progressão das doenças ateroscleróticas e os resultados cardiovasculares continuam por ser devidamente esclarecido (93).

Nos países europeus em que a ingestão de vinho tinto não é negligenciável (*e.g.* França) a associação entre o colesterol e o RCV é menos evidente, sugerindo a existência de uma ação protetora em algumas moléculas presentes no vinho tinto e em outros alimentos e bebidas. Ao longo das últimas décadas, vários investigadores têm-se debruçado sobre os pressupostos benefícios do consumo moderado de vinho tinto na

saúde cardiovascular. Do prisma epidemiológico, é identificável uma relação *j-shaped* entre o consumo de vinho tinto e o RCV (98).

Através da experimentação *in vitro* e animal, foram descobertos componentes específicos do vinho tinto, como os polifenóis e o resveratrol, entre outros antioxidantes, que se pensam contribuir significativamente para a prevenção cardiovascular por ação principal de propriedades antioxidantes. Os polifenóis, são uma família de moléculas que inclui o resveratrol e isoflavonas facilmente encontrados em frutas, vegetais e no vinho tinto. A redução do RCV parece estar largamente ligada aos efeitos benéficos ao nível da disfunção endotelial, hipertensão, dislipidemia e doenças metabólicas dos componentes não alcoólicos do vinho tinto. É pertinente indicar que, alguns estudos recentes começam a interpretar o próprio etanol com um potencial agente de proteção cardiovascular, continuando a faltar, no entanto, evidencia epidemiológica que sustente esta indicação (98). Nenhum ensaio de comparação direta foi efetuado no sentido de determinar o efeito específico do vinho tinto ou de outra bebida alcoólica no risco de desenvolver DCI. É ainda de ressaltar que a associação entre o consumo moderado de determinadas bebidas alcoólicas e o potencial benefício para a saúde cardiovascular, detetada entre diversos estudos, pode encontrar-se enviesada por inúmeras variáveis.

Embora o consumo intensivo de álcool possua efeitos prejudiciais na saúde cardiovascular, o consumo moderado de determinadas bebidas alcoólicas (vinho tinto) pode estar mesmo associado a efeitos de proteção cardiovascular, traduzidos na redução do risco de DCI e melhoria do prognóstico após EAM. Os componentes do vinho tinto anteriormente referidos possuem capacidade para diminuir o *stress* oxidativo, aumentar o efluxo de colesterol das paredes vasculares e impedir a oxidação de lipoproteínas, acumulação de colesterol nos macrófagos e formação de células espumosas (93). Na literatura existe muita informação científica que suporta os benéficos para a saúde cardiovascular do consumo moderado de álcool quando comparado com a abstinência. No entanto, é importante referir que esta associação tem sido cada vez mais atenuada por estudos contraditórios que demonstram ausência de relação causal entre o consumo de álcool e a redução da mortalidade perante uma análise ajustada aos vários fatores de enviesamento, o que faz deste, um tema cada vez mais controverso (99).

Mesmo considerando que o *stress* oxidativo possui um papel fundamental na configuração do quadro aterosclerótico, diversos ensaios clínicos não conseguiram

demonstrar o benefício das vitaminas antioxidantes no desenvolvimento e mortalidade cardiovascular. Este aspeto reflete a complexidade das reações de oxidação-redução dos sistemas biológicos, como as células vasculares e revela as limitações das estratégias atuais de modulação das vias *redox* para a prevenção das DCV. Uma abordagem terapêutica efetiva às DCV não deve excluir uma avaliação e tratamento do *stress* oxidativo. São necessários mais dados que permitam compreender com outro grau de profundidade, as relações entre a aterosclerose, ROS e o papel dos antioxidantes, na tentativa de identificar novos alvos oxidativos com utilidade terapêutica. Partindo do princípio que o *stress* oxidativo é constituído por um grande universo de moléculas e reações bioquímicas, é fundamental seleccionar e identificar fármacos ou reações chave como alvo preferencial na tentativa de limitar o *stress* oxidativo (93).

Para além das vitaminas, dos polifenóis e de outros fármacos anteriormente referidos, existem ainda diversos medicamentos que podem desempenhar um papel importante na redução do *stress* oxidativo vascular com especial interesse no contexto da lesão endotelial. Constituem exemplos, os inibidores da enzima de conversão da angiotensina, bloqueadores dos recetores da angiotensina e  $\beta$ -bloqueadores que não serão abordados no âmbito desta revisão (93).

## 4 – Biomarcadores Inflamatórios de Instabilidade da Placa Aterosclerótica Coronária

A prevenção primária e secundária das doenças cardiovasculares deve ser encarada como uma prioridade para qualquer sistema de saúde, exigindo uma abordagem multidirecional no sentido de se atingir a maior efetividade possível. Apesar das variáveis como a idade, género e dislipidemia constituírem fatores de risco bem estabelecidos na DCI, tais características não são suficientemente concretas para identificar todos os indivíduos em RCV. Como já referido anteriormente, uma proporção significativa dos indivíduos com DCI não apresentam quaisquer fatores de risco convencionais conhecidos. De uma forma semelhante, nem todos os indivíduos que reúnam fatores de risco (isolados ou concomitantes), irão desenvolver a doença (24,100,101).

Nesta perspetiva, a estratificação dos doentes através dos algoritmos tradicionais do cálculo do RCV (ver seção 2.3.1) nem sempre é aplicável a uma fração considerável da população. Consequentemente, o desenvolvimento de novos biomarcadores para o diagnóstico e prevenção das DCV é considerado como um importante objetivo global, a ser atingido no âmbito da saúde pública (101). Em particular, os novos biomarcadores cardiovasculares inflamatórios possuem potencial para constituir, num futuro próximo, uma ferramenta adicional, que permita, entre outros, estratificar os doentes em relação ao risco, de uma forma relativamente precisa e complementar aos algoritmos de cálculo do RCV. Adicionalmente, os biomarcadores podem ser úteis na identificação de sujeitos que, com base nos fatores de risco tradicionais, não são elegíveis para estratégias terapêuticas preventivas, mas que estando em risco elevado de eventos cardiovasculares futuros, possam beneficiar com essas mesmas intervenções. Os biomarcadores surgem assim, como um instrumento utilizado para identificar com precisão, indivíduos em elevado risco, estabelecer um rápido diagnóstico, monitorizar as terapêuticas implementadas e determinar prognósticos (102).

Um biomarcador pode ser definido como uma característica que é objetivamente medida e avaliada como um indicador dos processos biológicos normais, processos patogénicos ou respostas farmacológicas a uma determinada intervenção terapêutica (103). Os biomarcadores são geralmente proteínas ou enzimas (medidas experimentalmente no soro, plasma ou sangue) que fornecem valor de diagnóstico e prognóstico independente, pela reflexão do estado de doença subjacente (104).

No caso da DCI, especialmente devido ao papel nuclear da inflamação na aterogênese, estabilidade da placa e outros processos de estenose, os biomarcadores inflamatórios têm sido crescentemente investigados, sendo a sua utilidade na avaliação do RCV cada vez mais reconhecida e valorizada pela comunidade científica. Paralelamente aos dados epidemiológicos que demonstram uma associação entre a hs-PCR e o risco de morbimortalidade cardiovascular entre doentes de elevado RCV e/ou com DCI comprovada, começaram, nos últimos anos, a surgir novos biomarcadores inflamatórios, de que constituem exemplo, as citocinas e moléculas de adesão celular. Estes e outros biomarcadores inflamatórios, podem possuir uma função preponderante na identificação precoce da instabilidade da placa podendo, adicionalmente, correlacionar-se com a sua gravidade (104).

No seguimento da contextualização deste capítulo, é importante referir, ainda, que este surge como complemento da revisão monográfica, pretendendo realçar a importância dos biomarcadores inflamatórios de instabilidade da placa aterosclerótica coronária, tendo em especial consideração, as respetivas aplicações no contexto da DCI.

#### 4.1 – Proteína C-reativa

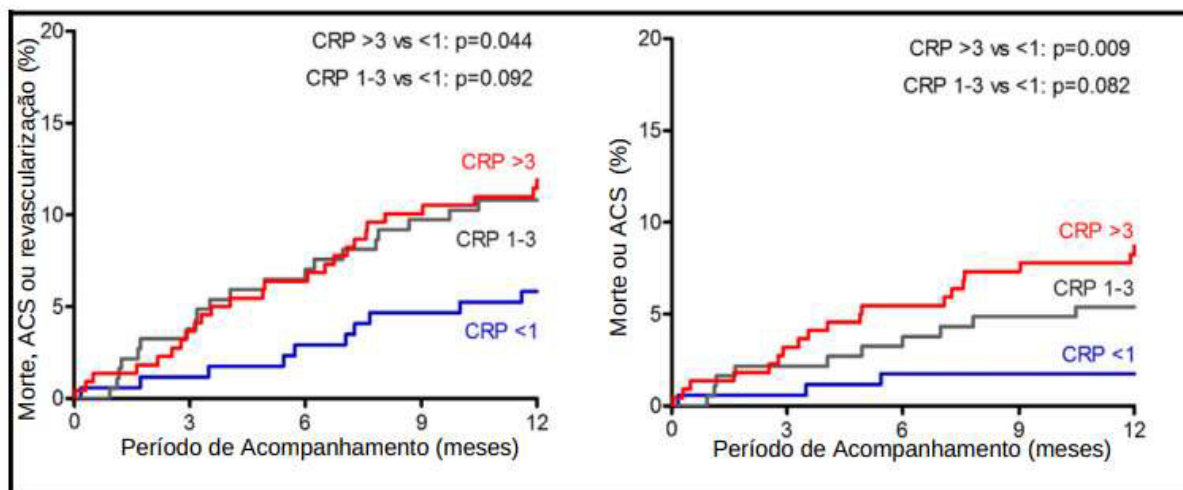
O paradigma atual da lesão aterosclerótica considera que os mecanismos inflamatórios desempenham uma função preponderante no processo fisiopatológico da instabilidade da placa e posteriores complicações trombóticas (105). Como tal, a interpretação do potencial valor de prognóstico dos biomarcadores inflamatórios foi adquirindo especial relevância, em virtude dos indícios de atividade imunitária e sinalização inflamatória presente nas placas ateroscleróticas.

A proteína C-reativa (PCR) apresenta-se como o biomarcador inflamatório modelo, estando entre os mais estudados na DCI (104,105). Estão, adicionalmente, associados à instabilidade da placa aterosclerótica, outros biomarcadores inflamatórios, como os marcadores de ativação leucocitária (*e.g.* mieloperoxidase), citocinas, moléculas de adesão celular solúveis (*e.g.* ICAM-1 e selectina-P), marcadores associados à oxidação lipídica (*e.g.* Lp-PLA2), entre outras substâncias de sinalização inflamatória. Possuindo a aterosclerose, uma componente inflamatória inicialmente focal, o sinal de libertação (*in situ*) de biomarcadores de ativação imunitária a partir dos pontos de lesão pode sofrer atenuação ao atingir a circulação sistémica. Nesta configuração e, como a maior parte dos biomarcadores inflamatórios não são específicos do tecido cardíaco, as medições dos

biomarcadores sistêmicos podem ser influenciados pelo grau de inflamação. Por estes motivos, os biomarcadores inflamatórios podem demonstrar-se incapazes de refletir com precisão, a resposta fisiopatológica específica da placa vulnerável (106).

A PCR é um reagente de fase aguda inespecífico, clinicamente utilizado como um marcador de inflamação sistêmica. É produzida no tecido hepático em resposta a um estímulo induzido por citocinas pró-inflamatórias, nomeadamente a IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ . Em situações de inflamação crônica, as concentrações de PCR podem variar substancialmente, tendo em conta a atividade da doença. Como a dinâmica das concentrações da PCR na DCI de caráter estável assume valores pouco acentuados, é necessário recorrer a ensaios totalmente automatizados de alta sensibilidade (hs-PCR). Estes ensaios permitem fornecer resultados precisos e reprodutíveis no intervalo de baixas concentrações. A hs-PCR parece apresentar a relação mais consistente com os *endpoints* clínicos no que diz respeito à placa vulnerável. Os níveis de hs-PCR encontram-se relacionados com diversos fatores de RCV, presença subclínica de aterosclerose e respetiva progressão, pior prognóstico e um número acrescido de procedimentos médicos durante o período de hospitalização (104,106). Apesar de ter sido postulado que a PCR reflete a extensão da aterosclerose coronária e vulnerabilidade da placa, ainda não é totalmente compreendido em que medida estas relações são estabelecidas.

Um estudo recente (ATHEROREMO-IVUS), teve como objetivo analisar as associações possíveis entre a hs-PCR, a carga da placa (do inglês, *plaque burden*) coronária, a presença de lesões coronárias de risco acrescido (através da avaliação das características anatómicas da placa por métodos de ultrassom intravascular) e os *outcomes* cardiovasculares. Os níveis de PCR superiores a 3mg/L constituíram prognóstico de ECM ao longo do período de seguimento do estudo (Figura 4.1). As observações permitiram concluir que a hs-PCR é um marcador de carga da placa ateromatosa, apesar de não ter sido encontrada relação entre a hs-PCR e processos de estenose ou TCFA. Estes dados, sugerem que a PCR deve ser preferencialmente, interpretada como um marcador inespecífico da carga da placa aterosclerótica e não como um marcador específico de rutura de placas instáveis (101,106,107).



**Figura 4.1 – Associação entre os níveis de PCR e a incidência de ECM.** Adaptado de (107).

Os valores da hs-PCR entre 1 e 3 mg/L, parecem diferenciar os doentes com DCI (estável ou instável [SCA]) em relação ao risco (alto ou baixo), inclusive em indivíduos saudáveis no prognóstico de eventos coronários. A avaliação da hs-PCR deve ser atrasada na fase aguda de um enfarte, até que os níveis regressem aos valores base (104).

#### 4.2 – Moléculas de Adesão

As moléculas de adesão celular como as ICAM, VCAM e selectina-E e P, são importantes marcadores de instabilidade da placa coronária, tendo sido estudadas no contexto do diagnóstico precoce dos SCA e da sua utilidade na estratificação do risco na DCI (104,108).

No início do século, Mulvihili e colaboradores, através de medições de diferentes moléculas de adesão celular em doentes com SCA, sugeriram que os estímulos anti-inflamatórios eram responsáveis por uma expressão aumentada das moléculas de adesão (109). Pouco tempo depois, o estudo WHS, demonstrou que os níveis de selectina-P estavam associados a um aumento do RCV em indivíduos saudáveis do género feminino (110). Um outro estudo realizado em doentes com DCI estável, efetuou medições de várias moléculas de adesão celular, tendo registado todos os eventos cardiovasculares durante um período de acompanhamento médio de 2,7 anos. Neste estudo, apesar de todas as moléculas de adesão estarem aumentadas nos doentes que viriam a morrer durante o tempo de acompanhamento do estudo, apenas a VCAM-1 demonstrou uma associação significativa em relação aos eventos cardiovasculares fatais, com um risco aumentado de 2,8 vezes (111).

Apesar dos estudos anteriormente referidos terem sido dos primeiros do género, os diferentes dados obtidos ao longo dos estudos mais recentes ainda não permitiram a definição do papel das moléculas de adesão na estratificação do risco em doentes com DCI. Isto deve-se em parte à divergência e, frequente contradição dos resultados encontrados na literatura (104). Os valores da ICAM-1, quando elevados, constituem um fator de risco independente para eventos coronários futuros. Acrescenta-se que o risco aumenta com o tempo de seguimento dos doentes, corroborando o efeito importante da ICAM-1 como fator de risco independente (112). De uma forma geral, a utilidade das moléculas de adesão celular na previsão dos *outcomes* individuais dos doentes parece apresentar-se bastante limitado, não sendo provável que a medição destas moléculas de adesão celular, acrescente especial potencial de prognóstico, quando comparada a outros fatores de risco atualmente bem estabelecidos.

#### 4.3 – Citocinas

As citocinas são pequenas proteínas de sinalização que representam um grande grupo de moléculas com implicações importantes no desenvolvimento de tecidos sólidos e normal funcionamento do sistema imunitário, desempenhando funções essenciais nos processos inflamatórios. As principais citocinas [IL-1, 6 e 10, TNF- $\alpha$ , proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1, também denominada por CCL2)] desempenham diversas funções na iniciação e progressão da aterosclerose, ao controlar o comportamento das células inflamatórias através de interações com os seus recetores celulares. O nível elevado de IL-6, está associado a uma função endotelial comprometida, podendo refletir um estado que promove a inflamação vascular e desenvolvimento subclínico de aterosclerose, independentemente da presença de fatores de RCV tradicionais, e desempenhar uma função nuclear na DCI (113,114).

Apesar de existirem estudos que suportam que os valores elevados de IL-6 podem ser úteis na identificação de doentes em risco de sofrer EMC, a aplicação da IL-6 como biomarcador é limitada pelas grandes variações circadianas e pela falta de estudos confirmatórios (104).

O recetor das quimiocinas tipo 5 (CCR5) tem sido indicado como um participante ativo na fase tardia da aterosclerose, demonstrando potencial como biomarcador de prognóstico para a estabilidade da placa. Outros biomarcadores inflamatórios importantes

são as quimiocinas CCL3, CCL5 e CXCL10, os quais são expressos durante o processo inflamatório inicial (115).

O TNF- $\alpha$  é uma citocina bastante ativa na placa. No EAM associa-se a disfunção e remodelação ventricular, edema pulmonar, ativação de monócitos e estimulador da síntese das interleucinas 1, 6 e 8, que, por sua vez, se relacionam com a expressão da ICAM-1, promovendo a adesão leucocitária. Demonstrou-se também, que a neutralização do TNF- $\alpha$  pode melhorar a função ventricular esquerda pós-isquemia aguda. Adicionalmente, o TNF- $\alpha$  provoca lesão endotelial vascular direta através da iniciação de vias pró-coagulantes, bem como induz apoptose das células endoteliais coronárias (116,117).

A MCP-1 é uma citocina que intervém no recrutamento dos monócitos na íntima arterial, promovendo a sua ativação e mecanismos ateroscleróticos. Em doentes com angina instável, foi encontrada uma associação entre os níveis de MCP-1 e a extensão da aterosclerose coronária (118).

Em 2008, foi publicado um estudo que envolveu 158 doentes com DCI estável, onde foram medidos os valores plasmáticos de várias citocinas (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , GM-CSF e IFN- $\gamma$ ) e da hs-PCR. A análise efetuada identificou que a IL-8 era o único fator independente de prognóstico para eventos cardiovasculares durante o período de estudo que teve a duração de 7 anos. Estes dados tiveram a propriedade de relançar uma nova conjuntura de incertezas e dúvidas sobre o papel das citocinas na previsão do RCV, lembrando que este tema continua a gerar dados científicos inconsistentes e em muitos aspetos, antinómicos (119).

#### 4.4 – Outros Marcadores

A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima com potencial oxidante, derivada dos leucócitos ativados. A MPO e os seus produtos oxidantes têm sido identificados na placa aterosclerótica e nos locais de rutura da placa, desempenhando um papel importante na origem do ateroma. A MPO está envolvida na formação e rutura da placa, incluindo a oxidação das moléculas de LDL e comprometimento da biodisponibilidade de NO, existindo diversos estudos que suportam uma associação entre os níveis elevados de MPO e a DCI (103). No estudo EPIC foi possível observar uma associação entre os níveis elevados de MPO e o risco futuro de DCI em doentes aparentemente saudáveis (120).

As MMP são uma família de endopeptíases que regulam a matriz extracelular. Possuem atividade colagenase e gelatinase, participando na remodelação vascular e instabilidade da placa. Podem contribuir, decisivamente, para a vulnerabilidade da placa aterosclerótica, o que pode levar ao EAM. Os níveis elevados de MMP-9 parecem estar relacionados com eventos cardiovasculares futuros. As MMP promovem a patogênese da aterosclerose, essencialmente, pela facilitação da migração das SMCs para a lâmina elástica interna, onde proliferam, intervindo posteriormente na formação da placa. No sentido oposto, as MMP também podem diminuir o volume da placa pela degradação da matriz extracelular da íntima. A depleção dos componentes da matriz da cápsula fibrosa causada por um desequilíbrio entre a síntese e a degradação, é determinante na integridade estrutural da placa. Até ao momento, não se verificam evidências consistentes, relativamente à associação das MMP e o prognóstico das doenças cardiovasculares. A aplicação das MMP como biomarcador é limitado pela lenta elevação dos seus níveis após SCA e pela falta de estudos clínicos relevantes (104).

De uma forma geral, os biomarcadores inflamatórios poderão constituir uma mais-valia para o valor de prognóstico do RCV futuro, tanto entre os doentes com DCV identificada, como na identificação de indivíduos aparentemente saudáveis e que possam estar em RCV acrescido. Contudo, até ao momento, os dados sobre que biomarcadores serão os mais adequados no diagnóstico e prognóstico da DCI são pouco conclusivos. Provavelmente, no que diz respeito à avaliação da instabilidade da placa com recurso a biomarcadores inflamatórios, a estratégia mais adequada deverá passar por uma abordagem que considere um conjunto dos diferentes biomarcadores existentes, no sentido de concorrer para um conhecimento clínico mais completo.

## 5 – Perspetiva Crítica do Autor

No seguimento da revisão bibliográfica efetuada, surge este capítulo final que tem como objetivo apresentar uma breve consideração crítica sobre os conteúdos desenvolvidos, particularmente no que diz respeito aos alvos terapêuticos que, pela interpretação do autor, se apresentam como os mais promissores numa perspetiva farmacoterapêutica.

As estratégias terapêuticas apresentadas nesta dissertação abordam diversos alvos terapêuticos no contexto da aterosclerose coronária que procuram intervir nas principais fases de iniciação e propagação da placa de ateroma, nomeadamente, ao nível da deposição lipídica e da inflamação. Na opinião do autor, existem dois alvos terapêuticos que reservam especial interesse e potencial no âmbito do tratamento e controlo da dislipidemia. Adicionalmente, considera-se que a introdução de terapêuticas que interpretem a inflamação como alvo terapêutico na DCV representará no futuro, um avanço tão extraordinariamente importante como a introdução das estatinas representou no passado.

Do ponto de vista mecanístico, a identificação da PCSK9 como alvo terapêutico constitui uma opção extremamente atraente, relevando grande polivalência na medida em que permite uma intervenção concebida em diferentes configurações ao nível da expressão desta protéase, fundamental na regulação do metabolismo do colesterol.

Até ao momento, o sucesso da inibição da PCSK9 com fármacos biológicos tem sido sustentado pelos resultados extraordinários obtidos nos diferentes estudos clínicos. O ensaio FOURIER adicionou o evolocumab a uma terapêutica com estatinas padrão, tendo permitido atingir valores de LDL-C na ordem dos 30mg/dL e reduzir o risco de eventos cardiovasculares, algo completamente inédito do ponto de vista farmacoterapêutico. O estudo ODYSSEY, do qual os resultados são aguardados com enorme expectativa, tem como objetivo primário a avaliação da utilização do alirocumab e a ocorrência de eventos cardiovasculares. Neste contexto relativo aos *outcomes* cardiovasculares em doentes com DCV estabelecida, ainda muito pode vir a ser acrescentado, no entanto é possível antecipar um tremendo sucesso para estes ou outros fármacos da classe que venham a ser desenvolvidos num futuro próximo. É ainda importante referir que esta opção terapêutica implicará custos económicos muito

elevados, o que pode constituir um obstáculo à sua acessibilidade, pelo menos numa fase inicial, enquanto o custo-benefício não esteja inequivocamente estabelecido.

Para percebermos de que maneira a interpretação da PCSK9 como alvo terapêutico é extremamente versátil, os AcM não são a única opção farmacológica capaz de atuar neste alvo. Atualmente, encontra-se em desenvolvimento uma estratégia terapêutica que procura reduzir a PCSK9, baseada no silenciamento do mRNA do gene PCSK9 através do recurso ao micro RNAs (inclisiran). Num estudo de fase II, através da injeção única de inclisiran, foi observada uma redução significativa da PCSK9 e dos níveis de LDL-C em doentes de elevado RCV que apresentavam valores de LDL-C aumentados. Este alvo terapêutico permitiu, adicionalmente, desenvolver uma imunização ativa contra a PCSK9, constituindo novo avanço nesta área de investigação. Apesar de ser bastante prematuro aferir sobre a validade futura desta vacina, os resultados encorajadores obtidos com a vacina experimental AT04A permitem considerar as suas potenciais vantagens e aplicações. A “vacina contra a aterosclerose” encerra o potencial de surgir como uma solução terapêutica ideal no tratamento da dislipidemia, particularmente pela conjuntura favorável de custo-efetividade (*versus* AcM) e benefício anti-inflamatório identificado em estudos animais.

Relativamente aos iCETP, não obstante aos resultados negativos do torcetrapib, dalcetrapib e evacetrapib, o autor julga que este alvo terapêutico ainda possui um grande potencial farmacológico. As evidências epidemiológicas associadas ao aumento dos valores de HDL-C e a redução do risco de desenvolvimento de DCI são demasiado sólidas para que se interrompa, pelo menos por enquanto, a procura de uma abordagem terapêutica válida que passe pelo aumento dos valores de HDL-C. A tradução do aumento do HDL-C em benefício cardiovascular pode estar para breve e deposita no anacetrapib as maiores esperanças de sucesso. A publicação recente dos resultados do estudo de fase III (REVEAL) permitiu aferir acerca da efetividade e segurança do anacetrapib e identificar uma redução dos ECM em doentes com doença vascular aterosclerótica identificada. Os resultados obtidos neste estudo perspetivam-se como fundamentais para a melhor compreensão do impacto desta molécula no risco cardiovascular indo, igualmente, contribuir para uma possível definição da mesma como uma importante opção terapêutica.

Adicionalmente, é relevante referir que o anacetrapib foi associado a um aumento ligeiro da pressão sanguínea sistólica (0,7mmHg), um efeito semelhante ao observado com o dalcetrapib e evacetrapib, mas muito menor quando comparado ao aumento (5mmHg) provocado pelo torcetrapib. Do ponto de vista farmacocinético, o anacetrapib acumula-se no tecido adiposo em administrações prolongadas. Após um ano da cessação do tratamento, os valores plasmáticos de anacetrapib experimentam um decréscimo significativo, no entanto, a diminuição dos seus níveis no tecido adiposo é mínima. Em virtude deste comportamento, apesar de não terem sido identificados problemas substanciais relativos à segurança do fármaco, é importante proceder a um acompanhamento adicional dos *outcomes* clínicos (em indivíduos cujo tratamento foi terminado), no sentido de avaliar a sua segurança e efetividade a longo prazo.

Por último, surge a importância da inflamação como alvo terapêutico na DCI. Neste contexto, o canakinumab merece sem dúvida um lugar de destaque, ao ter sido o primeiro fármaco a demonstrar que uma intervenção ao nível de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\beta$ ), permite alcançar uma redução da taxa de eventos cardiovasculares recorrentes, independentemente dos valores de LDL-C. Segundo Paul Ridker, líder da equipa de investigação do ensaio CANTOS, os resultados do seu estudo abrem uma nova era na terapêutica cardiovascular, constituindo o maior avanço terapêutico desde o surgimento das estatinas.

Contudo, é de referir que o uso de canakinumab aumentou, nomeadamente, o risco de infeções fatais e sépsis, onde os idosos e diabéticos constituem o grupo de risco mais vulnerável. Portanto, antes de podermos apelidar o canakinumab de fármaco “maravilha” à semelhança do que muitas fontes literárias começaram prontamente a fazer, é preciso considerar que ainda existem muitas questões associadas à segurança do tratamento e custo-efetividade que têm que ser melhor avaliadas.

Concluindo, o autor concorda com a posição de Ridker, reconhecendo o alcance que as implicações deste estudo irão trazer no futuro. Acrescenta-se ainda que a inibição da IL-1 $\beta$  é uma intervenção que foca estreitamente uma das muitas vias anti-inflamatórias que detêm o potencial de vir a surgir como alvos de proteção ateromatosa. Isto vai de acordo com a ideia de que estamos, felizmente, no despertar de um novo paradigma farmacoterapêutico.

## 6 – Conclusão

A Doença Cardíaca Isquêmica continua a constituir a principal causa de morte no mundo, apesar de ser observável um decréscimo significativo geral no panorama epidemiológico no que diz respeito à taxa de mortalidade por DCI. Este fenómeno resultou tanto da prevenção como do progresso dos meios de diagnóstico e da terapêutica, os quais permitiram tratamentos mais efetivos e seguros bem como uma intervenção clínica pronta e personalizada. Não obstante, continuar esta tendência no século XXI constitui um enorme desafio em virtude do envelhecimento da população e do quadro epidémico da obesidade, entre outros fatores.

Em primeiro lugar, a investigação e o progresso científico que se têm verificado nas últimas décadas permitiram um melhor entendimento sobre a patogénese da DCI. Este desenvolvimento esteve na base da revolução do seu tratamento, rubricado pelo aparecimento de opções terapêuticas mais efetivas, algumas das quais, orientadas para novos alvos terapêuticos. Tal revelou-se essencial para a melhoria do estado de saúde dos doentes, com repercussões diretas na diminuição dos números associados à morbimortalidade da DCI.

Atualmente os mecanismos fisiopatológicos inerentes à DCI encontram-se bem estabelecidos. No contexto de multiplicidade de fenómenos etiológicos associados a isquemia do miocárdio, a lesão endotelial adquire especial importância, ao assumir-se como a principal causa fisiopatológica da DCI. O processo de desenvolvimento aterosclerótico compreende a existência de lesão endotelial provocada por um conjunto diversificado de agentes. O modelo teórico de “resposta à lesão” integra as diferentes variáveis etiológicas numa entidade provocatória de dano endotelial e compõe a base do entendimento atual sobre a patogénese da aterosclerose, entendida como uma resposta inflamatória crónica e multifatorial, assinalada pela forte componente fibroproliferativa.

A compreensão dos mecanismos inerentes à lesão endotelial, conjuntamente com a deteção e avaliação dos fatores de RCV, permitiu acompanhar de forma mais precisa a evolução da doença e adequar as estratégias terapêuticas em função da progressão da mesma. A terapêutica farmacológica desempenha um papel preponderante na estratégia multidisciplinar do tratamento e gestão efetiva da DCI, constituindo a interpretação da lesão endotelial um alvo terapêutico farmacológico de reconhecida utilidade. Apesar de existirem estudos que sugerem a existência de diversas opções farmacológicas, cuja

utilidade na prevenção e progressão da doença aterosclerótica e do dano endotelial foi comprovada, o tratamento definitivo destes distúrbios tem-se revelado um objetivo de difícil concretização. Isto deve-se, em especial, à inexistência de um método reconhecido para prevenir eventos coronários e/ou modelar toda a estrutura vascular.

As estatinas assumem o principal destaque entre os fármacos antilipídêmicos. Apesar dos padrões terapêuticos apontarem as estatinas como fármacos preferenciais para a redução dos níveis de LDL-C, muitos doentes tratados com estatinas, continuam a experienciar eventos cardiovasculares, permanecendo expostos a um elevado risco coronário. Este aspeto realça a importância do desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas na prevenção e tratamento da DCI, especialmente, em doentes de risco acrescido. Em resposta a esta necessidade farmacoterapêutica, o estudo e desenvolvimento de novos fármacos tem sido alvo de um esforço constante por parte dos grupos de investigação. Destaca-se o ácido bempedóico que poderá representar, brevemente, uma nova abordagem terapêutica preponderante na redução do LDL-C. Uma abordagem alternativa ainda no contexto da redução do LDL-C, passa pela interpretação da PCSK9 como alvo terapêutico, seja pelo recurso aos AcM (alirocumab e evolocumab), estratégia de vacinação ou silenciamento do gene.

Adicionalmente e apesar dos insucessos verificados com o torcetrapib e o evacetrapib, os iCETP (anacetrapib) constituem ainda uma estratégia experimental promissora. Paralelamente, o interesse no desenvolvimento de terapêuticas anti-inflamatórias específicas como meio de prevenção e tratamento das DCV de origem aterosclerótica resultou no redireccionamento das terapêuticas imunomoduladoras já existentes e no desenvolvimento de novas opções. Ainda que estes agentes não tenham, até ao momento (excetuando o canakinumab), demonstrado capacidade para reduzir o risco de desenvolvimento aterosclerótico, estes alvos terapêuticos continuam a demonstrar um potencial enorme.

No que diz respeito à terapêutica antioxidante, a complexidade das reações de oxidação-redução dos sistemas biológicos (como as células vasculares) revela limitações das estratégias atuais de modulação das vias *redox* para a prevenção das DCV. Numa tentativa de identificar novos alvos terapêuticos, são necessários mais estudos que permitam compreender com outro grau de profundidade, as relações entre a aterosclerose, ROS e o papel dos antioxidantes.

É ainda importante realçar que o cálculo do RCV através dos fatores de risco individuais permite, estratificar os doentes consoante os valores obtidos. Este procedimento possibilita a definição de prioridades na prevenção cardiovascular e o auxílio aos profissionais de saúde na decisão e gestão do risco, através do recurso a medidas modificadores do estilo de vida e da prescrição farmacoterapêutica prioritária. Apesar dos fatores de risco da DCI estarem bem definidos, a sua tradução em RCV não é suficientemente potente para identificar todos os indivíduos em risco. Nesta perspetiva, a estratificação dos doentes através dos algoritmos tradicionais do cálculo do RCV nem sempre é aplicável a uma parte significativa da população. Para este efeito, a necessidade de encontrar novos biomarcadores úteis no diagnóstico e prevenção da instabilidade da placa é considerado como um objetivo essencial para a gestão efetiva da DCI.

Os biomarcadores inflamatórios rapidamente adquiriram um lugar de destaque, dada a preponderância dos mecanismos inflamatórios na iniciação e propagação da DCI. De uma forma geral, os biomarcadores inflamatórios poderão constituir uma mais-valia para o valor de prognóstico do RCV futuro, tanto entre os doentes com DCV identificada, como na identificação de indivíduos aparentemente saudáveis e que possam estar em RCV acrescido. A relação entre a inflamação e os fatores de risco lipídico parecem fornecer suporte para intervenções terapêuticas futuras, particularmente ao nível da prevenção cardiovascular. Contudo, até ao momento, os dados sobre que biomarcadores serão os mais adequados no diagnóstico e prognóstico da DCI são pouco conclusivos. Provavelmente, no que diz respeito à avaliação da instabilidade da placa com recurso a biomarcadores inflamatórios, a estratégia mais adequada deve privilegiar o uso de múltiplos marcadores associados à instabilidade da placa, nomeadamente a hs-PCR, citocinas (IL-6 e TNF- $\alpha$ ) e as MMP.

## 7 - Referências Bibliográficas

1. Seeley R, Stephens T, Tate P. *Essentials of anatomy & physiology*. 9th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2016.
2. Pina J. *Anatomia humana do coração e vasos*. 2nd ed. Lisboa: Lidel; 2007.
3. Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N., Robbins, S. and Cotran, R. (2010). *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders.
4. Volta S. *Cardiology*. 1st ed. London: McGraw-Hill International; 1999.
5. Tortora G, Derrickson B. *Principles of anatomy and physiology*. 14th ed. Hoboken, N.J.: Wiley; 2016.
6. Thompson RC, Allam AH, Lombardi GP, Wann LS, Sutherland ML, Sutherland JD, et al. Atherosclerosis across 4000 years of human history: The Horus study of four ancient populations. *Lancet*. 2013;381(9873):1211–22.
7. Wann S, Thomas GS. What can ancient mummies teach us about atherosclerosis? *Trends Cardiovasc Med*. 2014;24(7):279–84.
8. Fishbein GA, Fishbein MC. Arteriosclerosis: Rethinking the current classification. *Arch Pathol Lab Med*. 2009;133(8):1309–16.
9. Schwartz CJ, Mitchell JRA. The Morphology, Terminology and Pathogenesis of Arterial Plaques. *Postgrad Med J*. 1962;38(435):25–34.
10. Cowdry EV, Blumenthal HT. *Cowdry's Arteriosclerosis: A Survey of the Problem*. 2nd ed. Springfield, IL: Thomas; 1967.
11. Brummer P. History of angina pectoris. *Duodecim*. 1975;91(17):997.
12. Herrick J. Clinical Features of sudden obstruction of the coronary arteries. *Journal of the American Medical Association*. 1912.
13. Longo, D. *Harrison's principles of internal medicine*. 19th ed. New York: McGraw-Hill; 2015.
14. Buja LM, Vander Heide RS. Pathobiology of Ischemic Heart Disease: Past, Present and Future. *Cardiovascular Pathology*. 2016;25(3):214–20.
15. World Health Organization, (2008). *The Global Burden of Disease: 2004 Update*. Geneva: WHO.
16. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistics-2016 update a report from the American Heart Association. Vol. 133, *Circulation*. 2016. 38-48 p.
17. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association. Vol. 131, *Circulation*. 2017. 29-322 p.
18. Heidenreich PA, Trogon JG, Khavjou OA, Butler J, Dracup K, Ezekowitz MD, et al. Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: A policy statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2011;123(8):933–44.
19. Omran A. The epidemiologic transition: a theory of the epidemiology of population change. *Milbank Mem Fund Q*. 1971;49(1):509–38.

20. World Health Organization. *The European health report 2012: charting the way to well-being*. Geneva; 2013;161.
21. Herrington W, Lacey B, Sherliker P, Armitage J, Lewington S. Epidemiology of Atherosclerosis and the Potential to Reduce the Global Burden of Atherothrombotic Disease. *Circ Res*. 2016;118(4):535–46.
22. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: Epidemiological update 2016. *Eur Heart J*. 2016;37(42):3232–45.
23. Direção-Geral da Saúde. *Portugal: Doenças Cérebro-Cardiovasculares em Números - 2015*. Lisboa: Direção-Geral da Saúde. 2016.
24. Greenland P, Knoll MD, Stamler J, Neaton JD, Dyer AR, Garside DB WP. Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. *Jama*. 2003;290(7):891–7.
25. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Tolonen H, Davidson M, Mendis S. MONICA, Monograph and Multimedia Sourcebook: World's Largest Study of Heart Disease, Stroke, Risk Factors, and Population Trends 1979-2002. World Health Organization. 2003.
26. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998;97:1837–1847.
27. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *European Heart Journal*. 2016;37(29):2315–81.
28. George HM. Avaliação do Risco Cardiovascular. Normas da Direção Geral da Saúde; 2015;1–16.
29. Ford ES, Ajani UA, Croft JB, Critchley JA, Labarthe DR, Kottke TE, et al. Explaining the Decrease in U.S. Deaths from Coronary Disease, 1980–2000. *New England Journal of Medicine*. 2007;356(23):2388–98.
30. Ma J, Ward EM, Siegel RL, Jemal A. Temporal Trends in Mortality in the United States, 1969-2013. *Jama*. 2015;314(16):1731–9.
31. Kumar P, Clark M. *Kumar & Clark's clinical medicine*. 9th ed. Saunders Elsevier; 2016.
32. Fishbein MC, Fishbein GA. Arteriosclerosis: Facts and fancy. *Cardiovascular Pathology*. 2015;24(6):335–42.
33. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105(9):1135–43.
34. Ross R, Glomset J, Harker L. Response to injury and atherogenesis. *Am J Pathol* 1977, 86:675–684
35. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362(6423):801-9.
36. Furie MB, Mitchell RN. Plaque attack: One hundred years of atherosclerosis in the American Journal of Pathology. *Am J Pathol*. 2012;180(6):2184–7.
37. Farzaneh-Far A, Rudd J, Weissberg PL. Inflammatory mechanisms. *Br Med Bull*. 2001;59:55–68.
38. Stary H. *Atlas of Atherosclerosis*. 2nd ed. New York, USA: CRC Press; 2004.

39. Hansson K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *The New England Journal of Medicine*. 2005;352:1685–95.
40. Yu XH, Fu YC, Zhang DW, Yin K, Tang CK. Foam cells in atherosclerosis. *Clin Chim Acta*. 2013;424:245–52.
41. Valledor AF, Lloberas J, Celada A. Macrophage Foam Cells. *Encycl Life Sci*. 2015;1–10.
42. Seidman MA, Mitchell RN, Stone JR. Pathophysiology of Atherosclerosis. *Cell Mol Pathobiol Cardiovasc Dis*. 2014;221–37.
43. Zerneck A, Weber C. Chemokines in the vascular inflammatory response of atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2010;86(2):192-201.
44. Gimbrone MA, García-Cardena G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res*. 2016;118(4):620–36.
45. Dias RG, Negrão CE, Krieger MH. Óxido Nítrico e Sistema Cardiovascular : Ativação Celular , Reatividade Vascular e Variante Genética. *Arq Bras Cardiol*. 2011;44(1):68–75
46. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, Ganz P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1986.
47. Tousoulis D, Kampoli A-M, Tentolouris C, Papageorgiou N, Stefanadis C. The role of nitric oxide on endothelial function. *Curr Vasc Pharmacol*. 2012;10(1):4–18.
48. Matsuzawa Y, Guddeti RR, Kwon T-G, Lerman LO, Lerman A. Treating Coronary Disease and the Impact of Endothelial Dysfunction. *Prog Cardiovasc Dis*. 2015;57(5):431–42.
49. LaRosa JC, Grundy SM, Waters DD, Shear C, Barter P, Fruchart JC, et al. Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. *N Engl J Med*. 2005;352(14):1425-1435.
50. Goodman L, Brunton L, Chabner B, Knollmann B. *Goodman & Gilman's pharmacological basis of therapeutics*. 12th ed. New York: McGraw-Hill; 2011.
51. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016;37(39):2999–3058l.
52. Lim SY. Role of statins in coronary artery disease. *Chonnam Med J*. 2013;49(1):1–6.
53. Endo A. A historical perspective on the discovery of statins. *Proc Japan Acad Ser B*. 2010;86(5):484–93.
54. Weng TC, Yang YH, Lin SJ, Tai SH. A systematic review and meta-analysis on the therapeutic equivalence of statins. *J Clin Pharm Ther* 2010;35:139–151.
55. Mukhtar RY et al. Pravastatina. *Int J Clin Pract*, 2005, 59(2): 239–252.
56. Maji D, Shaikh S, Solanki D, Gaurav K. Safety of statins. *Indian J Endocrinol Metab*. 2013;17(4):636.
57. Maggini M, Raschetti R, Traversa G, Bianchi C, Caffari B, Da Cas R, et al. The cerivastatin withdrawal crisis: A “post-mortem” analysis. *Health Policy (New York)*. 2004;69(2):151–7.

58. Marques Da Silva P, Cardoso SM. Anomalias lipídicas persistentes em doentes tratados com estatinas: Resultados portugueses do estudo internacional de dislipidemia (DYSIS). *Rev Port Cardiol.* 2011;30(1):47–63.
59. Aikawa M, Libby P. The vulnerable atherosclerotic plaque: Pathogenesis and therapeutic approach. *Cardiovasc Pathol.* 2004;13(3):125–38.
60. Sassano A, Plataniias LC. Statins in tumor suppression. *Cancer Lett.* 2008;260:11–9.
61. Libby P, Aikawa M. Evolution and stabilization of vulnerable atherosclerotic plaques. *Jpn Circ J.* 2001;65(6):473–9.
62. Ridker PM. The JUPITER trial: Results, controversies, and implications for prevention. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2009;2(3):279–85
63. Bilen O, Ballantyne CM. Bempedoic Acid ( ETC-1002 ): an Investigational Inhibitor of ATP Citrate Lyase. *Curr Atheroscler Rep.* 2016;18(61).
64. Shapiro MD, Fazio S. From Lipids to Inflammation: New Approaches to Reducing Atherosclerotic Risk. *Circ Res.* 2016;118(4):732–49.
65. Poirier S, Mayer G, Benjannet S, Bergeron E, Marcinkiewicz J, et al. The proprotein convertase PCSK9 induces the degradation of low density lipoprotein receptor (LDLR) and its closest family members VLDLR and ApoER2. *J Biol Chem* 2008;283:2363–2372.
66. Zhang DW, Lagace TA, Garuti R, Zhao Z, McDonald M, Horton JD, Cohen JC, Hobbs HH. Binding of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 to epidermal growth factor-like repeat A of low density lipoprotein receptor decreases receptor recycling and increases degradation. *J Biol Chem* 2007;282:18602–18612.
67. Navarese EP, Kolodziejczak M, Schulze et al. Effects of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 antibodies in adults with hypercholesterolemia: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2015;163:40–51.
68. Sabatine MS, Guigliano R, Keech A, Honarpour N, Wiviott S, Murphy S, et al. Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 2017;1–10.
69. Landlinger C, Pouwer MG, Juno C, Hoorn WA Van Der, Pieterman EJ, Jukema JW, et al. The AT04A vaccine against proprotein convertase subtilisin / kexin type 9 reduces total cholesterol , vascular inflammation , and atherosclerosis in APOE \* 3Leiden CETP mice. *Eur Heart J.* 2017;1–10.
70. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, et al. High-Density Lipoprotein Cholesterol and Cardiovascular Disease Four Prospective American Studies. *Circulation.* 1988;79:8-15.
71. Rader DJ, Hovingh GK. HDL and cardiovascular disease. *Lancet.* 2014;384(9943):618–25.
72. HPS2-THRIVE Collaborative Group, Landray MJ, Haynes R, Hopewell JC, Parish S, Aung T, Tomson J, Wallendszus K, Craig M, Jiang L, Collins R, Armitage J. Effects of extended-release niacin with laropiprant in high-risk patients. *N Engl J Med* 2014; 371:203–212.
73. AIM-HIGH Investigators, Boden WE, Probstfield JL, Anderson T, Chaitman BR, Desvignes-Nickens P, Koprowicz K, McBride R, Teo K, Weintraub W. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. *N Engl J Med* 2011;365(24):2255–2267.

74. Kastelein JJP, Besseling J, Shah S, Bergeron J, Langslet G, Hovingh GK, et al. Anacetrapib as lipid-modifying therapy in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia (REALIZE): A randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet*. 2015;385(9983):2153–61.
75. Gutstein DE, Krishna R, Johns D, et al. Anacetrapib, a novel CETP inhibitor: pursuing a new approach to cardiovascular risk reduction. *Clin Pharmacol Ther* 2012;91:109–22.
76. The HPS3/TIMI55–REVEAL Collaborative Group. Effects of Anacetrapib in Patients with Atherosclerotic Vascular Disease. *N Engl J Med*. 2017;1–11.
77. Duffy, D. & Rader, D.J. Emerging therapies targeting high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport. *Circulation* 113,1140–1150 (2006).
78. Tatsuno I. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular disease: an emphasis on omega-3-acid ethyl esters 90 for the treatment of hypertriglyceridemia. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2014;12:1261–1268.
79. Mozaffarian D, Wu JH. (n-3) fatty acids and cardiovascular health: are effects of EPA and DHA shared or complementary? *J Nutr*. 2012;142:614–625.
80. Lee JH, O’Keefe JH, Lavie CJ, Marchioli R, Harris WS. Omega-3 fatty acids for cardioprotection. *Mayo Clin Proc*. 2008;83(3):324–32.
81. Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF, et al. Effects of changes in fat, fish, and fiber intakes on death and myocardial reinfarction: Diet and Reinfarction Trial (DART). *Lancet*. 1989; 334:757–761.
82. Marchioli R, Barzi F, Bomba E, et al, GISSI-Prevenzione Investigators. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell’Infarto Miocardico (GISSI)- Prevenzione. *Circulation*. 2002;105(16):1897-1903.
83. Yokoyama M, Origasa H, Matsuzaki M, et al, Japan EPA lipid intervention study (JELIS) Investigators. Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomized open-label, blinded endpoint analysis. *Lancet*. 2007;369(9567):1090-1098.
84. Weitz D, Weintraub H, Fisher E, Schwartzbard A. Fish Oil for the Treatment of Cardiovascular Disease. *Cardiol Rev*. 2010;18(5):258–63.
85. Thies F, Garry JM, Yaqoob P, et al. Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomized controlled trial. *Lancet*. 2003; 361:477–485.
86. Schmitt C, Abt M, Ciorciaro C, Kling D, Jamois C, Schick E, et al. First-in-man Study with Inclacumab, a Human Monoclonal Antibody Against P-selectin. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2015;65(6):611–9.
87. Stähli BE, Gebhard C, Duchatelle V, Cournoyer D, Petroni T, Tanguay J, et al. Effects of the P-Selectin Antagonist Inclacumab on Myocardial Damage After Percutaneous Coronary Intervention According to Timing of Infusion: Insights From the SELECT-ACS Trial. *J Am Heart Assoc*. 2016;5.
88. Everett BM, Pradhan AD, Solomon DH, Paynter N, Macfadyen J, Zaharris E, et al. Rationale and design of the Cardiovascular Inflammation Reduction Trial: A test of the inflammatory hypothesis of atherothrombosis. *Am Heart J*. 2013;166(2):199–207.e15

89. Ridker PM, Howard CP, Walter V, Everett B, Libby P, Hensen J, Thuren T; CANTOS Pilot Investigative Group. Effects of interleukin-1 $\beta$  inhibition with canakinumab on hemoglobin A1c, lipids, C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen: a phase IIb randomized, placebo-controlled trial. *Circulation*. 2012;126:2739–2748.
90. P.M. Ridker, B.M. Everett, T. Thuren, J.G. MacFadyen, W.H. Chang, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med*. 2017;1–13.
91. Investigators S, White HD, Held C, Stewart R, Tarka E, Brown R, et al. Darapladib for preventing ischemic events in stable coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2014;370(18):1702-1711.
92. O'Donoghue ML, Braunwald E, White HD, Steen DP, Lukas MA, Tarka E, et al. Effect of darapladib on major coronary events after an acute coronary syndrome: the SOLID-TIMI 52 randomized clinical trial. *JAMA*. 2014;312(10):1006-1015.
93. Santilli F, D'Ardes D, Dav G. Oxidative stress in chronic vascular disease: From prediction to prevention. *Vascul Pharmacol* [Internet]. 2015;74:23–37.
94. Omeed Elboudwarej. Vitamin C and Treating Coronary Artery Disease: More Hype than Hope? *UCLA*. 2010;14(1).
95. Osganian S, Stampfer M, Rimm E, et al. Vitamin C and risk of coronary heart disease in women. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 42(2):246-252.
96. Sesso H, Buring J, Christen W, et al. Vitamins E and C in the prevention of cardiovascular disease in men. The Physician's Health Study II randomized controlled trial. *JAMA*. 2008; 300: 2123–2133.
97. Cook N, Albert C, Gaziano J, et al. A randomized factorial trial of vitamins C and E and beta carotene in the secondary prevention of cardiovascular events in women: results from the Women's Antioxidant Cardiovascular Study. *Arch Intern Med*. 2007; 167(15):1610-1618.
98. Luca Liberale, Aldo Bonaventura, Fabrizio Montecucco, Franco Dallegri, Federico Carbone. Impact of Red Wine Consumption on Cardiovascular Health. *Current Medicinal Chemistry*. 2017.
99. Goulden R. Moderate Alcohol Consumption Is Not Associated with Reduced All-cause Mortality. *Am J Med*. 2016;129(2):180–186.
100. Khot, U.N. et al. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *J. Am. Med. Assoc*. 2003; 290, 898–904.
101. May A, Wang TJ. Biomarkers for cardiovascular disease: challenges and future directions. *Trends Mol Med*. 2008;14(6):261–7.
102. Montera MW. Biomarkers in Cardiology - Part 2: In Coronary Heart Disease, Valve Disease and Special Situations. *Arq Bras Cardiol*. 2015;104(5):337–45.
103. Biomarkers Definition Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69:89–95.
104. Zakyntinos E, Pappa N. Inflammatory biomarkers in coronary artery disease. *J Cardiol*. 2009;53(3):317–33.
105. Hansson GK, Libby P, Tabas I. Inflammation and plaque vulnerability. *J Intern Med* 2015; 278:483–93.

106. Omland T, White HD. State of the Art: Blood Biomarkers for Risk Stratification in Patients with Stable Ischemic Heart Disease. *Clinical Chemistry* 2017;63:(1):165-176.
107. Cheng JM, Oemrawsingh RM, Garcia-Garcia HM, Akkerhuis KM, Kardys I, de Boer SP, et al. Relation of C-reactive protein to coronary plaque characteristics on grayscale, radiofrequency intravascular ultrasound, and cardiovascular outcome in patients with acute coronary syndrome or stable angina pectoris (from the ATHEROREMO-IVUS study). *Am J Cardiol* 2014;114: 1497–503.
108. Fernandez-Borja M, van Buul JD, Hordijk PL. The regulation of leucocyte transendothelial migration by endothelial signalling events. *Cardiovasc Res* 2010;86(2):202-10.
109. Mulvihill N, Foley J, Murphy R, Crean P, Walsh M. Evidence of prolonged inflammation in unstable angina and non-Q wave myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1210-6.
110. Ridker P, Buring JE, Rifai N. Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events. *Circulation* 2001;103:491-5.
111. Blankenberg S, Rupprecht H, Bickel C, Peetz D, Hafner G, Tiret L, Meyer J. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;104:1336-42.
112. Malik I, Danesh J, Whincup P, Bhatia V, Papacosta O, Walker M, Lennon L, Thomson A, Haskard D. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Lancet* 2001;358(9286):971-6.
113. Upadhyay RK. Emerging risk biomarkers in cardiovascular diseases and disorders. *J Lipids*. 2015;2015:971453.
114. J. Rolin and A. A. Maghazachi. Implications of chemokines, chemokine receptors, and inflammatory lipids in atherosclerosis. *Journal of Leukocyte Biology*. 2015;95:575-585.
115. H. P. Luehmann, E. D. Pressly, L. Detering et al., “PET/CT imaging of chemokine receptor CCR5 in vascular injury model using targeted nanoparticle,” *Journal of Nuclear Medicine*. 2014; 55(4):629-634.
116. Nian M, Lee P, Khaper N, Liu P. Inflammatory cytokines and postmyocardial remodeling. *Circ Res* 2004;94:1543-53.
117. Ridker P, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of coronary events after myocardial infarction. *Circulation* 2000;101:2149-53.
118. Serrano-Martinez M, Palacios M, Lezaun R. Monocyte chemoattractant protein-1 concentration in coronary sinus blood and severity of coronary disease. *Circulation* 2003;108:75.
119. Inoue T, Komoda H, Nonaka M, Kameda M, Uchida T, Node K. Interleukin-8 as an independent predictor of long-term clinical outcome in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2008;124:319-25.
120. Meuwese MC, Stroes ES, Hazen SL, van Miert JN, Kuivenhoven et al. Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPIC- Norfolk Prospective Population Study. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:159-65.

## 8 - Anexos

Anexo I – Quadro resumo dos efeitos de cada fármaco na lesão endotelial e *outcomes* cardiovasculares.

Classe Farmacoterapêutica e Substância Ativa	Mecanismo de Ação	Efeitos na Lesão Endotelial	Outcomes Cardiovasculares	Referências Bibliográficas
<b>Estatinas</b>	Inibição da atividade da HMG-CoA Redutase	Estabilização da placa de ateroma	↓ da morbimortalidade cardiovascular	51,54,58,59,62
<b>Ácido Bempedóico (ETC-1002) <sup>(1)</sup></b>	Inibição da ACL	↓ dos níveis de LDL-C e hs-PCR	Sem dados disponíveis	63, 64
<b>Inibidores da PCSK9</b>	Inibição da PCSK9	↓ dos níveis de LDL-C	Sem efeito determinado na morbimortalidade cardiovascular	65-68
<ul style="list-style-type: none"> <li><sup>(2)</sup>Alirocumab</li> </ul>			↓ significativa dos eventos cardiovasculares	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Evolocumab</li> </ul>				
<b>AT04A <sup>(3)</sup></b>	Imunização Ativa contra a PCSK9	↑ do perfil lipídico e redução da inflamação vascular. Diminuição da lesão aterosclerótica	Sem dados disponíveis	69
<b>iCETP</b>	Inibição seletiva da CETP	↑ dos parâmetros lipídicos com particular aumento do HDL-C. Mecanismo que resultou na redução dos ECM é desconhecido	↓ dos ECM	74-76
<ul style="list-style-type: none"> <li>Anacetrapib</li> </ul>				
<b>Imunomoduladores</b>	Bloqueio seletivo da Seletina-P	Atividade anti-inflamatória e anti-trombótica na placa de ateroma. ↑ do perfil lipídico	↓ do dano no músculo cardíaco (SCA)	86, 87
<ul style="list-style-type: none"> <li>Inclacumab</li> </ul>				
<ul style="list-style-type: none"> <li>Canakinumab</li> </ul>	Bloqueio da IL-1 $\beta$	Possível ação anti-inflamatória na placa	↓ de eventos cardiovasculares recorrentes	89, 90
<ul style="list-style-type: none"> <li><sup>(4)</sup>Metotrexato</li> </ul>	Antagonista do ácido fólico	Possível ação anti-aterotrombótica em doentes com inflamação persistente	Sem dados disponíveis	64, 88

Legenda: <sup>(1)</sup>Molécula em investigação - Fase III; <sup>(2)</sup>Molécula em estudo para avaliar o efeito na redução do risco cardiovascular; <sup>(3)</sup>Molécula em investigação - Fase I; <sup>(4)</sup>Molécula em estudo para avaliar uma possível redução dos eventos cardiovasculares – Fase III; ECM – Eventos Coronários *Major*; SCA – Síndromes Coronárias Agudas; ↓ = Redução, ↑ = Melhoria; Outros fármacos (restantes iCETP, darapladib, entre outros) sem benefício cardiovascular aparente referidos ao longo da monografia, não foram considerados neste quadro.