

Paola Caroline Lacerda Leocádio

**Valor prognóstico de marcadores inflamatórios relacionados
à ativação de macrófagos em pacientes com Síndrome
Coronariana Aguda**

**Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2016**

Paola Caroline Lacerda Leocádio

**Valor prognóstico de marcadores inflamatórios relacionados
à ativação de macrófagos em pacientes com Síndrome
Coronariana Aguda**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Imunologia.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Jacqueline Isaura Alvarez-Leite

**Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2016**

*“A ciência consiste em substituir o saber que parecia
seguro por uma teoria, ou seja,
por algo problemático.”*

José Ortega y Gasset

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me acompanhar todos os dias, me ensinar com amor e me permitir vencer mais essa etapa. Sem o Senhor nada poderia ter feito, toda a honra seja dada ao Teu nome;

À minha orientadora Prof^a Dr^a Jacqueline Isaura Alvarez-Leite, por ter me dado a oportunidade de fazer parte da maravilhosa família labiniana, de participar deste trabalho e me orientar com tanta dedicação;

À Prof^a Dr^a Isabela Judith Martins Benseñor pela oportunidade de participar do Projeto ERICO e pela orientação;

À Prof^a Dr^a Alessandra Carvalho Goulart pela preciosa contribuição. Agradeço por ter me recebido tão bem na USP e por ter me ensinado a fazer grande parte da análise estatística deste trabalho;

Aos demais membros da equipe do Projeto ERICO, especialmente ao Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo e ao Prof. Dr. Itamar Souza Santos;

Aos pacientes do Hospital Universitário da USP. Sem vocês esse trabalho não seria possível;

Aos meus pais, Maurílio e Cleuza, pelo amor, paciência, por sonharem junto comigo e me incentivarem sempre. Todo agradecimento a vocês ainda será pouco;

Aos meus irmãos Diego e Larissa, pelo apoio, paciência, conversas e risadas infinitas que tornaram meus dias muito mais felizes;

À minha amiga e colaboradora Penélope, pelos meses de “Tropa de ELISA”, pelos anos de amizade, conselhos, caminhadas e sonhos compartilhados;

Às alunas de iniciação científica Júlia e Melissa, por me ajudarem nas análises. Vejo o crescimento de vocês e fico imensamente feliz por ter participado;

Aos amigos do Laboratório de Aterosclerose e Bioquímica Nutricional (LABiN) e de outros laboratórios, que citarei em ordem alfabética: Ana, Bruna, Cris, Dani, Ed, Eneida, Elândia, Fernanda, Hirla, Karine, Lana, Lorryne, Luana, Luciana, Marcos, Rachel Bacha, Rachel Horta, Victor e Wesley. Somos uma família;

Aos professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do projeto, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida e ao Departamento de Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia pelo auxílio concedido na viagem à São Paulo;

E a todos que de alguma maneira, contribuíram para a realização e conclusão deste trabalho.

Meu muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	10
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	14
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Síndrome Coronariana Aguda.....	17
2.1.1 Definição e Epidemiologia.....	17
2.1.2 Fisiopatologia e classificação.....	19
2.1.3 Monócitos/Macrófagos e aterosclerose: papel de CCL-2, IL-1 β e netrina-1.....	23
2.2 Remodelação cardíaca após o Infarto Agudo do Miocárdio.....	28
2.2.1 Monócitos/Macrófagos na remodelação cardíaca após IAM: papel de CCL-2, IL-1 β e netrina-1.....	30
2.3 Fatores prognósticos na SCA.....	35
3 JUSTIFICATIVA.....	37
4 OBJETIVOS	38
4.1 Objetivo geral.....	38
4.2 Objetivos específicos	38
5 MATERIAL E MÉTODOS	39
5.1 Projeto ERICO	39
5.2 Desenho do estudo	40
5.2.1 Coleta de dados	41

5.2.2	Dosagens no soro	42
5.2.2.1	CCL-2 e IL-1 β	42
5.2.2.2	Netrina-1	43
5.3	Análise estatística	44
6	RESULTADOS	46
6.1	Características gerais da amostra.....	46
6.2	Características de acordo com os níveis de marcadores inflamatórios.....	49
6.2.1	CCL-2	49
6.2.2	IL-1 β	52
6.2.3	Netrina-1	55
6.3	Marcadores inflamatórios e sobrevida.....	58
7	DISCUSSÃO	68
8	CONCLUSÃO	77
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

LISTA DE TABELAS

1	Características gerais da amostra.....	47
2	Marcadores bioquímicos e inflamatórios na admissão.....	48
3	Características de acordo com os níveis de CCL-2.....	50
4	Marcadores bioquímicos e inflamatórios de acordo com os níveis de CCL-2.....	51
5	Características de acordo com os níveis de IL-1 β	53
6	Marcadores bioquímicos e inflamatórios de acordo com os níveis de IL-1 β	54
7	Características de acordo com os níveis de Netrina-1.....	56
8	Marcadores bioquímicos e inflamatórios de acordo com os níveis de Netrina-1.....	57
9	Eventos ocorridos durante a média de acompanhamento (2,6 anos), de acordo com os níveis de CCL-2, IL-1 β e Netrina-1.....	65
10	Razões de risco (<i>Hazard Ratios</i>) para óbitos por todas as causas, óbitos por causas cardiovasculares (CV) e óbitos por IAM ou novo IAM não-fatal, de acordo com os níveis de CCL-2, IL-1 β e Netrina-1.....	67

LISTA DE FIGURAS

1	Traçado do eletrocardiograma.....	21
2	Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de um ano de acordo com os níveis de CCL-2.....	59
3	Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de dois anos de acordo com os níveis de CCL-2.....	60
4	Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de um ano de acordo com os níveis de IL-1 β	61
5	Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de dois anos de acordo com os níveis de IL-1 β	62
6	Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de um ano de acordo com os níveis de Netrina-1.....	63
7	Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de dois anos de acordo com os níveis de Netrina-1.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AI	Angina instável
AINH	Anti-inflamatórios não hormonais
ATP	Trifosfato de adenosina
BRE	Bloqueio de Ramo Esquerdo
CCL-2	Quimiocina CC ligante 2
CCR2	Receptor 2 de quimiocina CC
CD36	<i>Cluster of Differentiation 36</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CML	Célula muscular lisa
CPC	Centro de Pesquisa Clínica
CV	Cardiovascular
DAC	Doença Arterial Coronariana
DC	Doença Coronariana
DCC	Receptor deletado no câncer de cólon
DIC	Doença Isquêmica do Coração
ECG	Eletrocardiograma
EGF	Fator de crescimento epidérmico
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
ELSA	Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
ERICO	Estratégia de Registro de Insuficiência Coronariana
FGF	Fator de crescimento de fibroblastos
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HbA1c	Hemoglobina glicada
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HRP	<i>Horseradish peroxidase</i>
HU-USP	Hospital Universitário da Universidade de São Paulo
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio

IAMCST	Infarto Agudo do Miocárdio com supradesnivelamento do Segmento ST
IAMSST	Infarto Agudo do Miocárdio sem supradesnivelamento do Segmento ST
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1
ICO	Insuficiência Cardíaca Obstrutiva
IFN	Interferon
IL-10	Interleucina 10
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
M-CSF	Fator estimulador de colônias de macrófagos
MMP	Metaloproteinase de matriz extracelular
MPO	Mieloperoxidase
RNA _m	RNA (ácido ribonucleico) mensageiro
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
SCA	Síndrome Coronariana Aguda
SR-A	<i>Scavenger receptor - A</i>
SSS	Sistema Suplementar de Saúde
SUS	Sistema Único de Saúde
TGF- β	Fator transformador de crescimento β
TMB	3,3',5,5' - Tetrametil – benzidina
TNF	Fator de necrose tumoral
TRL	Receptor do tipo Toll
UNC5	Receptor <i>uncoordinated-5</i>
VCAM-1	Molécula de adesão celular-vascular-1
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial

RESUMO

Objetivo: Avaliar o valor prognóstico de marcadores relacionados à ativação de macrófagos (CCL-2, IL-1 β e netrina-1) em pacientes com Síndrome Coronariana Aguda (SCA) incluídos no estudo Estratégia de Registro de Insuficiência Coronariana (ERICO).

Métodos: Determinou-se a concentração de CCL-2, IL-1 β e Netrina-1 por ELISA, em amostras de soro de 803 pacientes. Realizou-se coleta de dados sobre fatores de risco cardiovascular, antecedentes de insuficiência cardíaca e exames bioquímicos. A população foi caracterizada e o valor prognóstico dos marcadores foi avaliado no acompanhamento de um ano e dois anos. As análises foram conduzidas considerando a mediana de concentração de cada marcador na admissão para obtenção dos grupos CCL-2 baixa e alta, IL-1 β baixa e alta e netrina-1 baixa e alta.

Resultados: A mediana de idade observada foi de 63 anos, sendo 58,5% dos pacientes do sexo masculino e IAMSST o subtipo de SCA predominante (41,5%). HAS, dislipidemias, Diabetes Mellitus, tabagismo atual e ICO prévia apresentaram frequências de 75,5%, 47,1%, 37,9%, 28,1% e 24,4%, respectivamente. A mediana de IMC foi de 26,8 kg/m². Os pacientes apresentaram elevada glicemia (124,5 mg/dL), além de baixos níveis de HDL (37,0 mg/dL) e altos níveis de LDL (101,0 mg/dL). Os valores medianos dos níveis de CCL-2, IL-1 β e netrina-1 na admissão foram 100,9 pg/mL, 14,3 pg/mL e 44,8 pg/mL, respectivamente. O tempo médio de acompanhamento dos pacientes foi de 2,6 anos. Os níveis de CCL-2 não foram associados ao prognóstico em um ano, no entanto pacientes com níveis mais baixos da quimiocina apresentaram pior prognóstico em dois anos, com aumento do risco de óbito por IAM ou novo IAM não-fatal mesmo após ajuste por fatores de risco cardiovascular e medicamentos. Os níveis de IL-1 β não foram associados ao prognóstico em um ano e dois anos. O nível de netrina-1

acima da mediana foi associado a pior prognóstico em um ano e dois anos (óbito por todas as causas), no entanto a associação não foi observada após ajuste do modelo.

Conclusão: Níveis reduzidos de CCL-2 e níveis elevados de netrina-1 foram associados a pior prognóstico. Acredita-se que a menor concentração de CCL-2 possa promover recrutamento insuficiente de monócitos para a cicatrização do infarto. Esse é o primeiro estudo a avaliar o valor prognóstico de netrina-1 em pacientes com SCA.

Palavras-chave: Síndrome Coronariana Aguda. Prognóstico. Marcadores inflamatórios. CCL-2. IL-1 β . Netrina-1.

ABSTRACT

Objective: Evaluate the prognostic value of some markers related to activation of macrophages (CCL-2, IL-1 β and netrin-1) in patients with Acute Coronary Syndrome (ACS) included in the Strategy of Registry of Acute Coronary Syndrome study (ERICO).

Methods: We determined the concentration of CCL-2, IL-1 β and netrin-1 by ELISA in serum samples of 803 patients. Data collection was conducted on cardiovascular risk factors, heart failure history and biochemical tests. The population was characterized and the prognostic value of markers was assessed at one-year and two-year follow-up. Analysis was conducted considering the median concentration of each marker to obtain the low and high CCL-2 groups, low and high IL-1 β and low and high netrin-1.

Results: The median age was 63 years. 58.5% of patients were men and 41.5% had NSTEMI. Hypertension, dyslipidemia, diabetes mellitus, current smoking, and previous heart failure presented frequencies of 75.5%, 47.1%, 37.9%, 28.1% and 24.4%, respectively. The median BMI was 26.8 kg/m². We observed high blood glucose (124.5 mg/dL), low HDL (37.0 mg/dL) and high LDL (101.0 mg/dL) levels. The median concentration of CCL-2, IL-1 β and netrin-1 were 100.9 pg/mL, 14.3 pg/mL, 44.8 pg/mL, respectively. The mean follow-up was 2.6 years. CCL-2 levels were not associated with prognosis in one-year follow-up. However, patients with lower CCL-2 levels had a worse prognosis in two-years follow-up with an increased risk of myocardial infarction mortality or new nonfatal myocardial infarction, even after adjusting for cardiovascular risk factors and medication. IL-1 β levels were not associated with prognosis in one year and two-year follow-up. Netrin-1 above the median was associated with worse prognosis in one year and two-year follow-up (all-cause mortality), but the association was not observed after model adjustment.

Conclusion: Lower CCL-2 levels and higher netrin-1 levels were associated with poor prognosis. We believe that lower concentration of CCL-2 can impair monocyte recruitment for myocardial infarction healing. This is the first study to evaluate the prognostic value of netrin-1 in patients with ACS.

Keywords: Acute Coronary Syndrome. Prognosis. Inflammatory markers. CCL-2. IL-1 β . Netrin-1.

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome Coronariana Aguda (SCA) ocorre como consequência da interrupção do suprimento de sangue para os cardiomiócitos, evento que promove desequilíbrio entre o suprimento de oxigênio e o consumo do mesmo pelo músculo cardíaco (Yun e Alpert, 1997; Vargas *et al.*, 2013). É causada principalmente pela formação de um trombo ou rompimento de uma placa aterosclerótica (Davies, 2000; Bentzon *et al.*, 2014; Makki *et al.*, 2015). Responsável por grande número de óbitos no Brasil e no mundo, a SCA possui alta prevalência e prognóstico desfavorável, além de promover gastos elevados (Teich e Araujo, 2011; Vargas *et al.*, 2013).

Diversos marcadores têm sido avaliados, especialmente na circulação sanguínea, com o objetivo de favorecer a tomada de decisão clínica e possivelmente contribuir para a redução da mortalidade, já observada nas últimas décadas (Libby *et al.*, 2002; Widera *et al.*, 2013; Makki *et al.*, 2015; Basra *et al.*, 2016).

Sabe-se que os macrófagos são células de grande importância na fisiopatologia da SCA, atuando em todos os estágios da aterosclerose e nas complicações provenientes da mesma (Ghattas *et al.*, 2013; Chinetti-Gbaguidi *et al.*, 2015). Essas células também possuem papel essencial na remodelação cardíaca, sendo defeitos nesse processo associados a complicações após o infarto (Frangogiannis, 2008). Dentre os marcadores de ativação dessas células estudados na SCA estão IL-1 β , CCL-2 e netrina-1, envolvidos desde o início da lesão aterosclerótica até à remodelação cardíaca. No entanto, trabalhos avaliando o valor prognóstico desses marcadores na SCA são escassos ou inexistentes. Com o presente trabalho pretende-se avaliar o papel dessas moléculas como preditores do prognóstico de pacientes incluídos no estudo ERICO, visando contribuir para um melhor manejo do paciente após a ocorrência da SCA.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Síndrome Coronariana Aguda

2.1.1 Definição e Epidemiologia

Atualmente as doenças cardiovasculares são a principal causa de mortalidade no mundo, sendo a maioria das mortes atribuídas à Doença Arterial Coronariana (DAC) (Fuster e Kovacic, 2014; Teich et al., 2015). A Síndrome Coronariana Aguda (SCA) é a manifestação mais grave da DAC, devido à sua alta prevalência e pior prognóstico. A SCA ocorre como consequência da isquemia aguda do miocárdio devido a um desequilíbrio entre o suprimento de oxigênio e o consumo do mesmo pelo músculo cardíaco (Yun e Alpert, 1997; Vargas *et al.*, 2013); sendo definida clinicamente como angina instável, Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) com ou sem supradesnivelamento do segmento ST (Teich et al., 2015) e morte súbita por isquemia (Fuster e Kovacic, 2014).

Nos Estados Unidos, a cada ano são registrados aproximadamente 635 mil novos episódios de SCA, e aproximadamente 280 mil eventos recorrentes. Apesar de uma redução substancial na mortalidade por SCA (Vargas *et al.*, 2013; Makki *et al.*, 2015; Basra *et al.*, 2016), estima-se que 40% dos pacientes que sofrem um evento coronariano morrerão em cinco anos, como o risco de morte cinco a seis vezes maior em indivíduos que sofreram um evento recorrente. O custo econômico relacionado à SCA também é importante, sendo o custo anual por paciente estimado em mais de 20 mil dólares, associado principalmente a hospitalizações.

Estima-se que em 2009 os custos diretos e indiretos chegaram a 310 bilhões de dólares (Vargas *et al.*, 2013; Makki *et al.*, 2015).

No Brasil, de acordo com Polanczyk e Ribeiro (2009), de 5% a 8% dos adultos acima dos 40 anos apresentam SCA. Em 2011 a SCA foi responsável por mais de 100 mil óbitos no país (Mattos *et al.*, 2013), sendo registradas mais de 85 mil mortes por Infarto Agudo do Miocárdio em 2013 (Brasil, 2013). No estudo de Teich e Araújo (2011), o custo total estimado para SCA no ano de 2011 foi de 3,8 bilhões de reais, considerando-se os custos do Sistema Único de Saúde (SUS) e do Sistema Suplementar de Saúde (SSS). Teich *et al.* (2015) observaram em hospitais do SSS que o custo médio por dia de internação com pacientes com SCA tratados somente clinicamente foi de R\$ 1987,03, enquanto o custo médio por dia de internação com pacientes que realizaram angioplastia com *stent* foi de R\$ 6033,40.

Avanços nas estratégias de prevenção e tratamentos agudos têm promovido redução da mortalidade por SCA. Escores de risco têm sido elaborados e diversos biomarcadores têm sido estudados visando auxiliar a tomada de decisão clínica (Widera *et al.*, 2013; Basra *et al.*, 2016). Nesse sentido torna-se importante o conhecimento da fisiopatologia da SCA.

2.1.2 Fisiopatologia e classificação

A Síndrome Coronariana Aguda é causada principalmente pela formação de um trombo ou pela hemorragia súbita de uma placa aterosclerótica que resulta em oclusão parcial ou completa da artéria coronária, interrompendo o suprimento de sangue para o músculo cardíaco (Davies, 2000; Bentzon *et al.*, 2014; Makki *et al.*, 2015).

A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica caracterizada por espessamento assimétrico da íntima da artéria (lesão aterosclerótica ou ateroma) causado pelo acúmulo de lipídios e células inflamatórias na parede dos vasos, sendo as regiões próximas a ramificações arteriais ou de curvatura mais susceptíveis à formação da placa (Wierda *et al.*, 2010; Libby *et al.*, 2011; Wentzel *et al.*, 2012; Bentzon *et al.*, 2014). A progressão da doença é lenta, podendo permanecer silenciosa por anos ou décadas (Trost e Lange, 2011; Crea e Liuzzo, 2013).

Estímulos crônicos da resposta imunológica inata e adaptativa, como hipertensão, mediadores pró-inflamatórios e lipoproteína de baixa densidade (LDL) modificada por oxidação induzem as células endoteliais e células musculares lisas (CMLs) a expressarem moléculas de adesão como a molécula de adesão celular-vascular-1 (VCAM-1) e a molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e quimiocinas como a CC ligante 2 (CCL-2), que interage com receptores em monócitos, estimulando a adesão e migração dessas células. Paralelamente, mudanças na permeabilidade do endotélio e na composição da matriz extracelular promovem a entrada e retenção de partículas de LDL na parede da artéria (Tabas *et al.*, 2007; Steinberg e Witztum, 2010; Libby *et al.*, 2011; Bentzon *et al.*, 2014).

As células endoteliais e CMLs produzem ainda fatores de crescimento como o fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF) e o fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), que promovem a diferenciação dos monócitos em

macrófagos – as células mais abundantes nas placas – e células dendríticas. Essas células expressam receptores *scavenger* como CD36 e SR-A e endocitam as LDLs oxidadas levando à formação de células espumosas, termo que reflete o aspecto microscópico desses macrófagos carregados com lipídeos (Manning-Tobin *et al.*, 2009; Libby *et al.*, 2011).

Durante a formação da placa aterosclerótica também ocorre recrutamento de CMLs da túnica média para a túnica íntima da artéria. Essas células se proliferam em resposta a mediadores como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). Na íntima, as CMLs produzem moléculas da matriz extracelular, como colágeno e elastina, e formam uma capa fibrosa que recobre a placa. Essa capa cobre o conjunto formado pelas células espumosas, algumas das quais morrem (por apoptose, por exemplo) e liberam lipídeos que se acumulam extracelularmente. O *clearance* ineficiente das células mortas – um processo conhecido como eferocitose – pode promover o acúmulo de debris celulares e lipídeos extracelulares, formando uma região rica em lipídeos denominada núcleo necrótico da placa (Tabas, 2010; Libby *et al.*, 2011).

As manifestações clínicas decorrentes da placa aterosclerótica geralmente ocorrem pela produção de estenoses que podem limitar o fluxo sanguíneo levando à isquemia tecidual, ou pela formação de trombos que podem interromper o fluxo sanguíneo local ou embolizar e atingir artérias distais (Libby *et al.*, 2011). A ruptura da placa é a causa mais frequente de trombos. Algumas características anatômicas das placas as tornam mais susceptíveis à ruptura, levando à SCA. Geralmente essas placas possuem uma capa fibrosa fina, pobre em colágeno, com poucas CMLs, porém abundante em macrófagos.

As células inflamatórias podem acelerar a ruptura da placa pela produção de enzimas que degradam o colágeno (metaloproteinases de matriz extracelular ou MMP) e mediadores que

promovem a morte das CMLs (Libby, 2009; Libby *et al.*, 2011; Bentzon *et al.*, 2014; Makki *et al.*, 2015).

No Infarto Agudo do Miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST (IAMCST), o trombo é geralmente oclusivo e sustentado, enquanto que na angina instável (AI) e no Infarto Agudo do Miocárdio sem supradesnivelamento do Segmento ST (IAMSST), o trombo é usualmente incompleto e dinâmico ou mesmo ausente (Bentzon *et al.*, 2014; Makki *et al.*, 2015). Raros casos de SCA incluem embolia, abuso de cocaína, dissecação arterial e trauma (Bentzon *et al.*, 2014).

A extensão final do infarto é determinada pelo tamanho da área do miocárdio perfundida pela artéria obstruída, além da duração e gravidade da isquemia (Atar e Birnbaum, 2005). O segmento ST faz parte do traçado do eletrocardiograma (ECG) e é definido como o tempo entre o fim da despolarização dos ventrículos (complexo QRS) e o início da sua repolarização (onda T). O significado de cada parte do traçado do ECG é mostrado na Figura 1.

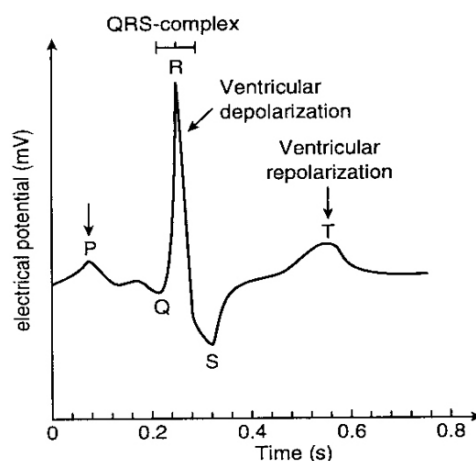


Figura 1. Traçado do eletrocardiograma

O traçado do eletrocardiograma é composto basicamente por cinco elementos (Ashley e Niebauer, 2004):

- A onda P é o traçado que corresponde à despolarização dos átrios (contração dos átrios)
- O intervalo PR é o tempo entre o início da despolarização dos átrios e dos ventrículos
- O complexo QRS é a despolarização dos ventrículos (contração dos ventrículos)
- O segmento ST é o tempo entre o fim da despolarização e o início da repolarização dos ventrículos
- A onda T é a repolarização dos ventrículos, que passam a ficar aptos para nova contração

De forma simplista, pode-se dizer que a elevação do segmento ST representa a isquemia transmural (afetando todas as camadas do músculo cardíaco) e tem sido correlacionada com ambos, gravidade e extensão do miocárdio isquêmico (Atar e Birnbaum, 2005).

A inflamação contribui para muitas das características das placas envolvidas na fisiopatologia da SCA, atuando inclusive na regulação do potencial trombogênico da placa aterosclerótica (Ghattas *et al.*, 2013; Bentzon *et al.*, 2014; Libby *et al.*, 2014). Estudos têm elucidado os mecanismos moleculares pelos quais a ativação de células inflamatórias na placa podem promover a formação de trombos. Os principais mediadores da coagulação induzida pela inflamação são as citocinas pró-inflamatórias. Diversos estudos demonstraram, em particular, a importância da interleucina 6 (IL-6) no início da ativação da coagulação e o papel do fator de necrose tumoral (TNF) e da interleucina 1 (IL-1) na modulação da coagulação (Levi e Van Der Poll, 2005; Croce e Libby, 2007; Crea e Liuzzo, 2013; Libby *et al.*, 2014).

Como visto anteriormente, os macrófagos exercem um papel importante durante todos os estágios da aterosclerose, desde a iniciação até a progressão e desenvolvimento de complicações (Ghattas *et al.*, 2013; Chinetti-Gbaguidi *et al.*, 2015). Desse modo, uma revisão mais aprofundada da participação dessas células na SCA é de especial interesse, destacando-se a importância de CCL-2, IL-1 β e netrina-1, marcadores que serão abordados no presente trabalho.

2.1.3 Monócitos/Macrófagos e aterosclerose: papel de CCL-2, IL-1 β e netrina-1

CCL-2 é um membro da classe CC da família de quimiocinas e um dos principais fatores envolvidos na iniciação da inflamação. É a quimiocina CC mais profundamente caracterizada, um polipeptídeo monomérico com peso molecular de 9000 a 15000 Da, identificada inicialmente como quimioatraente específico para monócitos, porém mais tarde demonstrou-se que pode atrair também linfócitos T e células natural killer, mas não neutrófilos. CCL-2 é secretada por fibroblastos, células endoteliais, células musculares lisas, monócitos, células T e outros tipos celulares que medeiam o influxo de células para os sítios de inflamação (Coll *et al.*, 2007; Melgarejo *et al.*, 2009)

Expressão aumentada de CCL-2 foi demonstrada em uma variedade de condições associadas à inflamação e infiltração de células mononucleares. Evidências experimentais sugerem que CCL-2 é altamente expressa em placas ateroscleróticas (Nelken *et al.*, 1991) e medeia o recrutamento de macrófagos para a lesão. LDL minimamente oxidada, mas não LDL nativa, induz a produção de CCL-2 pelas células endoteliais e células musculares lisas. Atua na quimiotaxia e migração transendotelial de monócitos para as lesões inflamatórias, se ligando a proteoglicanos na superfície das células endoteliais e interagindo com o receptor 2 de quimiocina CC (CCR2) na membrana dos monócitos. Essa ligação inicia interações firmes mediadas por

integrinas entre monócitos e células endoteliais, resultando em diapedese dos monócitos para o subendotélio, com subsequente diferenciação em macrófagos (Gonzalez-Quesada e Frangogiannis, 2009). A expressão de CCL-2 foi observada em diversos tecidos durante a progressão de doenças dependentes de inflamação, incluindo aterosclerose, artrite e câncer. Nesses casos, o influxo de macrófagos para esses tecidos parece exacerbar as doenças (Taylor *et al.*, 2000; Shin *et al.*, 2002; O'hayre *et al.*, 2008; Melgarejo *et al.*, 2009).

O potencial papel de CCL-2 na progressão da aterosclerose e na ruptura da placa é menos conhecido. A quimiocina induz a proliferação de células musculares lisas e pode exercer efeito angiogênico, promovendo a formação de novos vasos na placa, levando à rápida progressão da lesão. CCL-2 também pode exercer um papel na ruptura da placa pela indução da expressão e liberação de metaloproteinases. Ainda, CCL-2 pode ter propriedades pró-coagulantes pela indução da síntese e atividade do fator tecidual em células musculares lisas. (Schechter *et al.*, 1997; Robinson *et al.*, 2002; Doyle e Caplice, 2007; Gonzalez-Quesada e Frangogiannis, 2009).

Os macrófagos na placa aterosclerótica expressam diferentes fenótipos de polarização (M1 e M2 ou classicamente e alternativamente ativados) e exercem múltiplos efeitos no desenvolvimento da lesão. Quimiocinas, citocinas e fatores de crescimento podem contribuir para a polarização fenotípica dessas células no ateroma (Leitinger e Schulman, 2013).

Alguns macrófagos tem um fenótipo do tipo M2 e podem secretar fatores como TGF- β , que favorecem a resolução da inflamação (Libby *et al.*, 2011; Leitinger e Schulman, 2013; Bentzon *et al.*, 2014). Outros macrófagos apresentam um fenótipo pró-inflamatório (tipo M1), possivelmente pela ligação da LDL modificada a receptores de reconhecimento de padrão, como receptores do tipo Toll (TLR) e secretam citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina-1 β (IL-1 β) (Libby *et al.*, 2011; Leitinger e Schulman, 2013; Bentzon *et al.*, 2014).

IL-1 β é uma citocina que faz parte da família IL-1, capaz de induzir a expressão de outras citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, moléculas de adesão e metaloproteinases, favorecendo o recrutamento de células inflamatórias para a lesão e a injúria tecidual (Frangogiannis, 2008; Dinarello, 2009; Cignarella, 2011; Stegger *et al.*, 2012). Na fase inicial de formação da placa aterosclerótica a citocina age nas células endoteliais promovendo o aumento da síntese de moléculas de adesão que medeiam o recrutamento e subsequente extravasamento das células imunes, incluindo macrófagos, para a íntima da artéria (Bhaskar *et al.*, 2011).

Os macrófagos produzem grandes quantidades de IL-1 β via ativação do inflamassoma NLRP3 em resposta a estímulos aterogênicos, como cristais de colesterol (Duewell *et al.*, 2010), induzindo a produção de citocinas e quimiocinas pelas células endoteliais e células musculares lisas. Em modelo murino, a deleção do gene para IL-1 β (Kiri *et al.*, 2003) ou para IL-R1, receptor da citocina (Chamberlain *et al.*, 2009) promoveu redução da lesão aterosclerótica quando comparada a controles sem as deleções. Em humanos, a expressão de RNAm para IL-1 β é aumentada em placas ateroscleróticas, quando comparada a artérias sem placas (Olofsson *et al.*, 2009).

Além das citocinas pró-inflamatórias, são secretadas espécies reativas de oxigênio e enzimas, como a mieloperoxidase (MPO), que promovem maior retenção e modificação das LDLs. Outros mediadores, como catepsinas e metaloproteinases de matriz extracelular, também têm demonstrado exercer papel na aterosclerose (Bentzon *et al.*, 2014).

As células espumosas possuem papel tão crucial na fisiopatologia da aterosclerose que a maioria dos estudos tem sido endereçados ao entendimento dos mecanismos de recrutamento de monócitos para as placas e na identificação de estratégias para reduzir o influxo dessas células, visando retardar a progressão da placa. No entanto, tem se tornado aparente o papel dessas células na regressão da placa (Moore *et al.*, 2013). Os macrófagos são essenciais na manutenção

de uma eferocitose eficiente, contribuindo para a resolução da inflamação e prevenção da formação do núcleo necrótico (Chinetti-Gbaguidi *et al.*, 2015).

Sabe-se que durante a formação do ateroma a emigração dos macrófagos da placa aterosclerótica é reduzida, podendo favorecer a formação e a ruptura do trombo, contribuindo para o desenvolvimento da SCA (Colin *et al.*, 2014; Libby *et al.*, 2014). No entanto, uma redução do egresso dessas células em placas mais avançadas tem sido relatada. É possível que esses macrófagos estejam susceptíveis a sinais tanto de retenção quanto de emigração, e que o balanço dessas forças regule seu acúmulo na placa (Moore *et al.*, 2013).

Os sinais de retenção e emigração estão começando a ser investigados. Recentemente, moléculas de orientação neuronal, especialmente netrina-1, têm sido identificadas como importantes moduladores da aterosclerose, embora seu papel específico (protetor ou deletério) ainda não tenha sido totalmente elucidado (Joseph e Quan, 2013; Layne *et al.*, 2015).

Netrinas constituem uma família de proteínas secretadas que são estruturalmente semelhantes às lamininas, componentes estruturais da membrana basal dos tecidos (Tessier-Lavigne e Goodman, 1996; Yurchenco e Wadsworth, 2004; Cirulli e Yebra, 2007). Inicialmente foram identificadas como moléculas de orientação neuronal durante o desenvolvimento embrionário. O nome netrina vem da palavra em sânscrito *netr*, cujo significado é “aquele que guia”. Possui atividade quimioatraente ou quimiorepelente, dependendo do receptor a que se liga. A ação quimioatraente de axônios é feita pela ligação ao receptor deletado no câncer de cólon (DCC) e ao receptor neogenina (membros da superfamília das imunoglobulinas) (Cirulli e Yebra, 2007; Layne *et al.*, 2015). A repulsão, por sua vez, se dá pela sua ligação aos receptores uncoordinated-5 (UNC5) (Livesey, 1999).

O papel de netrina-1 na doença cardiovascular e na inflamação aguda é uma área emergente de estudo. A identificação dos receptores DCC e UNC5 em tipos celulares além dos

neurônios suporta a hipótese de que netrina-1 está envolvida em funções fora do sistema nervoso central. Nos últimos anos, tornou-se aparente que netrina-1 possui envolvimento em diversas respostas fisiológicas, incluindo a angiogênese e a inflamação, tornando-a um potencial alvo terapêutico (Layne *et al.*, 2015).

Oksala *et al.* (2013) avaliaram a expressão gênica de netrina-1 no sangue total, monócitos circulantes e placas ateroscleróticas de pacientes com doença arterial coronariana, não observando diferenças na expressão no sangue e monócitos quando comparados os pacientes e controles saudáveis. Nas placas verificou-se uma menor expressão de netrina-1 e uma maior expressão do seu receptor UNC5b em relação a controles livres de placas. Ainda, o aumento da expressão de UNC5b foi associada a placas histologicamente mais estáveis. Nos estudos de Van Gils *et al.* (2012) e Wanschel *et al.* (2013) observou-se aumento da expressão das moléculas de orientação neuronal netrina-1 e semaforina 3E em macrófagos carregados com colesterol, promovendo a retenção dessas células *in vitro*. Durante a hipóxia, que é intimamente ligada à aterosclerose, a expressão dessas moléculas por macrófagos também é induzida (Moore *et al.*, 2013; Ramkhelawon *et al.*, 2013).

Interessantemente, essas moléculas parecem exercer efeito tanto na retenção quanto na redução da adesão de leucócitos. Van Gils *et al.* (2013) demonstrou que as moléculas de orientação neuronal, incluindo a netrina são diferentemente reguladas em condições que promovem ou protegem da aterosclerose. Netrina-1 foi expressa por células endoteliais e inibiu potentemente a migração de monócitos humanos induzida por quimiocinas. Sua expressão foi regulada negativamente por fatores pró-aterogênicos, incluindo forças de cisalhamento oscilatórias e citocinas pró-inflamatórias associadas à entrada dos monócitos na íntima da artéria. Ainda, a inibição dessas moléculas aumentou a adesão dos leucócitos ao endotélio *in vitro*.

O papel dos monócitos e macrófagos na SCA não se limita às etapas que precedem o IAM, sendo essas células importantes também na remodelação cardíaca após o infarto, tópico que será abordado a seguir.

2.2 Remodelação cardíaca após o Infarto Agudo do Miocárdio

O coração dos mamíferos não consegue produzir energia suficiente em condições anaeróbicas para manter os processos celulares essenciais, por isso um suprimento constante de oxigênio é indispensável para sustentar a função e viabilidade cardíaca. A injúria isquêmica no miocárdio resulta em diminuição da tensão de oxigênio intracelular, com subsequente perda de fosforilação oxidativa e geração de ATP. A depleção de ATP, por sua vez, leva à falência da bomba de sódio e potássio, levando ao influxo de sódio e água, causando edema celular. A interrupção do metabolismo aeróbico, depleção de ATP e acúmulo de produtos do metabolismo aeróbico (como ácido lático) ocorrem com apenas dez segundos de oclusão, com grande perda da contratilidade cardíaca quase simultaneamente, sendo evidente após 60 segundos de oclusão (Jennings *et al.*, 1990; Gonzalez-Quesada e Frangogiannis, 2009; Prabhu e Frangogiannis, 2016).

Minutos após a isquemia mudanças reversíveis na estrutura dos cardiomiócitos ocorrem, incluindo edema mitocondrial e celular e depleção de glicogênio. Injúria irreversível, evidenciada pela ruptura do sarcolema e a presença de pequenos corpos amorfos na mitocôndria, aparecem após 20 a 40 minutos. O mecanismo predominante de morte dos cardiomiócitos na área infartada é a necrose de coagulação, embora a apoptose também contribua para a perda de cardiomiócitos. As células mortas promovem uma reação inflamatória, ativando vias reparatórias

que no final resultam na formação de uma cicatriz (Jennings *et al.*, 1990; Gonzalez-Quesada e Frangogiannis, 2009; Prabhu e Frangogiannis, 2016).

A remodelação cardíaca depende de uma resposta inflamatória coordenada, incluindo três fases que se sobrepõem: a fase inflamatória, a fase proliferativa e a fase de maturação. A resposta inflamatória após o infarto envolve tanto células normalmente encontradas no coração quanto células recrutadas. Em condições normais o miocárdio contém um número relativamente pequeno de macrófagos, mastócitos e células dendríticas. A resposta inflamatória no tecido infartado está associada à regulação positiva de moléculas de adesão endoteliais, aumento da permeabilidade vascular e, finalmente, à regulação positiva de citocinas, com migração de células ativadas para a área infartada (Frangogiannis, 2008; Bonaventura *et al.*, 2016).

A morte dos cardiomiócitos ativa vias imunológicas resultando em uma resposta inflamatória intensa e transitória com o objetivo de retirar debris celulares e prover sinais moleculares para a ativação de células reparatórias. As plaquetas são as primeiras a chegarem, como resultado do processo de coagulação, seguidas por diferentes subtipos de leucócitos. Neutrófilos se acumulam no miocárdio infartado nas primeiras horas após a isquemia e atingem o pico após um dia. Depois disso, monócitos/macrófagos dominam o infiltrado celular. Durante a fase proliferativa, os subtipos de (M1 e M2 ou Ly-6C^{high} e Ly-6C^{low}) macrófagos secretam fatores de crescimento, recrutando e ativando células mesenquimais reparatórias, especialmente miofibroblastos e células vasculares. Os miofibroblastos secretam grandes quantidades de proteínas de matriz extracelular para preservar a integridade estrutural do ventrículo. O final da fase proliferativa é marcado pela apoptose das células reparatórias. A área infartada amadurece e uma cicatriz contendo colágeno é formada (Morimoto e Takahashi, 2007; Nahrendorf *et al.*, 2010; Bonaventura *et al.*, 2016).

A remodelação adversa após o IAM constitui a base estrutural para a insuficiência cardíaca isquêmica, sendo composta por mudanças de curto e longo prazo no tamanho, forma, função, composição celular e molecular do ventrículo. Os principais determinantes desse processo e de sua progressão clínica são a extensão do infarto inicial e um processo reparatório suficiente (Sutton e Sharpe, 2000; Prabhu, 2005; Prabhu e Frangogiannis, 2016). Dias e semanas após o infarto a cicatrização inadequada pode levar à expansão do infarto e dilatação do ventrículo, podendo ocorrer ruptura cardíaca e morte. Meses e anos após o IAM pode ocorrer aumento da pressão de enchimento, do estresse da parede e do volume do ventrículo esquerdo, propagando a remodelação adversa e levando a um prognóstico desfavorável. Por outro lado, a cicatrização adequada preserva a geometria ventricular e previne a insuficiência cardíaca (Sutton e Sharpe, 2000; Ertl e Frantz, 2005; Nahrendorf *et al.*, 2010).

2.2.1 Monócitos/Macrófagos na remodelação cardíaca após IAM: papel de CCL-2, IL-1 β e Netrina-1

O recrutamento e ativação de monócitos/macrófagos no miocárdio infartado são essenciais para os processos que ocorrem após o IAM. Os macrófagos ativados promovem a liberação de citocinas e proteinases, as quais podem induzir inflamação e remodelação do ventrículo esquerdo (Morimoto *et al.*, 2006). Alguns estudos indicam que algumas células endoteliais progenitoras são derivadas de linhagens de monócitos e participam da neovascularização em tecidos isquêmicos (Schmeisser *et al.*, 2001; Rehman *et al.*, 2003). Essas células secretam fatores angiogênicos como o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), sugerindo que monócitos/macrófagos podem melhorar a disfunção e remodelação do ventrículo esquerdo após o infarto (Rehman *et al.*, 2003; Morimoto *et al.*, 2006).

A presença, tempo e importância desses fagócitos foram investigados em diversos modelos animais. Os estudos confirmam que monócitos/macrófagos dominam o infiltrado celular nas primeiras duas semanas após o infarto e participam da cicatrização do tecido infartado (Sun e Weber, 1996; Yang *et al.*, 2002; Frangogiannis *et al.*, 2003; Dewald *et al.*, 2004). Estudos com deleção de CCL-2 ou do receptor CCR2 apontam o papel central dessa quimiocina e de seu receptor no recrutamento de monócitos para o infarto (Kaikita *et al.*, 2004; Dewald *et al.*, 2005). O aumento de CCL-2 no soro humano ocorre já nas primeiras 24 horas após o IAM (Shin *et al.*, 2002; Melgarejo *et al.*, 2009). Ainda, algumas moléculas de adesão como VCAM-1 apresentam regulação positiva no infarto e podem contribuir para o recrutamento de monócitos (Nahrendorf *et al.*, 2007; Nahrendorf *et al.*, 2009; Nahrendorf *et al.*, 2010)

Acredita-se que a cicatrização adequada após a morte de um grande número de cardiomiócitos requer uma resposta de macrófagos que promova equilíbrio entre as funções inflamatórias e reparatórias. Macrófagos possuem funções similares em feridas na pele e infarto do miocárdio (Cleutjens *et al.*, 1999; Frangogiannis *et al.*, 2002; Ertl e Frantz, 2005; Frantz *et al.*, 2009). Essas células exercem diversas funções no tecido infartado (Nahrendorf *et al.*, 2010):

- Liberam mediadores inflamatórios, como óxido nítrico, espécies reativas de oxigênio, interferon (IFN) γ , TNF, IL-1 e IL-6
- Fagocitam cardiomiócitos e neutrófilos que sofreram apoptose ou necrose, além de outros debris
- Liberam proteases como metaloproteinases de matriz extracelular (MMP) do tipo 2, 9 e 13 e outras enzimas que digerem o colágeno pré-existente, facilitando o movimento celular

- Promovem angiogênese por meio da secreção de VEGF e fator de crescimento de fibroblastos (FGF)
- Carregam enzimas reparatórias e fatores de sobrevivência como transglutaminases
- Estimulam a síntese de colágeno e deposição de miofibroblastos por meio da liberação de TGF- β e FGF

A soma dessas funções coloca os monócitos e macrófagos teciduais como principais reguladores da cicatrização do tecido infartado (Nahrendorf *et al.*, 2010).

A existência de subtipos de macrófagos pode explicar as funções inflamatórias e reparatórias dessas células na cicatrização. Um estudo em modelo murino (Nahrendorf *et al.*, 2007) revelou que a resposta dos monócitos no miocárdio é bifásica: monócitos pró-inflamatórios Ly-6C^{high} dominam do primeiro ao quarto dia e promovem digestão do tecido infartado e remoção de debris necróticos, enquanto os monócitos reparatórios Ly-6C^{low} dominam durante a resolução da inflamação e propagam o reparo tecidual. Os subtipos de monócitos expressam diferentes receptores de quimiocinas e assim respondem diferencialmente a quimiocinas liberadas na lesão cardíaca. CCL-2 é liberada durante a fase inflamatória e recruta preferencialmente Ly-6C^{high}. Uma vez recrutados, os subtipos de monócitos medeiam atividades biológicas distintas: monócitos Ly-6C^{high} expressam TNF, IL-1 β , mieloperoxidase (MPO), MMPs e outros fatores inflamatórios, enquanto os monócitos Ly-6C^{low} expressam IL-10, TGF- β e o fator pró-angiogênico VEGF, atuando na reparação do tecido. As propriedades biológicas dos subtipos de monócitos e seu recrutamento para o infarto se correlacionam com o tempo da cicatrização do tecido. A fase inflamatória e digestiva é seguida pela resolução ativa da inflamação e reparo tecidual. A resposta bifásica bem coordenada dos monócitos é necessária para a cicatrização adequada. A não ocorrência da fase inflamatória prejudica a remoção de cardiomiócitos mortos e outros debris, enquanto a não ocorrência da fase reparatória reduz a

geração de microvasculatura e a deposição de colágeno. Pacientes com IAM mostram uma resposta bifásica de monócitos semelhante à descrita no modelo murino (Tsujioka *et al.*, 2009), ou seja, a cicatrização eficiente após o infarto depende de uma mobilização coordenada de monócitos para o miocárdio isquêmico (Nahrendorf *et al.*, 2010)

Além de CCL-2, a importância de IL-1 β na remodelação cardíaca tem sido avaliada. A regulação positiva de IL-1 foi descrita em modelos experimentais de infarto do miocárdio (Herskowitz *et al.*, 1995; Dewald *et al.*, 2004). Ainda, um aumento significativo dos níveis de IL-1 β em pacientes com ACS foi relatada (Guillen *et al.*, 1995; Ertl e Frantz, 2005). Em modelo murino há dois picos de expressão gênica de IL-1 β após infarto: nas primeiras 24 horas, principalmente pelo endotélio vascular e após sete dias, principalmente pelos macrófagos infiltrados na zona infartada. A presença da citocina nesses sítios foi confirmada por imunohistoquímica (Herskowitz *et al.*, 1995; Frantz *et al.*, 2009).

Estudo de Hwang *et al.* (2001) sugere um papel protetor de IL-1 β na fase aguda do infarto do miocárdio, demonstrando que a neutralização de IL-1 β nessa fase resultou na maior ocorrência de ruptura cardíaca e de remodelação adversa. IL-1 β estimula a síntese de RNAm para MMP em fibroblastos cardíacos, sugerindo que a sinalização de IL-1 seja essencial para a ativação das vias inflamatórias e fibrogênicas na cicatrização do infarto e pode exercer um importante papel na patogênese da remodelação após o infarto (Bujak *et al.*, 2008; Frangogiannis, 2008).

Netrina-1 também tem sido estudada nas condições que envolvem a remodelação cardíaca. A formação de redes vasculares compartilha diversas similaridades com a orientação neuronal (Carmeliet e Tessier-Lavigne, 2005). Mitógenos como VEGF e o fator de crescimento epidérmico (EGF) regulam o crescimento e proliferação das células endoteliais. Interessantemente, netrina-1 é estruturalmente homóloga aos mitógenos endoteliais (Nguyen e

Cai, 2006). Park *et al.* (2004) demonstraram que netrina-1 estimula o crescimento de células endoteliais da veia umbilical e células musculares lisas. Nguyen e Cai (2006) verificaram que netrina-1 estimula a angiogênese em células endoteliais da aorta, via óxido nítrico, produzido pela enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS).

Zhang e Cai (2010), Mao *et al.* (2014) e Bouhidel *et al.* (2015), avaliando netrina-1 em modelo de infarto do miocárdio induzido por isquemia/reperfusão, observaram redução do tamanho do infarto, da apoptose de cardiomiócitos e do recrutamento de neutrófilos e macrófagos quando comparados a controles que não receberam netrina-1. Ainda, o tratamento com netrina-1 induziu a expressão gênica de marcadores de macrófagos M2 e suprimiu os de macrófagos M1, quando comparados a controles não tratados.

Uma vez destacada a importância dos macrófagos na SCA e na remodelação cardíaca após o infarto, a investigação de marcadores de ativação dessas células nesses pacientes e do valor prognóstico desses marcadores pode contribuir para uma melhor tomada de decisão clínica, no entanto são ainda escassos os dados na literatura. Sabe-se que marcadores de ativação de monócitos geralmente estão aumentados em pacientes com SCA, persistindo até um mês após o evento agudo (Tapp *et al.*, 2012).

O próximo tópico aborda a importância do estudo de fatores prognósticos na SCA, contexto em que o presente trabalho se insere.

2.3 Fatores prognósticos na SCA

Fatores prognósticos são parâmetros possíveis de mensuração no momento do diagnóstico que servem como preditores da sobrevida ou do tempo livre de doença (Abreu e Koifman, 2002). Sobreviventes de um IAM enfrentam um risco substancial de novos eventos cardiovasculares, incluindo morte, novo IAM e angina recorrente (Brandão, 2015).

O aprimoramento do conhecimento sobre fatores prognósticos favorece o progresso desse campo da ciência, embora a utilização na prática diária ainda não seja tão efetiva quanto o necessário (Abreu e Koifman, 2002).

Diversos estudos avaliaram fatores prognósticos na SCA. Dentre eles pode-se citar o trabalho de Kolman *et al.* (2009), que encontrou forte associação entre glicemia de jejum e mortalidade, principalmente em pacientes não-diabéticos. Shin *et al.* (2016) avaliaram hemoglobina glicada (HbA1c) em uma população com IAMCST, não verificando associação. Distelmaier *et al.* (2014) observaram que o acúmulo de neutrófilos na lesão é um preditor forte e independente de mortalidade em pacientes com SCA. Myint *et al.* (2014) avaliaram a relação entre os níveis de troponina e a faixa etária, concluindo que o valor prognóstico da troponina deve levar em conta a idade do paciente.

Ainda, alguns trabalhos têm confirmado a correlação de marcadores de inflamação circulantes (como proteína C reativa, proteína amilóide sérica A e IL-6) com a probabilidade de desenvolver eventos isquêmicos e com o prognóstico após SCA (Libby *et al.*, 2002). Chen *et al.* (2011) publicaram uma meta-análise com o objetivo de comparar o prognóstico a longo prazo de pacientes com níveis altos e baixos de mieloperoxidase (MPO), observando que pacientes com altos níveis de MPO apresentam um pior prognóstico.

Estudos avaliando CCL-2 em humanos ainda são poucos e inconsistentes (Ding *et al.*, 2015). Níveis elevados de CCL-2 foram associados a um pior prognóstico em alguns trabalhos (De Lemos *et al.*, 2003; Buyukkaya *et al.*, 2013; Tuñón *et al.*, 2014). Recentemente, no entanto, Ding *et al.* (2015) observaram que tanto níveis elevados (maior tercil) quanto níveis baixos (menor tercil) de CCL-2 foram associados a um aumento do risco de óbito por todas as causas e por causas cardiovasculares.

A avaliação do valor prognóstico de IL-1 β na doença arterial coronariana é ainda mais escassa. Kilic *et al.*(2006) e Correia *et al.* (2010) observaram níveis mais elevados da citocina em pacientes que apresentaram novos eventos cardiovasculares quando comparados aos pacientes que não apresentaram novos eventos.

Até o momento não existem trabalhos avaliando o valor prognóstico de netrina-1 na SCA.

3 JUSTIFICATIVA

As doenças cardiovasculares são as principais causas de mortalidade no mundo, sendo a Síndrome Coronariana Aguda uma das manifestações que apresenta maior prevalência e pior prognóstico. A literatura aponta a associação de diversos marcadores de inflamação circulantes e o prognóstico da SCA. No entanto, moléculas importantes na fisiopatologia da SCA e na remodelação cardíaca após o infarto, principalmente por seu envolvimento na ativação de macrófagos nessas condições, ainda não foram avaliadas quanto ao seu valor prognóstico. Sendo assim, a avaliação proposta no presente trabalho é justificada, com o objetivo de favorecer o manejo do paciente pós IAM e possivelmente contribuir para a redução da mortalidade por SCA.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar o valor prognóstico dos marcadores inflamatórios CCL-2, IL-1 β e netrina-1, relacionados à ativação de macrófagos, em pacientes com SCA no acompanhamento de um ano e de dois anos, considerando os óbitos por todas as causas, óbitos por causas cardiovasculares (CV) e o desfecho combinado óbitos por IAM ou novo IAM não-fatal.

4.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar os pacientes de acordo com a idade, sexo, tipo de SCA, IMC, fatores de risco cardiovascular, uso de medicamentos na admissão, marcadores bioquímicos e inflamatórios
- Determinar as concentrações de CCL-2, IL-1 β e netrina-1 na admissão e classificar os pacientes de acordo com os níveis de cada um desses marcadores
- Avaliar o valor prognóstico de cada um dos marcadores inflamatórios avaliados, considerando o óbito por todas as causas, óbitos por causas cardiovasculares e o desfecho combinado óbito por IAM ou novo IAM não-fatal

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Projeto ERICO

O projeto Estratégia de Registro de Insuficiência Coronariana (ERICO), estudo de coorte prospectivo para investigação de Síndrome Coronariana Aguda, foi desenvolvido no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU-USP), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-HU/USP 866/08) (Goulart *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2015). O HU-USP é um hospital geral comunitário que atende à população do Butantã recebendo em média um caso de SCA por dia no pronto-socorro. Os casos confirmados são encaminhados para realização de cateterismo cardíaco e outros procedimentos intervencionistas em centros de referência, sempre que necessário. O projeto é realizado sob a supervisão do Centro de Pesquisa Clínica (CPC) do Hospital Universitário.

O estudo ERICO se caracteriza pelo seguimento, em longo prazo, dos indivíduos atendidos no HU-USP por SCA. Nesse contexto diversos projetos têm sido realizados. O presente trabalho está vinculado ao projeto “Avaliação dos fatores prognósticos associados à síndrome coronariana aguda no momento da admissão hospitalar e após 30 dias do evento no estudo "Estratégia de registro de insuficiência coronariana" (ERICO)”

5.2 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo de coorte prospectivo, que incluiu participantes de fevereiro de 2009 a dezembro de 2013, atendidos no HU-USP seguindo os seguintes critérios de inclusão:

1. Ter 18 anos de idade ou mais
2. Diagnóstico de um dos subtipos de SCA de acordo com os critérios abaixo definidos:

Infarto agudo do miocárdio (IAM): sintomas consistentes com isquemia miocárdica dentro das 24 horas da admissão hospitalar e troponina I acima do valor do percentil 99 e coeficiente de variação abaixo de 10%.

I. Infarto agudo do miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST - IAMCST: Presença dos três critérios a seguir: (a) Critério clínico-laboratorial para IAM; (b) Elevação persistente do segmento ST ≥ 1 mm em duas derivações eletrocardiográficas contíguas ou (c) presença de Bloqueio de Ramo Esquerdo (BRE) novo ou supostamente novo.

II. Infarto agudo do miocárdio sem supradesnivelamento do segmento ST - IAMSSST: (a) Critério clínico-laboratorial para IAM; (b) Ausência de elevação persistente do segmento ST ≥ 1 mm em duas derivações eletrocardiográficas contíguas bem como ausência de BRE novo ou supostamente novo.

III. Angina instável - AI: Presença dos seguintes critérios: (a) Sintomas compatíveis com isquemia miocárdica nas últimas 24 horas e (b) Ausência de diagnóstico de IAM, associados a pelo menos um dos cinco critérios a seguir: 1. história de Doença Arterial Coronariana (DAC) prévia; 2. estratificação de Doença Isquêmica do Coração (DIC) não-invasiva positiva; 3. alterações dinâmicas ou evolutivas no ECG; 4. troponina I > 0.4 ng/ml ou 5. concordância diagnóstica entre dois médicos independentes.

3. Concordar em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

5.2.1 Coleta de dados

Durante a fase hospitalar entrevistadores treinados coletaram dados referentes às características sociodemográficas, origem do paciente (de unidades de atenção primária, SAMU ou busca direta ao hospital), fatores de risco cardiovascular (hipertensão, diabetes, obesidade, dislipidemia, tabagismo atual ou pregresso, antecedente pessoal e familiar de doença coronariana), antecedentes de insuficiência cardíaca, uso de medicamentos, peso e altura (para cálculo do Índice de Massa Corporal).

Todos os participantes foram convidados a uma coleta de sangue a ser armazenado no biobanco do estudo. Este material biológico foi estocado em tanques de nitrogênio líquido. As amostras de material biológico colhidas no estudo foram centrifugadas até 30 minutos após a coleta. De cada participante foram estocados na coleta em jejum três amostras de soro, duas amostras de plasma-EDTA e uma amostra de plasma-citrato. O material foi armazenado em palhetas (straws) de 0,5 mL em tanque de nitrogênio a -180°C que faz parte da bioteca do Hospital Universitário – USP em funcionamento desde julho de 2008, financiada pelo Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA-Brasil (FINEP e CNPq) e pela Rede Nacional de Pesquisa Clínica (FINEP).

Seis meses após o evento índice e anualmente todos os participantes foram contatados por telefone para atualizar as informações sobre o estado vital e história cardiovascular. Os desfechos de interesse para este estudo foram a mortalidade geral e a mortalidade por doença cardiovascular. Todos os eventos referidos pelos participantes desencadeiam uma estratégia de validação pela equipe médica do estudo, baseado na revisão de prontuários. Dados sobre o estado vital dos participantes foram complementados pela pesquisa em fontes oficiais de

mortalidade no Estado de São Paulo. Esta estratégia incluiu os indivíduos que foram perdidos durante o acompanhamento ou que morreram desde o último contato. Quando possível, os atestados de óbito e o prontuário médico foram usados para validar a causa da morte.

5.2.2 Dosagens no soro

As análises de glicemia, níveis de triglicerídeos, colesterol total e colesterol HDL foram realizadas no HU-USP. Para o cálculo do LDL foi utilizada a equação de Friedewald: $\text{LDL colesterol mg/dL} = \text{Colesterol total} - \text{HDL-colesterol} - (\text{Triglicerídeos}/5)$ (Friedewald *et al.*, 1972). Duas amostras de soro colhidas na admissão foram enviadas ao Laboratório de Aterosclerose e Bioquímica Nutricional (LABiN) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), sendo mantidas congeladas do momento da coleta até a análise. As concentrações de CCL-2, IL-1 β e Netrina-1 foram avaliadas pelo método Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) no soro de 803 pacientes, de acordo com os protocolos descritos abaixo.

5.2.2.1 CCL-2 e IL-1 β

No primeiro dia de realização do ELISA placas Corning® foram sensibilizadas com 100 μ L do respectivo anticorpo de captura diluído em tampão de cobertura. A placa foi incubada *overnight*, a 4°C, em câmara úmida. No segundo dia, o anticorpo de captura foi descartado e as placas foram lavadas três vezes, com 300 μ L por poço de tampão de lavagem. Procedeu-se o bloqueio de ligantes inespecíficos com 200 μ L de solução diluente e incubação à temperatura ambiente por uma hora. A solução de bloqueio foi descartada e as placas foram lavadas uma vez com tampão de lavagem (300 μ L por poço). Em seguida foram plaqueados o branco, a curva padrão em diluição seriada e as amostras (100 μ L). A placa foi incubada *overnight*, a 4°C, em câmara úmida.

No terceiro dia de análise a placa foi lavada cinco vezes com tampão de lavagem (300 µL por poço) e foram acrescentados 100µL da solução de detecção, contendo o respectivo anticorpo de detecção em sua devida diluição. A placa foi novamente incubada à temperatura ambiente, por uma hora. Decorrido o tempo, a placa foi novamente lavada cinco vezes e foram acrescentados 100µL da solução contendo enzima avidina-HRP. A placa foi incubada por 30 minutos à temperatura ambiente. Procedeu-se a lavagem da placa sete vezes com tampão de lavagem (300 µL por poço), com intervalos de um minuto entre cada lavagem. 100µL do substrato TMB foram adicionados a cada poço. Após incubação por 30 minutos, à temperatura ambiente, a reação foi interrompida com 50 µL de H₂SO₄ 2N com leitura em espectrofotômetro a 450 nm.

5.2.2.2 Netrina-1

A análise foi realizada em um único dia. Foram adicionados à placa pré-coberta 100µL do branco, padrões e amostras. A placa foi incubada por duas horas (37 °C). Após remoção do conteúdo dos poços foram adicionados 100µL por poço da solução contendo o reagente de detecção A, com incubação por uma hora (37 °C). A placa foi lavada três vezes com 350 µL por poço da solução de lavagem, com intervalo de um minuto entre as lavagens. Adicionou-se 100µL da solução contendo o reagente de detecção B, com incubação por 30 minutos (37 °C). A placa foi lavada cinco vezes com 350 µL por poço da solução de lavagem. Foram adicionados 90µL do substrato em cada poço, com incubação por 15 a 25 minutos (37 °C). Na última etapa da técnica foram adicionados 50 µL da solução de parada em cada poço. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 450 nm.

5.3 Análise estatística

A análise estatística incluiu a descrição das características gerais dos pacientes e também de acordo com os níveis de CCL-2, IL-1 β e netrina-1. Dentre as informações colhidas no Projeto ERICO foram utilizadas no presente trabalho as seguintes variáveis:

- Qualitativas: sexo, tabagismo, hipertensão, Diabetes Mellitus, dislipidemia, ICO prévia, tipo de SCA, uso de medicamentos na admissão, óbito (todas as causas, cardiovascular e por IAM) e novo IAM não-fatal
- Quantitativas: idade, Índice de Massa Corporal (IMC), glicemia, níveis de triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e concentração de CCL-2, IL-1 β e netrina-1

As variáveis qualitativas foram analisadas pelo teste do Qui-quadrado ou Teste Exato de Fisher e as variáveis quantitativas pelo teste de Mann-Whitney (por apresentarem distribuição não paramétrica segundo o teste de Kolgomorov-Smirnov). Para correlações utilizou-se a correlação de Spearman. Taxas de eventos fatais (geral, cardiovascular e por IAM) e ocorrência de novo IAM não-fatal também foram avaliadas. O método de Kaplan Meier foi utilizado para avaliar a sobrevida de acordo com a mediana da concentração de CCL-2, IL-1 β e netrina-1 e as curvas de sobrevida foram comparadas pelo teste de log-rank. Estimativas de risco (razões de risco com seus respectivos intervalos de confiança de 95%) para os eventos foram calculadas utilizando-se Regressão de Cox. Foram utilizados os programas estatísticos SPSS (IBM SPSS Statistics para Windows, versão 22.0, Armonk, NY: IBM Corp.) e GraphPad Prism (versão 5.01 para Windows, San Diego, Califórnia: GraphPad Software). Todos os testes foram bicaudais com significância $< 0,05$.

Para o cálculo de sobrevida considerou-se como tempo zero o momento de entrada no Hospital Universitário, e como tempo final a data de último contato até 365 dias (acompanhamento de um ano) e até 730 dias (acompanhamento até dois anos) após o tempo zero. Foram considerados separadamente os eventos óbito por todas as causas, óbito por eventos cardiovasculares (óbitos por qualquer causa cardiovascular, incluindo IAM) e o desfecho óbito por Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) ou novo IAM não-fatal.

6 RESULTADOS

6.1 Características gerais da amostra

No presente estudo foram incluídos 803 pacientes. Observou-se maior proporção de pacientes do sexo masculino (58,5%). O tipo de SCA mais frequente na amostra foi o IAMSST (41,5%). Dentre os fatores de risco cardiovascular verificou-se que 75,5% dos pacientes apresentavam Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS). Tabagismo atual, Diabetes Mellitus, dislipidemias e ICO prévia apresentaram frequências de 28,1%, 37,9%, 47,1% e 24,4%, respectivamente. As características gerais da amostra são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Características gerais da amostra

Característica	n= 803
Idade em anos	63
Mediana (int. interquartil)	(54 – 74)
Sexo, n (%)	
Masculino	470 (58,5)
Feminino	333 (41,5)
Tipo de SCA, n (%)	
IAMSST	333 (41,5)
IAMCST	224 (27,9)
AI	246 (30,6)
IMC em kg/m ²	26,8
Mediana (int. interquartil)	(23,9 – 30,1)
Fatores de risco cardiovascular	
Tabagismo, n (%)	
Atual	226 (28,1)
Ex-tabagista	280 (34,9)
Nunca fumou	257 (32,0)
HAS, n (%)	606 (75,5)
Diabetes Mellitus, n (%)	304 (37,9)
Dislipidemia, n (%)	378 (47,1)
ICO prévia, n (%)	196 (24,4)
Uso de medicamentos na admissão	
Aspirina, n (%)	255 (31,8)
Estatina/Hipolipemiante, n (%)	179 (22,3)
Fibrato, n (%)	8 (1,0)
AINH, n (%)	10 (1,2)
Corticosteróides, n (%)	30 (3,7)
Imunossupressores, n (%)	5 (0,6)

SCA: Síndrome Coronariana Aguda. IAMSST: Infarto Agudo do Miocárdio sem supradesnivelamento do Segmento ST. IAMCST: Infarto Agudo do Miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST. AI: Angina Instável. IMC: Índice de Massa Corporal. HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica. ICO: Insuficiência Cardíaca Obstrutiva. AINH: Anti-inflamatórios não hormonais.

Os valores medianos dos níveis de CCL-2, IL-1 β e netrina-1 na admissão foram 100,9 pg/mL, 14,3 pg/mL e 44,8 pg/mL, respectivamente, definindo os pontos de corte para separação dos casos entre menor do que ou igual à mediana (\leq mediana, chamados de grupos “baixa”) ou maior do que a mediana ($>$ mediana, chamados de grupos “alta”). A mediana da concentração de marcadores bioquímicos e inflamatórios é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Marcadores bioquímicos e inflamatórios na admissão

Marcador	Concentração no soro Mediana (int. interquartil)
Glicemia (mg/dL)	124,5 (103,0 – 163,0)
Triglicerídeos (mg/dL)	130,0 (95,7 – 187,2)
Colesterol Total (mg/dL)	170,0 (140,0 – 204,0)
HDL (mg/dL)	37,0 (31,0 – 45,0)
LDL (mg/dL)	101,0 (77,0 – 131,0)
CCL-2 (pg/mL)	100,9 (59,8 – 181,0)
IL-1 β (pg/mL)	14,3 (7,1 – 29,7)
Netrina-1 (pg/mL)	44,8 (34,8 – 63,8)

HDL: Lipoproteína de alta densidade LDL: Lipoproteína de baixa densidade CCL-2:

Quimiocina CC ligante 2 IL-1 β : Interleucina 1 β .

6.2 Características de acordo com os níveis de marcadores inflamatórios

6.2.1 CCL-2

Avaliando-se as características da amostra de acordo com os níveis dos marcadores inflamatórios, verificou-se no grupo baixa CCL-2 menores níveis de colesterol total, colesterol LDL e IL-1 β , além de maiores níveis de netrina-1. Não foram observadas diferenças na mediana de idade, IMC, glicose, triglicerídeos e colesterol HDL. A frequência de pacientes do sexo feminino e masculino, o tipo de SCA, presença de hipertensão, Diabetes Mellitus, dislipidemias, histórico de ICO e uso de medicamentos também não foram significativamente diferentes entre os grupos. Os dados são apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3. Características de acordo com os níveis de CCL-2

Característica	CCL-2 baixa	CCL-2 alta	Valor-p
Idade em anos	62	63	0,804
Mediana (int. interquartil)	(54 – 74)	(54 – 73)	
Sexo, n (%)			0,967
Masculino	235 (58,5)	235 (58,6)	
Feminino	167 (41,5)	166 (41,4)	
Tipo de SCA, n (%)			0,486
IAMSST	166 (41,3)	167 (41,6)	
IAMCST	106 (26,4)	118 (29,4)	
AI	130 (32,3)	116 (28,9)	
IMC em kg/m ²	26,4	27,1	0,078
Mediana (int. interquartil)	(23,5 – 30,1)	(24,2 – 30,1)	
Fatores de risco cardiovascular			
Tabagismo, n (%)			0,459
Atual	109 (28,2)	117 (31,1)	
Ex-tabagista	150 (38,8)	130 (34,6)	
Nunca fumou	128 (33,1)	129 (34,3)	
HAS, n (%)	314 (79,1)	292 (74,3)	0,111
Diabetes Mellitus, n (%)	149 (37,9)	155 (40,2)	0,521
Dislipidemia, n (%)	178 (50,1)	200 (56,7)	0,082
ICO prévia, n (%)	103 (27,4)	93 (25,6)	0,585
Uso de medicamentos na admissão			
Aspirina, n (%)	135 (33,6)	120 (29,9)	0,266
Estatina/Hipolipemiante, n (%)	98 (24,4)	81 (20,2)	0,155
Fibrato, n (%)	4 (1,0)	4 (1,0)	1,000
AINH, n (%)	5 (1,2)	5 (1,2)	1,000
Corticosteróides, n (%)	14 (3,5)	16 (4,0)	0,705
Imunossupressores, n (%)	3 (0,7)	2 (0,5)	1,000

SCA: Síndrome Coronariana Aguda. IAMSST: Infarto Agudo do Miocárdio sem supradesnivelamento do Segmento ST. IAMCST: Infarto Agudo do Miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST. AI: Angina Instável. IMC: Índice de Massa Corporal. HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica. ICO: Insuficiência Cardíaca Obstrutiva. AINH: Anti-inflamatórios não hormonais. Teste de Mann-Whitney ou Teste do Qui-quadrado / Teste Exato de Fisher.

Tabela 4. Marcadores bioquímicos e inflamatórios de acordo com os níveis de CCL-2

Marcador	Concentração no soro Mediana (int. interquartil)		Valor-p
	CCL-2 baixa	CCL-2 alta	
Glicemia (mg/dL)	122,0 (101,0 – 162,0)	127,0 (107,0 – 163,0)	0,585
Triglicerídeos (mg/dL)	132,0 (94,0 – 185,0)	126,0 (97,0 – 189,0)	0,874
Colesterol Total (mg/dL)	165,0 (136,0 – 199,5)	174,5 (143,0 – 209,8)	0,035
HDL (mg/dL)	37,0 (31,0 – 44,7)	37,0 (30,0 – 45,0)	0,952
LDL (mg/dL)	96,0 (73,5 – 125,5)	106,0 (79,0 – 134,0)	0,023
IL-1 β (pg/mL)	13,4 (7,0 – 22,9)	15,8 (8,0 – 38,5)	<0,001
Netrina-1 (pg/mL)	45,8 (36,1 – 65,8)	43,8 (32,8 – 63,3)	0,018

HDL: Lipoproteína de alta densidade LDL: Lipoproteína de baixa densidade CCL-2: Quimiocina

CC ligante 2 IL-1 β : Interleucina 1 β . Teste de Mann-Whitney.

6.2.2 IL-1 β

Observou-se menor mediana de idade no grupo IL-1 β baixa, além de menores níveis de colesterol total, colesterol LDL, CCL-2 e maiores níveis de Netrina-1. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos de IL-1 β quanto ao sexo, tipo de SCA, tabagismo, HAS, Diabetes Mellitus, dislipidemias, histórico de ICO e uso de medicamentos. Os níveis de glicose, triglicerídeos e colesterol HDL também não foram diferentes entre os grupos, assim como o IMC. Os dados são apresentados nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5. Características de acordo com os níveis de IL-1 β

Característica	IL-1 β baixa	IL-1 β alta	Valor-p
Idade em anos	64	61	0,038
Mediana (int. interquartil)	(55 – 74)	(52 – 73)	
Sexo, n (%)			0,485
Masculino	231 (57,3)	239 (59,8)	
Feminino	172 (42,7)	161 (40,3)	
Tipo de SCA, n (%)			0,852
IAMSST	171 (42,4)	162 (40,5)	
IAMCST	110 (27,3)	114 (28,5)	
AI	122 (30,3)	124 (31,0)	
IMC em kg/m ²	26,6	26,9	0,702
Mediana (int. interquartil)	(23,6 – 30,1)	(24,2 – 30,1)	
Fatores de risco cardiovascular			
Tabagismo, n (%)			0,645
Atual	110 (28,3)	116 (31,0)	
Ex-tabagista	148 (38,0)	132 (35,3)	
Nunca fumou	131 (33,7)	126 (33,7)	
HAS, n (%)	313 (78,6)	293 (74,7)	0,195
Diabetes Mellitus, n (%)	159 (40,6)	145 (37,5)	0,376
Dislipidemia, n (%)	186 (52,7)	192 (54,1)	0,710
ICO prévia, n (%)	99 (25,9)	97 (27,2)	0,699
Uso de medicamentos na admissão			
Aspirina, n (%)	132 (32,8)	123 (30,8)	0,542
Estatina/Hipolipemiante, n (%)	91 (22,6)	88 (22,0)	0,843
Fibrato, n (%)	4 (1,0)	4 (1,0)	1,000
AINH, n (%)	3 (0,7)	7 (1,8)	0,222
Corticosteróides, n (%)	13 (3,2)	17 (4,3)	0,444
Imunossupressores, n (%)	3 (0,7)	2 (0,5)	1,000

SCA: Síndrome Coronariana Aguda. IAMSST: Infarto Agudo do Miocárdio sem supradesnivelamento do Segmento ST. IAMCST: Infarto Agudo do Miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST. AI: Angina Instável. IMC: Índice de Massa Corporal. HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica. ICO: Insuficiência Cardíaca Obstrutiva. AINH: Anti-inflamatórios não hormonais. Teste de Mann-Whitney ou Teste do Qui-quadrado / Teste Exato de Fisher.

Tabela 6. Marcadores bioquímicos e inflamatórios de acordo com os níveis de IL-1 β

Marcador	Concentração no soro Mediana (int. interquartil)		Valor-p
	IL-1 β baixa	IL-1 β alta	
Glicemia (mg/dL)	124,0 (101,5 – 169,5)	125,0 (103,5 – 160,5)	0,939
Triglicerídeos (mg/dL)	128,0 (96,0 – 183,5)	133,0 (94,0 – 190,5)	0,542
Colesterol Total (mg/dL)	166,0 (135,5 – 197,0)	177,5 (142,3 – 213,8)	0,002
HDL (mg/dL)	37,0 (30,0 – 43,0)	37,0 (31,0 – 47,0)	0,152
LDL (mg/dL)	96,5 (73,0 – 123,0)	108,5 (80,2 – 138,0)	<0,001
CCL-2 (pg/mL)	90,4 (55,3 – 159,9)	107,8 (64,8 – 208,2)	0,002
Netrina-1 (pg/mL)	45,8 (36,8 – 62,8)	42,8 (31,8 – 64,8)	0,024

HDL: Lipoproteína de alta densidade LDL: Lipoproteína de baixa densidade CCL-2:

Quimiocina CC ligante 2 IL-1 β : Interleucina 1 β . Teste de Mann-Whitney.

6.2.3 Netrina-1

A mediana de idade e IMC, assim como a frequência de pacientes dos sexos masculino e feminino, o tipo de SCA, tabagismo, presença de hipertensão, Diabetes Mellitus, dislipidemias, histórico de ICO e uso de medicamentos não foram significativamente diferentes entre os grupos Netrina-1 baixa e alta (Tabela 7).

Observou-se maior glicemia no grupo Netrina-1 alta. Não houve diferença significativa entre os grupos nos níveis de triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, IL-1 β e CCL-2 (Tabela 8). Porém, quando avaliada a correlação entre os níveis de IL-1 β e Netrina-1 e entre os níveis de CCL-2 e Netrina-1, observou-se correlação negativa fraca (ou desprezível), mas significativa, entre esses marcadores (ρ de Spearman= - 0,086; valor-p= 0,015 e ρ de Spearman= - 0,074; valor-p= 0,037, respectivamente).

Tabela 7. Características de acordo com os níveis de Netrina-1

Característica	Netrina-1 baixa	Netrina-1 alta	Valor-p
Idade em anos	63	63	0,838
Mediana (int. interquartil)	(54 – 73)	(54 – 74)	
Sexo, n (%)			0,908
Masculino	238 (58,3)	232 (58,7)	
Feminino	170 (41,7)	163 (41,3)	
Tipo de SCA, n (%)			0,273
IAMSST	158 (38,7)	175 (44,3)	
IAMCST	120 (29,4)	104 (26,3)	
AI	130 (31,9)	116 (29,4)	
IMC em kg/m ²	26,8	26,7	0,720
Mediana (int. interquartil)	(24,0 – 30,1)	(23,5 – 30,1)	
Fatores de risco cardiovascular			
Tabagismo, n (%)			0,669
Atual	121 (31,0)	105 (28,2)	
Ex-tabagista	139 (35,6)	141 (37,8)	
Nunca fumou	130 (33,3)	127 (34,0)	
HAS, n (%)	304 (75,8)	302 (77,6)	0,544
Diabetes, n (%)	154 (38,9)	150 (39,2)	0,937
Dislipidemia, n (%)	195 (53,9)	183 (52,9)	0,794
ICO prévia, n (%)	100 (26,6)	96 (26,4)	0,963
Uso de medicamentos na admissão			
Aspirina, n (%)	135 (33,1)	120 (30,4)	0,410
Estatina/Hipolipemiante, n (%)	99 (24,3)	80 (20,3)	0,172
Fibrato, n (%)	4 (1,0)	4 (1,0)	1,000
AINH, n (%)	5 (1,2)	5 (1,2)	1,000
Corticosteróides, n (%)	17 (4,2)	13 (3,3)	0,513
Imunossupressores, n (%)	4 (1,0)	1 (0,3)	0,374

SCA: Síndrome Coronariana Aguda. IAMSST: Infarto Agudo do Miocárdio sem supradesnivelamento do Segmento ST. IAMCST: Infarto Agudo do Miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST. AI: Angina Instável. IMC: Índice de Massa Corporal. HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica. ICO: Insuficiência Cardíaca Obstrutiva. AINH: Anti-inflamatórios não hormonais. Teste de Mann-Whitney ou Teste do Qui-quadrado / Teste Exato de Fisher.

Tabela 8. Marcadores bioquímicos e inflamatórios de acordo com os níveis de Netrina-1

Marcador	Concentração no soro Mediana (int. interquartil)		Valor-p
	Netrina-1 baixa	Netrina-1 alta	
Glicemia (mg/dL)	117,0 (100,0 – 151,0)	131,0 (107,0 – 175,5)	0,008
Triglicerídeos (mg/dL)	130,0 (97,0 – 191,0)	132,0 (93,0 – 184,5)	0,814
Colesterol Total (mg/dL)	170,0 (142,0 – 209,5)	171,0 (138,3 – 200,0)	0,508
HDL (mg/dL)	38,0 (31,0 – 45,0)	36,0 (30,0 – 45,0)	0,060
LDL (mg/dL)	102,0 (77,0 – 135,0)	100,0 (77,0 – 125,0)	0,478
IL-1 β (pg/mL)	15,5 (7,1 – 41,1)	13,5 (7,5 – 23,4)	0,131
CCL-2 (pg/mL)	106,3 (62,1 – 188,2)	93,3 (58,2 – 169,1)	0,112

HDL: Lipoproteína de alta densidade LDL: Lipoproteína de baixa densidade CCL-2:

Quimiocina CC ligante 2 IL-1 β : Interleucina 1 β . Teste de Mann-Whitney.

6.3 Marcadores inflamatórios e sobrevida

O tempo médio de acompanhamento dos pacientes foi de 2,6 anos ($957,14 \pm 526,21$ dias). Ocorreram 90 eventos no acompanhamento de um ano, sendo 62 óbitos por causas cardiovasculares. Houve 57 casos de óbito por IAM ou novo IAM não-fatal nesse período.

No acompanhamento de dois anos ocorreram 115 eventos, sendo 78 óbitos por causas cardiovasculares. Houve 67 casos de óbito por IAM ou novo IAM não-fatal nesse período.

Durante todo o acompanhamento (média de 2,6 anos) ocorreram 143 eventos, sendo 87 óbitos por causas cardiovasculares. Houve 80 casos de óbito por IAM ou novo IAM não-fatal nesse período.

Os níveis de CCL-2 não foram associados ao prognóstico em um ano (Figura 2). No entanto, pacientes com nível de CCL-2 na admissão abaixo ou igual à mediana (CCL-2 baixa) apresentaram pior prognóstico em dois anos, quando considerado o desfecho combinado óbito por IAM ou novo IAM não-fatal (Figura 3).

Os níveis de IL-1 β não foram associados ao prognóstico em um ano e dois anos (Figuras 4 e 5).

O nível de Netrina-1 acima da mediana (Netrina-1 alta) na admissão foram associados a pior prognóstico em um ano e dois anos, quando considerado o óbito por todas as causas (Figuras 6 e 7)

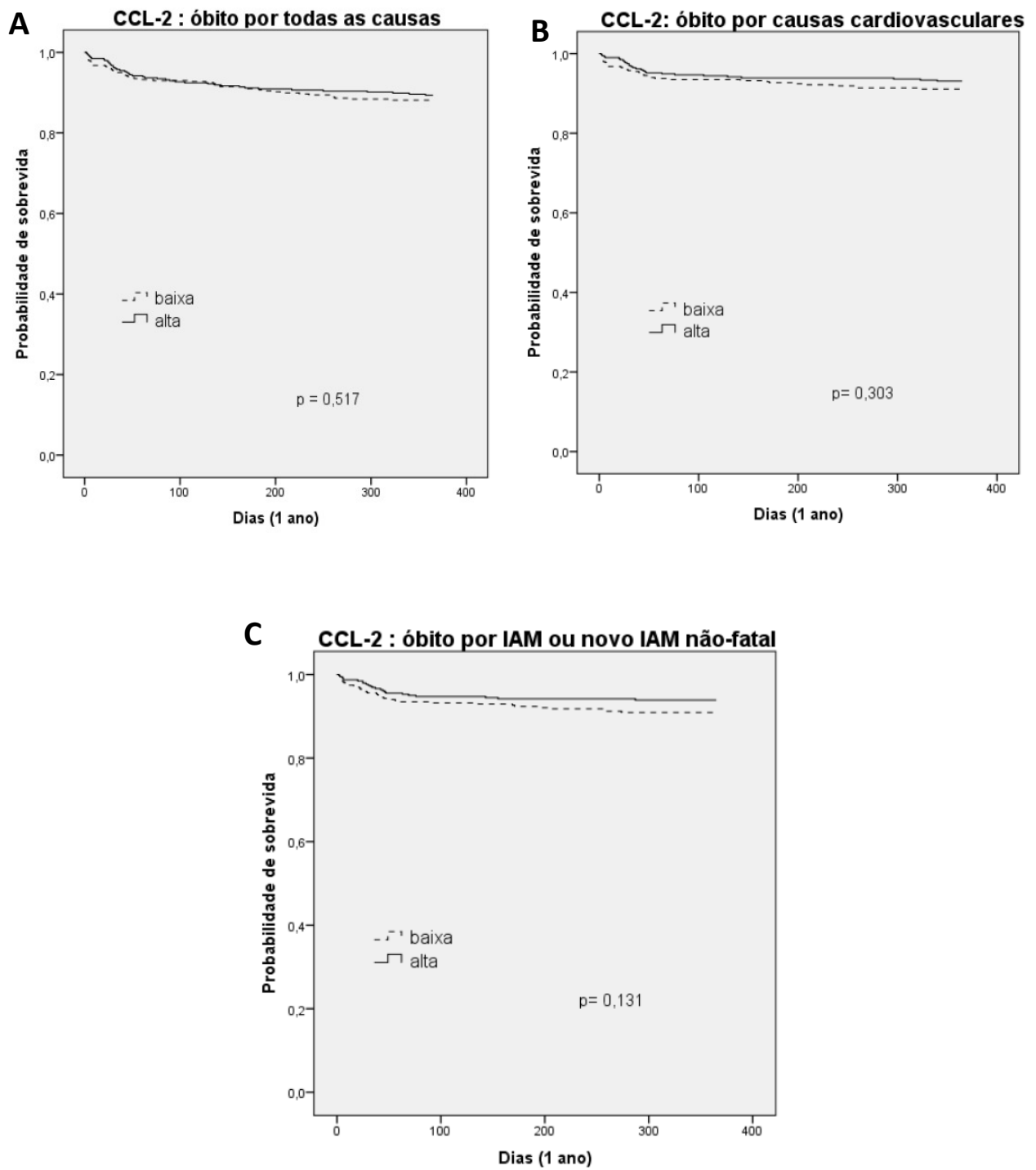


Figura 2. Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de um ano de acordo com os níveis de CCL-2. IAM: Infarto Agudo do Miocárdio. Teste de log-rank.

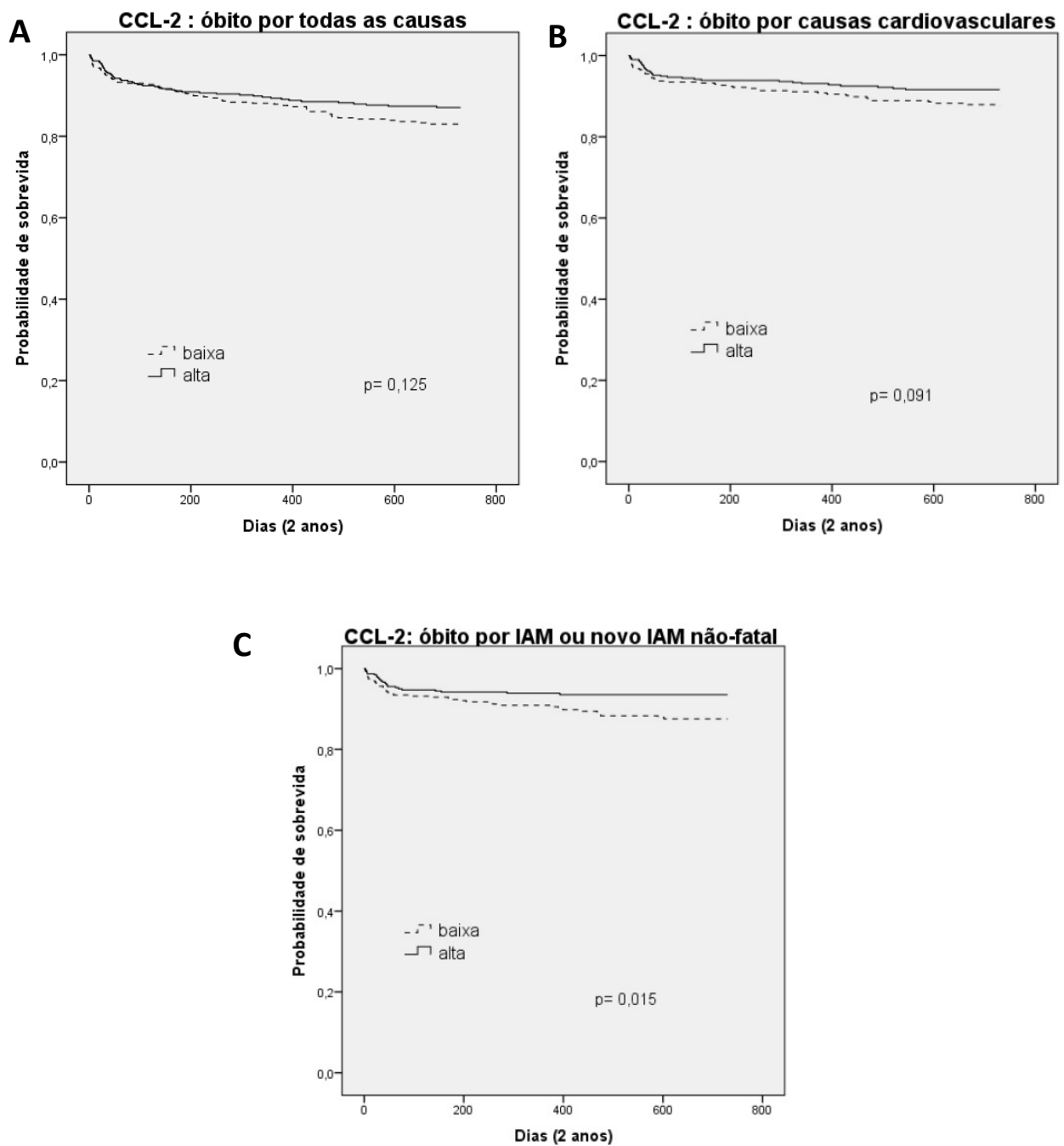


Figura 3. Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de dois anos de acordo com os níveis de CCL-2. IAM: Infarto Agudo do Miocárdio. Teste de log-rank.

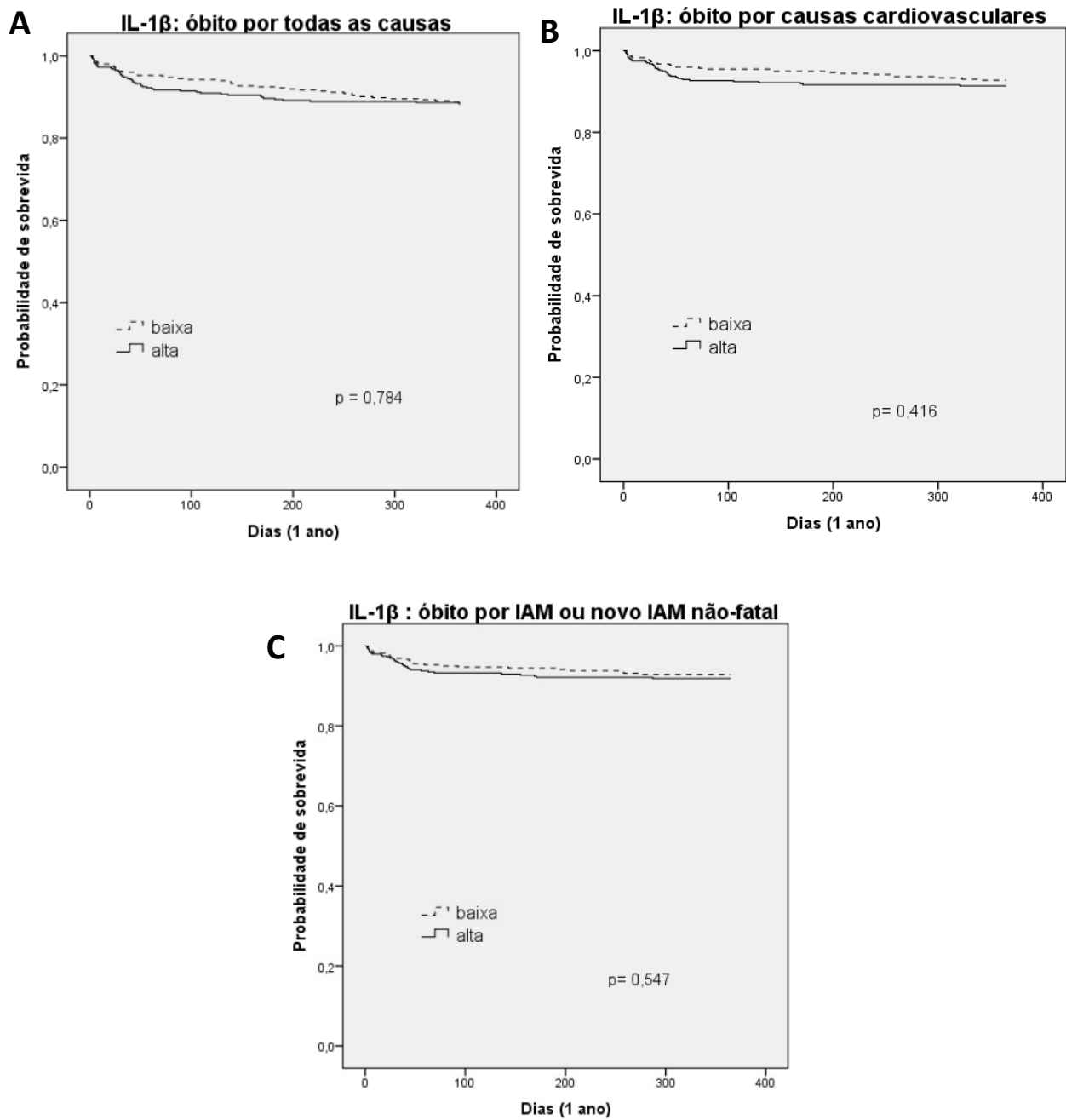


Figura 4. Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de um ano de acordo com os níveis de IL-1 β . IAM: Infarto Agudo do Miocárdio. Teste de log-rank.

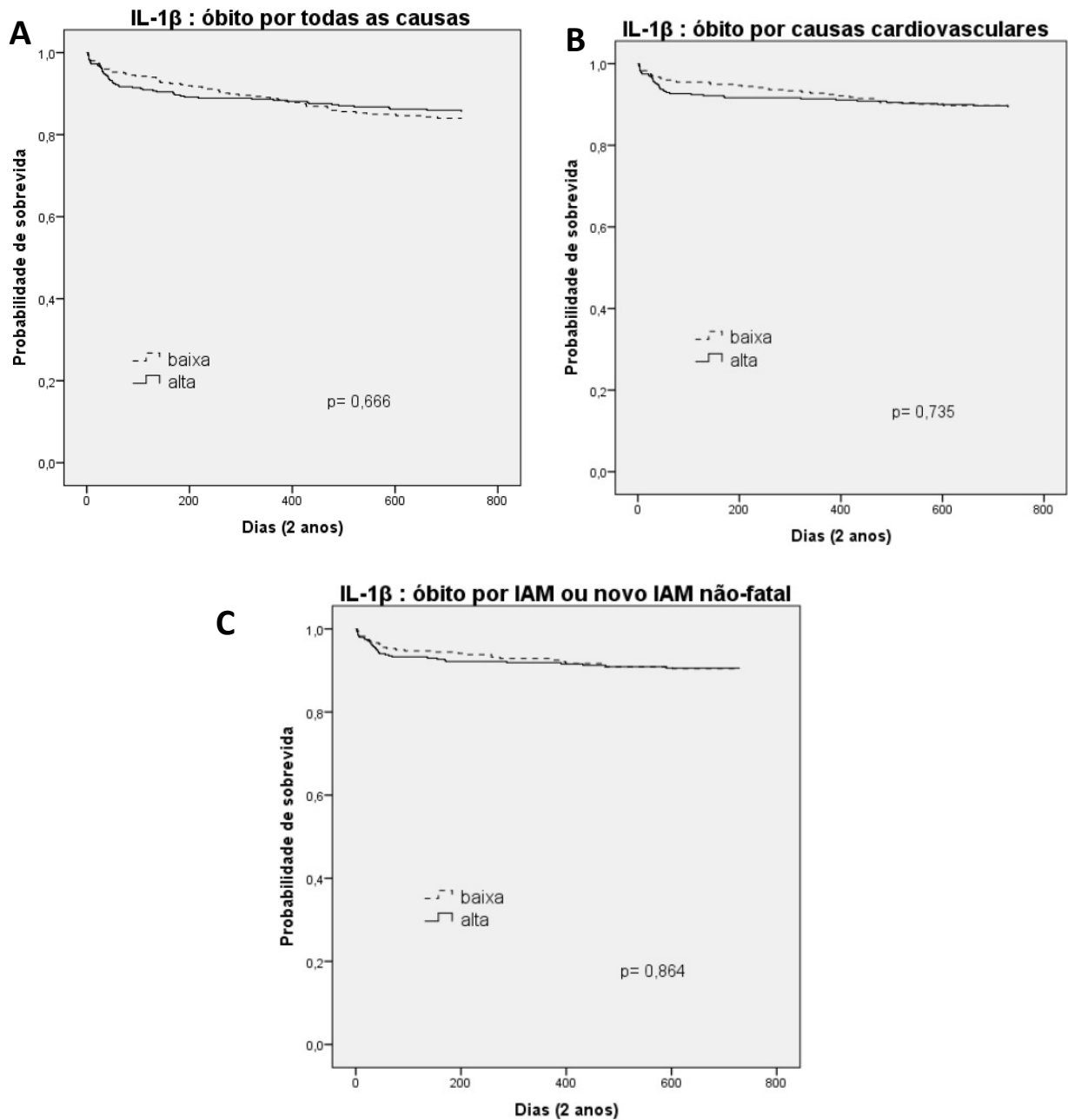


Figura 5. Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de dois anos de acordo com os níveis de IL-1 β . IAM: Infarto Agudo do Miocárdio. Teste de log-rank.

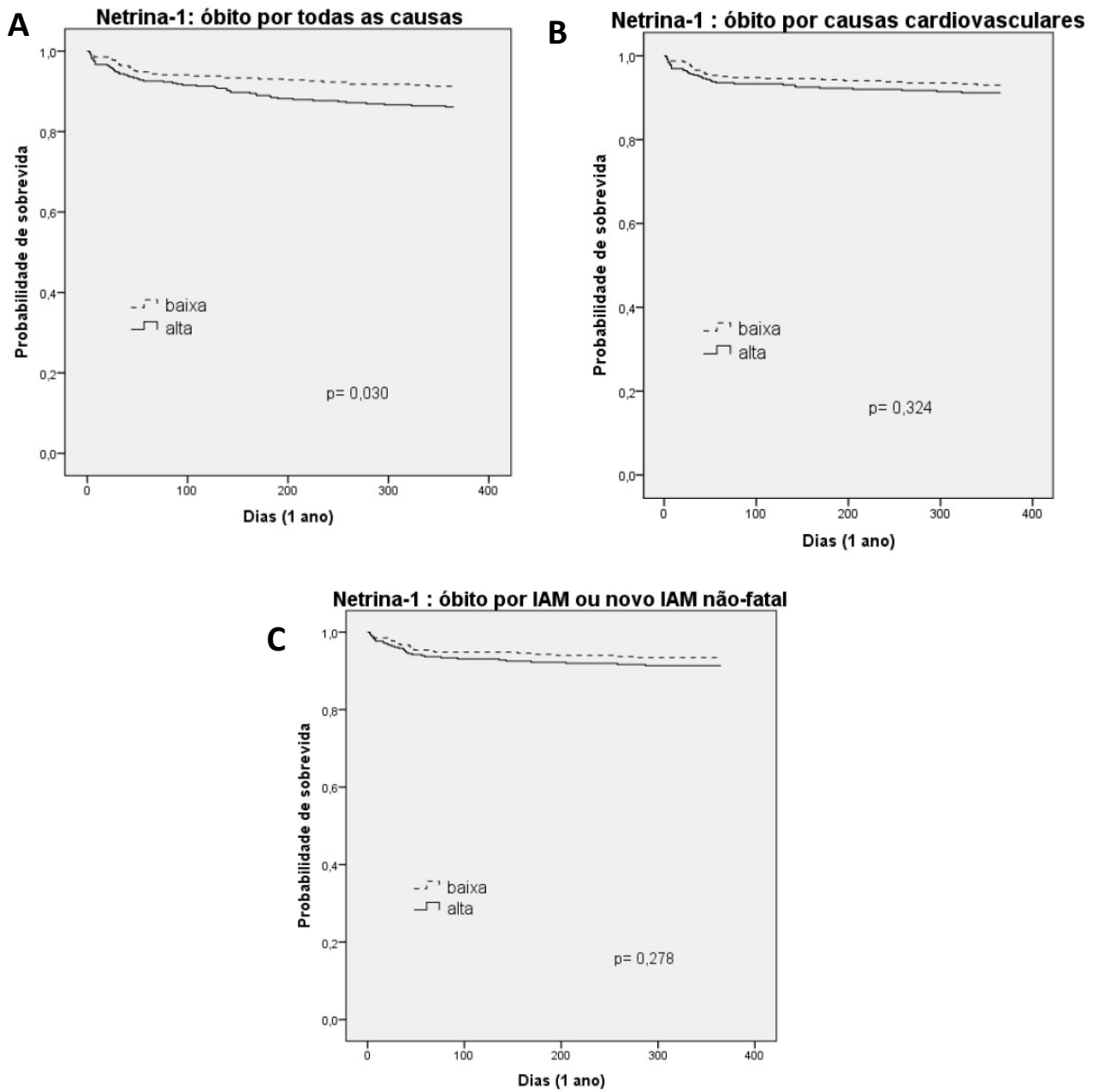


Figura 6. Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de um ano de acordo com os níveis de Netrina-1. IAM: Infarto Agudo do Miocárdio. Teste de log-rank.

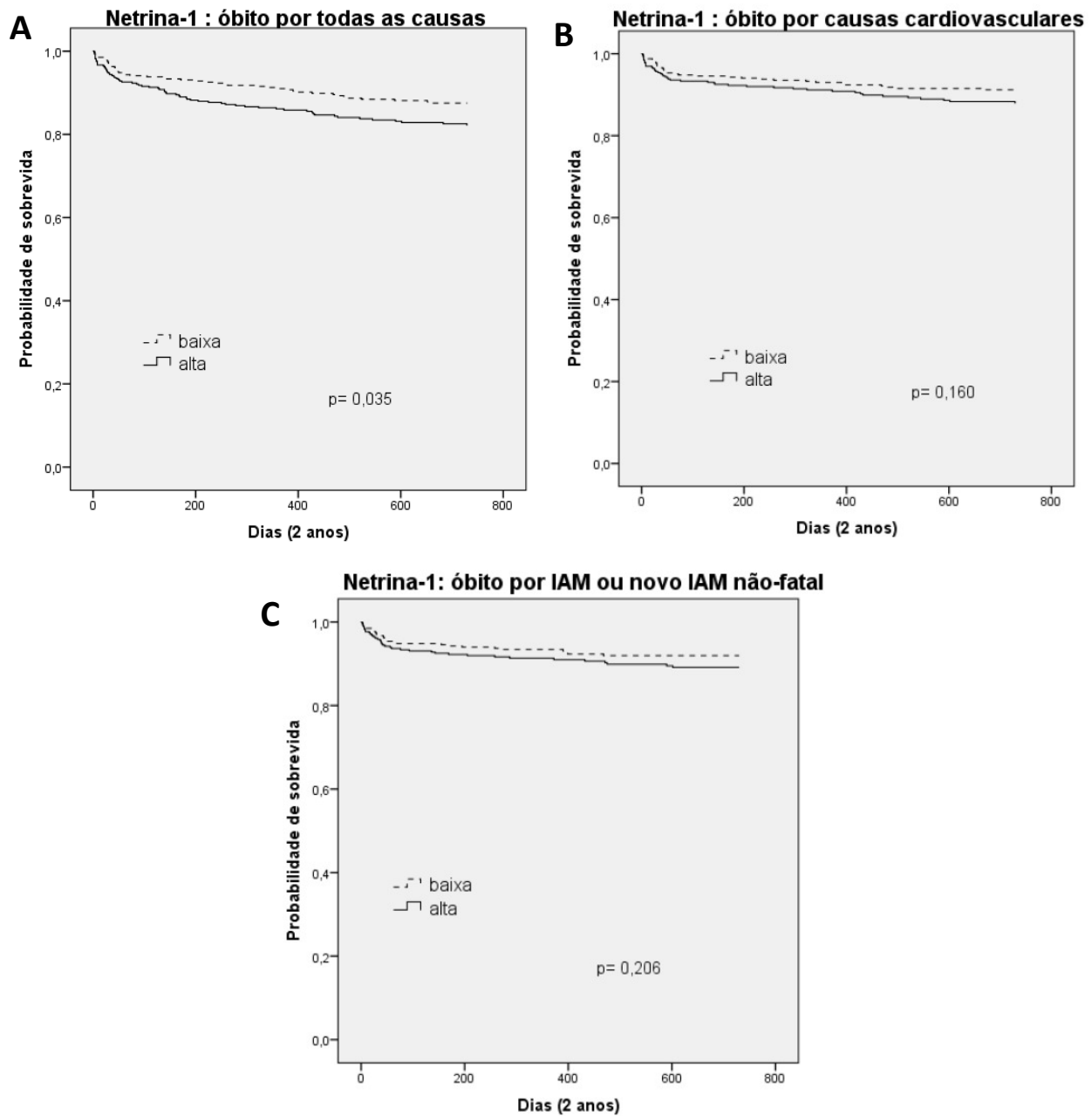


Figura 7. Curvas de Kaplan-Meier para acompanhamento de dois anos de acordo com os níveis de Netrina-1. IAM: Infarto Agudo do Miocárdio. Teste de log-rank.

Avaliando-se os eventos durante todo o acompanhamento (média de 2,6 anos), observou-se para o grupo CCL-2 baixa maior número de óbitos por todas as causas e causas cardiovasculares, além de maior número de eventos no desfecho combinado óbito por IAM ou novo IAM não-fatal. Os níveis de IL-1 β mais uma vez não foram associados ao prognóstico. Novamente observou-se maior número de óbitos por todas as causas no grupo com Netrina-1 alta. Os dados são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Eventos ocorridos durante a média de acompanhamento (2,6 anos), de acordo com os níveis de CCL-2, IL-1 β e Netrina-1

	Evento					
	Óbito por todas as causas		Óbito por causas cardiovasculares		Óbito por IAM ou novo IAM não-fatal	
	n (%)	Valor-p	n (%)	Valor-p	n (%)	Valor-p
CCL-2						
baixa	87 (60,8)	0,004	55 (63,2)	0,009	51 (63,8)	0,010
alta	56 (39,2)		32 (36,8)		29 (36,3)	
IL-1β						
baixa	71 (49,7)	0,887	42 (48,3)	0,706	39 (48,7)	0,786
alta	72 (50,3)		45 (51,7)		41 (51,3)	
Netrina-1						
baixa	59 (41,3)	0,012	37 (42,5)	0,102	35 (43,7)	0,183
alta	84 (58,7)		50 (57,5)		45 (56,3)	

IAM: Infarto Agudo do Miocárdio. Teste do Qui-quadrado.

A análise das razões de risco apontou aumento do risco de óbito por IAM ou novo IAM não-fatal em dois anos para grupo CCL-2 baixa, aumento que se manteve após o ajuste por fatores de risco cardiovascular e medicamentos na admissão. Os níveis de IL-1 β não alteraram o risco de ocorrência de nenhum dos eventos analisados em um ano e dois anos. Já para nível de netrina-1 alta, embora tenha havido aumento do risco de ocorrência de óbito por todas as causas na análise univariada, após o ajuste esta diferença foi perdida. Os dados são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Razões de risco (*Hazard Ratios*) para óbitos por todas as causas, óbitos por causas cardiovasculares (CV) e óbitos por IAM ou novo IAM não-fatal, de acordo com os níveis de CCL-2, IL-1 β e Netrina-1

	1 ano			2 anos		
	Análise univariada		Análise multivariada*	Análise univariada		Análise multivariada*
	Razão de risco (IC 95%)	Valor-p	Razão de risco (IC 95%)	Valor-p	Razão de risco (IC 95%)	Valor-p
CCL-2 baixa						
Óbito por todas as causas	1,15 (0,76 – 1,73)	0,518	1,29 (0,71 – 2,36)	0,391	1,33 (0,92 – 1,93)	0,127
Óbito CV	1,30 (0,79 – 2,15)	0,305	1,55 (0,75 – 3,17)	0,235	1,47 (0,94 – 2,31)	0,093
Óbito IAM ou novo IAM não-fatal	1,50 (0,88 – 2,55)	0,133	1,93 (0,93 – 4,04)	0,079	1,84 (1,12 – 3,03)	0,017
IL-1β alta						
Óbito por todas as causas	1,06 (0,70 – 1,60)	0,784	0,95 (0,50 – 1,81)	0,886	0,92 (0,64 – 1,33)	0,666
Óbito CV	1,23 (0,75 – 2,03)	0,417	1,03 (0,48 – 2,19)	0,935	1,08 (0,69 – 1,68)	0,735
Óbito IAM ou novo IAM não-fatal	1,17 (0,69 – 1,98)	0,548	0,89 (0,42 – 1,85)	0,750	1,04 (0,64 – 1,68)	0,864
Netrina-1 alta						
Óbito por todas as causas	1,59 (1,04 – 2,42)	0,032	1,69 (0,89 – 3,18)	0,104	1,48 (1,02 – 2,15)	0,037
Óbito CV	1,28 (0,78 – 2,12)	0,325	1,19 (0,58 – 2,45)	0,626	1,38 (0,88 – 2,15)	0,162
Óbito IAM ou novo IAM não-fatal	1,33 (0,79 – 2,25)	0,280	1,13 (0,58 – 2,33)	0,743	1,36 (0,84 – 2,21)	0,208

* Ajustado por idade, sexo, tipo de SCA, tabagismo, hipertensão, diabetes mellitus, dislipidemia, ICO prévia, HDL, LDL e medicamentos na admissão (aspirina, estatinas/hipolipemiantes, fibratos, AINH, corticosteróides e imunossupressores).

7 DISCUSSÃO

O presente trabalho é pioneiro em avaliar o valor prognóstico da netrina-1 na Síndrome Coronariana Aguda, além de contribuir para a elucidação do valor prognóstico de CCL-2 e IL-1 β nessa condição.

A SCA é a mais grave manifestação da DAC, devido à sua maior prevalência e pior prognóstico (Fuster e Kovacic, 2014). Avaliando-se os dados gerais na admissão observou-se que a população em estudo é predominantemente composta por pacientes do sexo masculino, idosos, com sobrepeso, HAS e dislipidemia. Os parâmetros bioquímicos apontam elevada glicemia, de acordo com a meta para o controle dos parâmetros glicêmicos (abaixo de 100 mg/dL) encontrada na Diretriz Sul-Americana de Prevenção e Reabilitação Cardiovascular (Herdy *et al.*, 2014). No perfil lipídico, embora os níveis de triglicerídeos e colesterol total encontrem-se dentro dos valores de referência (abaixo de 150 mg/dL e abaixo de 200 mg/dL, respectivamente) da V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (Xavier *et al.*, 2013), observou-se níveis de LDL relativamente altos (acima de 100 mg/dL) e baixos níveis de HDL (abaixo de 40 mg/dL), de acordo com a diretriz supracitada.

Os dados observados estão de acordo com a literatura (Sociedade Brasileira De Cardiologia, 2015), que aponta como fatores de risco principais para a doença coronariana dislipidemias (principalmente HDL abaixo de 40mg/dL), hipertensão arterial (definida como pressão sistólica acima 135 mmHg e diastólica acima de 85 mmHg ou uso de hipotensores); homens acima dos 45 anos, tabagismo e história familiar de morte súbita (Sociedade Brasileira De Cardiologia, 2015), além de Diabetes Mellitus, devido a sua forte associação com o IAM e a

obesidade, considerada como uma doença predisponente (Sociedade Brasileira De Cardiologia, 2015).

Moléculas de adesão, fatores de crescimento e citocinas pró-inflamatórias foram identificadas em níveis elevados em pacientes com SCA (Yamashita *et al.*, 2003; Alam *et al.*, 2004; Nijm *et al.*, 2005; Pasqui *et al.*, 2006). Segundo a literatura, observa-se aumento da concentração de CCL-2 no soro humano nas primeiras 24 horas após o infarto (Melgarejo *et al.*, 2009). De Lemos *et al.* (2003) verificaram maior mediana de concentração dessa quimiocina em pacientes com SCA, quando comparados a controles. Nos estudos de Sahlawi e Hamza (2010) e de Orn *et al.* (2012) observou-se aumento dos níveis de IL-1 β em pacientes com SCA quando comparados a controles. Oksala *et al.* (2013) não encontraram diferenças na expressão gênica de netrina-1 no sangue total e monócitos circulantes de pacientes com DAC em relação a controles. Apesar do nosso trabalho não contemplar um grupo controle, nossos pacientes foram divididos em grupos de acordo com a mediana de cada um dos marcadores avaliados. A caracterização de cada um dos grupos foi realizada com o objetivo de identificar outras variáveis, além dos próprios marcadores, que pudessem auxiliar na elucidação dos fatores que possivelmente contribuíram para um maior número de óbitos, como maior mediana de idade, tipo de SCA, maior presença de fatores de risco como HAS, tabagismo, dislipidemias e Diabetes Mellitus, além de maiores níveis de colesterol total e LDL e menores níveis de HDL. Desse modo, observou-se que o grupo com maiores níveis de CCL-2 apresentou maiores níveis de colesterol total e LDL, além de maiores níveis de IL-1 β e menores níveis de netrina-1. Assim, devido ao perfil lipídico mais desfavorável, além da maior concentração de fatores pró-inflamatórios observada nesse grupo, esperávamos um pior prognóstico nesses pacientes.

A literatura aponta uma associação entre maiores níveis de CCL-2 e pior prognóstico em pacientes com SCA (De Lemos *et al.*, 2003; Buyukkaya *et al.*, 2013; Tuñón *et al.*, 2014; Ding *et al.*, 2015). Como citado anteriormente, no presente trabalho também se esperava visualizar esse

quadro, apesar de não encontrarmos maior presença de fatores de risco (exceto LDL alto) no grupo com CCL-2 alta. No entanto, observou-se pior prognóstico (maior número de óbitos por IAM ou ocorrência de novo IAM não-fatal) no grupo com CCL-2 baixa. Corroborando nosso achado, Ding *et al.* (2015) verificaram que tanto os níveis elevados quanto os níveis mais baixos de CCL-2 estão associados a um maior risco de morte por todas as causas e por causas cardiovasculares em pacientes com Doença Arterial Coronariana.

Níveis elevados de CCL-2 foram relatados em pacientes com dislipidemias (Kowalski *et al.*, 2003; Okopien *et al.*, 2005), em concordância com os maiores níveis de colesterol total e LDL encontrados no grupo CCL-2 alta. Conseqüentemente, o grupo que apresentou pior prognóstico (CCL-2 baixa), apresentou menores níveis de LDL. Recentemente alguns trabalhos apontaram uma associação entre baixos níveis de LDL e um pior prognóstico (Oduncu *et al.*, 2013; Reddy *et al.*, 2015), no entanto os níveis relatados nesses trabalhos (< 70 mg/dL e < 77 mg/dL, respectivamente) são mais baixos do que o observado no nosso estudo para o grupo CCL-2 baixa (96,0 mg/dL). Observou-se em análises complementares do nosso estudo (curvas de Kaplan-Meier não mostradas) que níveis de LDL abaixo da mediana (menor ou igual a 102 mg/dL) foram associados ao óbito por todas as causas e por causas cardiovasculares em um ano e dois anos, mas não ao óbito por IAM ou novo IAM não-fatal. Ainda, na análise multivariada o LDL não foi uma variável associada ao aumento do risco de qualquer um dos eventos. Os mecanismos pelos quais os baixos níveis de LDL e maior mortalidade por causas cardiovasculares estão associados ainda não estão elucidados. Uma possível explicação é que os casos mais graves geralmente recebem tratamento mais rígido (com maiores doses de hipolipemiantes) e conseqüentemente apresentam LDL mais baixo. Oduncu *et al.* (2013) atribuíram a maior mortalidade nos pacientes com baixo LDL às altas incidências de outros fatores de risco como idade avançada, insuficiência renal e anemia, observados nesses pacientes

avaliados pelos autores. No entanto, como a análise detalhada dos pacientes com LDL baixo está além dos objetivos do presente estudo, a mesma não foi realizada.

A menor concentração de netrina-1 observada no grupo CCL-2 alta pode estar relacionada aos achados de van Gils *et al.* (2013). Os autores observaram que a incubação de células endoteliais de artéria coronária humana com a quimiocina promoveu menor expressão gênica e proteica de netrina-1. Uma possível explicação está na expressão do receptor UNC5b (quimiorrepelente) por monócitos observada pelos autores em estudo anterior (Van Gils *et al.*, 2012). Os autores acreditam que quando os monócitos circulantes encontram as células endoteliais expressando mais netrina-1, um mecanismo de barreira pode ser ativado, com a ligação de netrina-1 aos receptores UNC5b nos monócitos, promovendo repulsão. Desse modo, nossa hipótese é de como essas moléculas possuem funções antagônicas (CCL-2 é quimiotática e netrina-1 quimiorrepelente quando ligada a UNC5b) há uma regulação na produção das mesmas, ou seja, quando uma está aumentada a outra tem sua produção reduzida.

Acredita-se que o pior prognóstico observado no nosso trabalho no grupo CCL-2 baixa em dois anos (e que provavelmente se manterá por mais tempo, de acordo com o número de eventos observados durante o acompanhamento médio de 2,6 anos) esteja relacionado à remodelação cardíaca adversa devido a um recrutamento inadequado (ou reduzido) de monócitos para o sítio infartado. Defeitos na cicatrização do infarto podem estar diretamente envolvidos no desenvolvimento de complicações potencialmente letais, como ruptura cardíaca e formação de aneurismas ventriculares (Frangiannis, 2008).

Nahrendorf *et al.* (2010) propuseram que o desfecho após o infarto do miocárdio está relacionado ao número de monócitos que se acumulam na lesão nas primeiras duas semanas, pois se o infarto recruta número insuficiente de monócitos, a cicatrização é comprometida devido a um *clearance* ineficiente dos debrís celulares. CCL-2 exerce papel essencial no recrutamento

inicial de macrófagos para a cicatrização do infarto (Dewald *et al.*, 2005), mas também atua em outros processos no reparo cardíaco após o infarto. Tarzami *et al.* (2002) demonstraram que CCL-2 exerce um duplo papel na isquemia do miocárdio. Além da participação na quimiotaxia de monócitos, a quimiocina promove a proteção dos cardiomiócitos contra a morte induzida por hipóxia. Morimoto *et al.* (2006) observaram que a superexpressão cardíaca de CCL-2 induziu a infiltração de macrófagos, neovascularização e acúmulo de miofibroblastos cardíacos, resultando na prevenção da disfunção do ventrículo esquerdo.

Dewald *et al.* (2005) verificaram em animais nocaute para o gene de CCL-2 em modelo de infarto, expressão gênica reduzida de citocinas como TNF, TGF- β , IL-10 e IL-1 β (uma possível explicação para os menores níveis de IL-1 β encontrados em nosso trabalho no grupo CCL-2 baixa e os menores níveis de CCL-2 observados no grupo IL-1 β baixa). Os autores ainda observaram redução na infiltração de macrófagos e atraso na remoção fagocítica de cardiomiócitos mortos. Apesar de uma remodelação atenuada nesses animais, o tamanho do infarto foi semelhante ao de animais selvagens. A redução da expressão de citocinas também prejudicou a diferenciação de macrófagos. Segundo os autores, as consequências clínicas da inibição de CCL-2 na fase inicial da cicatrização do infarto podem ser desfavoráveis, uma vez que o atraso na fagocitose dos cardiomiócitos que sofreram injúria pode aumentar o potencial arritmogênico ou favorecer a predisposição a complicações mecânicas, como a ruptura cardíaca e formação de aneurismas ventriculares, já citados anteriormente.

Segundo Ding *et al.* (2015), quantidades insuficientes de CCL-2 e monócitos pró-inflamatórios podem retardar a cicatrização, no entanto se esses monócitos pró-inflamatórios permanecem por muito tempo na lesão a função dos monócitos envolvidos na reparação pode ser prejudicada. Sendo assim, para um melhor prognóstico provavelmente há uma concentração ótima da quimiocina que promove um recrutamento adequado de monócitos para o sítio de injúria. De acordo com Prabhu e Frangogiannis (2016), as citocinas pró-inflamatórias e

quimiocinas induzem efeitos no miocárdio infartado que não podem ser simplesmente classificados como benéficos ou maléficos. Esses efeitos são complexos e variáveis, dependendo de fatores como o contexto temporal e composição celular no microambiente.

Analisando os trabalhos de De Lemos et al. (2003; 2007), Buyukkaya et al. (2013) e Ding et al. (2015) que avaliaram o valor prognóstico de CCL-2 na SCA, observou-se que a concentração da quimiocina nos pacientes do nosso estudo (mediana de 100,9 pg/mL) se encaixava nos menores tercís ou quartís daqueles trabalhos (a concentração nos menores tercís ou quartís desses trabalhos varia entre 124,0 pg/mL e 231,1 pg/mL). Em outras palavras, nossos pacientes apresentavam níveis de CCL2 mais baixos do que os encontrados pelos autores citados. Dessa forma, acreditamos que no nosso trabalho a concentração de CCL-2 no grupo CCL-2 baixa refletiria realmente níveis reduzidos da quimiocina, enquanto a concentração no grupo CCL-2 alta representaria níveis normais da mesma, capazes de promover um recrutamento adequado de monócitos para a cicatrização do infarto. Os níveis elevados observados nos trabalhos citados anteriormente, por sua vez, representariam uma concentração da quimiocina que possivelmente promove exacerbação da inflamação.

Uma possível explicação para os níveis reduzidos de CCL-2 observados no presente estudo é a utilização de medicamentos como estatinas e fibratos. Diversos medicamentos podem modular tanto a expressão quanto a síntese de CCL-2 (Coll *et al.*, 2007). As estatinas, pela inibição da enzima HMGCoA redutase, são potentes inibidoras da produção de CCL-2 em linhagens celulares e modelos animais (Romano *et al.*, 2000; Grip *et al.*, 2002; Zineh *et al.*, 2006). Rezaie-Majd *et al.* (2002) trataram indivíduos hipercolesterolêmicos com sinvastatina e observaram redução dos níveis plasmáticos da quimiocina e menor expressão gênica de CCL-2 em células mononucleares do sangue periférico quando comparados a indivíduos não tratados. Han *et al.* (2005) observaram que o tratamento com sinvastatina promoveu a redução da concentração de CCL-2 no soro, além de reduzir a expressão gênica e proteica do receptor CCR2

em monócitos de homens normocolesterolêmicos. Outros estudos confirmaram que uso de estatinas e/ou fibratos em humanos promove redução da síntese de CCL-2 por monócitos, além de reduzir os níveis plasmáticos da quimiocina (Kowalski *et al.*, 2003; Okopien *et al.*, 2005; Blanco-Colio *et al.*, 2007), inclusive em pacientes com SCA (Xu *et al.*, 2003; De Lemos *et al.*, 2007). Contudo, acreditamos que outros fatores não contemplados na nossa análise também podem ser responsáveis pelos menores níveis de CCL-2 observados no nosso estudo, sendo a dose de hipolipemiantes um desses fatores, uma vez que a proporção de pacientes que utilizavam esses medicamentos não foi diferente entre os grupos CCL-2 baixa e CCL-2 alta.

O perfil dos pacientes quando avaliados de acordo com os níveis de IL-1 β foi semelhante ao perfil de acordo com os níveis de CCL-2, com maior concentração de colesterol total e LDL, além de menor nível de netrina-1 no grupo IL-1 β alta. Esse grupo, no entanto, apresentou menor mediana de idade. Interessantemente nossa análise não apontou associação entre os níveis da citocina e o prognóstico dos pacientes com SCA. Kilic *et al.* (2006) e Correia *et al.* (2010) observaram maiores níveis de IL-1 β em pacientes que apresentaram novos eventos cardiovasculares, no entanto ambos os trabalhos avaliaram somente pacientes com IAMSST. Ainda, os estudos citados utilizaram amostras menores do que a do nosso trabalho (80 e 87 pacientes, respectivamente). Desse modo, acredita-se que a citocina pode ter importante valor prognóstico nesse subtipo de SCA, mas possivelmente o mesmo não se aplica aos demais subtipos quando avaliados em conjunto. Acredita-se que mais estudos devam ser realizados para elucidar o valor prognóstico de IL-1 β , pois apesar dos trabalhos citados anteriormente associarem maiores níveis da citocina a um prognóstico desfavorável, Hwang *et al.* (2001) observaram que a neutralização da citocina é prejudicial à cicatrização do tecido infartado em modelo animal, sugerindo um possível papel protetor de IL-1 β na fase aguda do IAM.

O valor prognóstico de netrina-1 já foi avaliado no adenocarcinoma de pâncreas (Link *et al.*, 2007) e em metástases cerebrais (Harter *et al.*, 2014), verificando-se que a maior expressão

gênica e/ou maior presença de netrina-1 no tecido está associada a um pior prognóstico, sendo esse pior prognóstico observado no câncer provavelmente relacionado aos efeitos anti-apoptóticos e angiogênicos da molécula. Como citado anteriormente, o valor prognóstico da molécula ainda não tinha sido avaliado na SCA. O papel de netrina-1 na aterosclerose e remodelação cardíaca após o infarto é controverso, tornando essa avaliação ainda mais importante para elucidar se a molécula pode ser uma boa preditora do prognóstico desses pacientes.

No nosso trabalho a glicemia foi a única variável dentre as avaliadas que foi diferente entre os grupos netrina-1 baixa e netrina-1 alta. Observamos uma associação entre os níveis mais elevados da molécula e o pior prognóstico quando considerado o óbito por todas as causas em um ano e dois anos. No entanto, esse não é um fator independente, uma vez que a associação não foi encontrada na análise multivariada. Sendo assim, acredita-se que, ao contrário do observado no câncer, na SCA a molécula pode não ser uma boa preditora do prognóstico quando analisada separadamente. Ainda, a concentração sérica pode não refletir a presença da molécula no tecido. Oksala *et al.* (2013) não observaram diferenças entre a expressão gênica de netrina-1 no sangue total e monócitos circulantes de pacientes com Doença Arterial Coronariana, quando comparados a controles sem a doença. No entanto, quando avaliadas as placas ateroscleróticas desses pacientes, verificou-se menor expressão da molécula em relação a controles. Desse modo, ressaltamos que o estudo de netrina-1 na aterosclerose e reparo cardíaco deve ser aprofundado, uma vez que resultados promissores têm sido obtidos em modelos animais.

Baseando-se nos resultados do presente trabalho, apesar de mais estudos se tornarem necessários, acredita-se que na Síndrome Coronariana Aguda a mensuração da concentração de CCL-2 e netrina-1 no soro, juntamente com fatores prognósticos já utilizados nessa condição, pode auxiliar na decisão clínica, uma vez que tais moléculas têm valor prognóstico. Embora a utilização de tais medidas possa acarretar maior investimento financeiro relacionado à

determinação prognóstica, a possível contribuição das mesmas para a redução tanto da mortalidade e aos quanto dos custos relacionados ao tratamento deve ser levada em consideração.

Os pacientes incluídos no estudo continuam sendo acompanhados. Sendo assim, pretende-se ampliar as análises utilizando um maior tempo de acompanhamento, favorecendo assim a elucidação do valor prognóstico dessas moléculas no acompanhamento em longo prazo. Como limitação do estudo, aponta-se a ausência do grupo controle ou valores obtidos no mesmo paciente antes do evento coronariano, que nos permitiria verificar se, como relatado na literatura, os níveis dos marcadores avaliados se alteram nos pacientes com SCA. Ainda, considera-se uma limitação do estudo a característica unicêntrica do mesmo.

8 CONCLUSÃO

A partir dos resultados do presente estudo conclui-se que níveis mais baixos de CCL-2 são independentemente associados ao óbito por IAM ou novo IAM não-fatal, aumentando o risco de ocorrência desse desfecho. Acredita-se que os níveis reduzidos da quimiocina possam prejudicar o recrutamento de monócitos com perfil pró-inflamatório para a área infartada, desfavorecendo a cicatrização adequada da lesão. Contudo outros estudos são necessários para confirmar essa hipótese.

Conclui-se ainda que níveis elevados de netrina-1 são associados ao óbito por todas as causas nesses pacientes, contudo essa associação não é independente. O papel da molécula na SCA deve continuar sendo investigado, visando elucidar os mecanismos pelos quais netrina-1 pode afetar o prognóstico desses pacientes.

Finalmente, conclui-se que a mensuração de CCL-2 e netrina-1 no momento da admissão dos pacientes com SCA pode auxiliar na tomada de decisão clínica e conseqüentemente favorecer a redução da mortalidade nessa condição.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, E. D.; KOIFMAN, S. Prognostic factros in woman breast cancer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 1, p. 113-31, 2002.

ALAM, S. E. et al. Cytokine imbalance in acute coronary syndrome. **Curr Opin Pharmacol**, v. 4, n. 2, p. 166-70, Apr 2004. ISSN 1471-4892. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15063361> >.

ASHLEY, E. A.; NIEBAUER, J. **Conquering the ECG**. Cardiology Explained. Londres: Remedica 2004.

ATAR, S.; BIRNBAUM, Y. Ischemia-induced ST-segment elevation: classification, prognosis, and therapy. **J Electrocardiol**, v. 38, n. 4 Suppl, p. 1-7, Oct 2005. ISSN 0022-0736. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16226066> >.

BASRA, S. S. et al. Acute Coronary Syndromes: Unstable Angina and Non-ST Elevation Myocardial Infarction. **Heart Fail Clin**, v. 12, n. 1, p. 31-48, Jan 2016. ISSN 1551-7136. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26567973> >.

BENTZON, J. F. et al. Mechanisms of plaque formation and rupture. **Circ Res**, v. 114, n. 12, p. 1852-66, Jun 2014. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24902970> >.

BHASKAR, V. et al. Monoclonal antibodies targeting IL-1 beta reduce biomarkers of atherosclerosis in vitro and inhibit atherosclerotic plaque formation in Apolipoprotein E-deficient mice. **Atherosclerosis**, v. 216, n. 2, p. 313-20, Jun 2011. ISSN 1879-1484. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21411094> >.

BLANCO-COLIO, L. M. et al. Elevated ICAM-1 and MCP-1 plasma levels in subjects at high cardiovascular risk are diminished by atorvastatin treatment. Atorvastatin on Inflammatory Markers study: a substudy of Achieve Cholesterol Targets Fast with Atorvastatin Stratified Titration. **Am Heart J**, v. 153, n. 5, p. 881-8, May 2007. ISSN 0002-8703. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ahj.2007.02.029> >.

BONAVENTURA, A.; MONTECUCCO, F.; DALLEGRI, F. Cellular recruitment in myocardial ischaemia/reperfusion injury. **Eur J Clin Invest**, v. 46, n. 6, p. 590-601, Jun 2016. ISSN 1365-2362. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27090739> >.

BOUHIDEL, J. O. et al. Netrin-1 improves post-injury cardiac function in vivo via DCC/NO-dependent preservation of mitochondrial integrity, while attenuating autophagy. **Biochim Biophys Acta**, v. 1852, n. 2, p. 277-89, Feb 2015. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24928309> >.

BRANDÃO, R. M. **Valor prognóstico dos padrões eletrocardiográficos em pacientes com síndrome coronariana aguda sem supradesnivelamento do segmento ST: Estudo ERICO-ECG**. 2015. 125 (Tese de Doutorado). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BRASIL. Ministério da Saúde. Datasus. Mortalidade geral. 2013. Disponível em: < <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def> >. Acesso em: 12 fev 2016.

BUJAK, M. et al. Interleukin-1 receptor type I signaling critically regulates infarct healing and cardiac remodeling. **Am J Pathol**, v. 173, n. 1, p. 57-67, Jul 2008. ISSN 1525-2191. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18535174> >.

BUYUKKAYA, E. et al. Usefulness of monocyte chemoattractant protein-1 to predict no-reflow and three-year mortality in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. **Am J Cardiol**, v. 112, n. 2, p. 187-93, Jul 2013. ISSN 1879-1913. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23601576> >.

CARMELIET, P.; TESSIER-LAVIGNE, M. Common mechanisms of nerve and blood vessel wiring. **Nature**, v. 436, n. 7048, p. 193-200, Jul 2005. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16015319> >.

CHAMBERLAIN, J. et al. Interleukin-1 regulates multiple atherogenic mechanisms in response to fat feeding. **PLoS One**, v. 4, n. 4, p. e5073, 2009. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19347044> >.

CHEN, Y. et al. Long-term prognostic value of myeloperoxidase on acute coronary syndrome: a meta-analysis. **Arch Med Res**, v. 42, n. 5, p. 368-74, Jul 2011. ISSN 1873-5487. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21803086> >.

CHINETTI-GBAGUIDI, G.; COLIN, S.; STAELS, B. Macrophage subsets in atherosclerosis. **Nat Rev Cardiol**, v. 12, n. 1, p. 10-7, Jan 2015. ISSN 1759-5010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25367649> >.

CIGNARELLA, A. Targeting interleukin-1 β hampers atherosclerosis progression – Is there great promise? , v. 217, n. 1, p. 64–66, July 2011 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org.ez27.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.atherosclerosis.2011.04.006> >.

CIRULLI, V.; YEBRA, M. Netrins: beyond the brain. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 8, n. 4, p. 296-306, Apr 2007. ISSN 1471-0072. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17356579> >.

CLEUTJENS, J. P. et al. **The infarcted myocardium: simply dead tissue, or a lively target for therapeutic interventions.** *Cardiovasc Res*. Netherlands. 44: 232-41 p. 1999.

COLIN, S.; CHINETTI-GBAGUIDI, G.; STAELS, B. Macrophage phenotypes in atherosclerosis. **Immunol Rev**, v. 262, n. 1, p. 153-66, Nov 2014. ISSN 1600-065X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25319333> >.

COLL, B.; ALONSO-VILLAVARDE, C.; JOVEN, J. Monocyte chemoattractant protein-1 and atherosclerosis: is there room for an additional biomarker? **Clin Chim Acta**, v. 383, n. 1-2, p. 21-9, Aug 2007. ISSN 0009-8981. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17521622> >.

CORREIA, L. C. et al. Prognostic value of cytokines and chemokines in addition to the GRACE Score in non-ST-elevation acute coronary syndromes. **Clin Chim Acta**, v. 411, n. 7-8, p. 540-5, Apr 2010. ISSN 1873-3492. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20083097> >.

CREA, F.; LIUZZO, G. Pathogenesis of acute coronary syndromes. **J Am Coll Cardiol**, v. 61, n. 1, p. 1-11, Jan 2013. ISSN 1558-3597. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23158526> >.

CROCE, K.; LIBBY, P. Intertwining of thrombosis and inflammation in atherosclerosis. **Curr Opin Hematol**, v. 14, n. 1, p. 55-61, Jan 2007. ISSN 1065-6251. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17133101> >.

DAVIES, M. J. Pathophysiology of acute coronary syndromes. **Indian Heart J**, v. 52, n. 4, p. 473-9, 2000 Jul-Aug 2000. ISSN 0019-4832. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11084798> >.

DE LEMOS, J. A. et al. Serial measurement of monocyte chemoattractant protein-1 after acute coronary syndromes: results from the A to Z trial. **J Am Coll Cardiol**, v. 50, n. 22, p. 2117-24, Nov 27 2007. ISSN 0735-1097. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2007.06.057> >.

_____. Association between plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1 and long-term clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. **Circulation**, v. 107, n. 5, p. 690-5, Feb 2003. ISSN 1524-4539. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12578870> >.

DEWALD, O. et al. Of mice and dogs: species-specific differences in the inflammatory response following myocardial infarction. **Am J Pathol**, v. 164, n. 2, p. 665-77, Feb 2004. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14742270> >.

_____. CCL2/Monocyte Chemoattractant Protein-1 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts. **Circ Res**, v. 96, n. 8, p. 881-9, Apr 29 2005. ISSN 0009-7330. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.0000163017.13772.3a> >.

DINARELLO, C. A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. **Annu Rev Immunol**, v. 27, p. 519-50, 2009. ISSN 0732-0582. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19302047> >.

DING, D. et al. Serum levels of monocyte chemoattractant protein-1 and all-cause and cardiovascular mortality among patients with coronary artery disease. **PLoS One**, v. 10, n. 3, p. e0120633, 2015. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0120633> >.

DISTELMAIER, K. et al. Prognostic value of culprit site neutrophils in acute coronary syndrome. **Eur J Clin Invest**, v. 44, n. 3, p. 257-65, 2014. ISSN 1365-2362. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24720533> >.

DOYLE, B.; CAPLICE, N. Plaque neovascularization and antiangiogenic therapy for atherosclerosis. **J Am Coll Cardiol**, v. 49, n. 21, p. 2073-80, May 2007. ISSN 1558-3597. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17531655> >.

DUEWELL, P. et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. **Nature**, v. 464, n. 7293, p. 1357-61, Apr 2010. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20428172> >.

ERTL, G.; FRANTZ, S. Healing after myocardial infarction. **Cardiovasc Res**, v. 66, n. 1, p. 22-32, Apr 2005. ISSN 0008-6363. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15769445> >.

FRANGOIANNIS, N. G. The immune system and cardiac repair. **Pharmacol Res**, v. 58, n. 2, p. 88-111, Aug 2008. ISSN 1043-6618. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18620057> >.

FRANGOIANNIS, N. G. et al. MCSF expression is induced in healing myocardial infarcts and may regulate monocyte and endothelial cell phenotype. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 285, n. 2, p. H483-92, Aug 2003. ISSN 0363-6135. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12689859> >.

FRANGOIANNIS, N. G.; SMITH, C. W.; ENTMAN, M. L. The inflammatory response in myocardial infarction. **Cardiovasc Res**, v. 53, n. 1, p. 31-47, Jan 2002. ISSN 0008-6363. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11744011> >.

FRANTZ, S.; BAUERSACHS, J.; ERTL, G. Post-infarct remodelling: contribution of wound healing and inflammation. **Cardiovasc Res**, v. 81, n. 3, p. 474-81, Feb 2009. ISSN 1755-3245. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18977766> >.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chem**, v. 18, n. 6, p. 499-502, Jun 1972. ISSN 0009-9147. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4337382> >.

FUSTER, V.; KOVACIC, J. C. Acute coronary syndromes: pathology, diagnosis, genetics, prevention, and treatment. **Circ Res**, v. 114, n. 12, p. 1847-51, Jun 2014. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24824094> >.

GHATTAS, A. et al. Monocytes in coronary artery disease and atherosclerosis: where are we now? **J Am Coll Cardiol**, v. 62, n. 17, p. 1541-51, Oct 2013. ISSN 1558-3597. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23973684> >.

GONZALEZ-QUESADA, C.; FRANGOIANNIS, N. G. Monocyte chemoattractant protein-1/CCL2 as a biomarker in acute coronary syndromes. **Curr Atheroscler Rep**, v. 11, n. 2, p. 131-8, Mar 2009. ISSN 1534-6242. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19228487> >.

GOULART, A. C. et al. Design and baseline characteristics of a coronary heart disease prospective cohort: two-year experience from the strategy of registry of acute coronary syndrome study (ERICO study). **Clinics (Sao Paulo)**, v. 68, n. 3, p. 431-4, 2013. ISSN 1980-5322. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23644870> >.

GRIP, O.; JANCIAUSKIENE, S.; LINDGREN, S. Atorvastatin activates PPAR-gamma and attenuates the inflammatory response in human monocytes. **Inflamm Res**, v. 51, n. 2, p. 58-62, Feb 2002. ISSN 1023-3830 (Print)1023-3830. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

GUILLEN, I. et al. Cytokine signaling during myocardial infarction: sequential appearance of IL-1 beta and IL-6. **Am J Physiol**, v. 269, n. 2 Pt 2, p. R229-35, Aug 1995. ISSN 0002-9513 (Print)0002-9513. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

HAN, K. H. et al. HMG-CoA reductase inhibition reduces monocyte CC chemokine receptor 2 expression and monocyte chemoattractant protein-1-mediated monocyte recruitment in vivo. **Circulation**, v. 111, n. 11, p. 1439-47, Mar 22 2005. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1161/01.cir.0000158484.18024.1f> >.

HARTER, P. N. et al. Netrin-1 expression is an independent prognostic factor for poor patient survival in brain metastases. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e92311, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0092311> >.

HERDY, A. H. et al. South American guidelines for cardiovascular disease prevention and rehabilitation. **Arq Bras Cardiol**, v. 103, n. 2 Suppl 1, p. 1-31, Aug 2014. ISSN 0066-782x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

HERSKOWITZ, A. et al. Cytokine mRNA expression in postischemic/reperfused myocardium. **Am J Pathol**, v. 146, n. 2, p. 419-28, Feb 1995. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7856752> >.

HWANG, M. W. et al. Neutralization of interleukin-1beta in the acute phase of myocardial infarction promotes the progression of left ventricular remodeling. **J Am Coll Cardiol**, v. 38, n. 5, p. 1546-53, Nov 2001. ISSN 0735-1097. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11691538> >.

JENNINGS, R. B. et al. Development of cell injury in sustained acute ischemia. **Circulation**, v. 82, n. 3 Suppl, p. II2-12, Sep 1990. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2394018> >.

JOSEPH, B. B.; QUAN, P. D. The neuroimmune guidance cue netrin-1: a new therapeutic target in cardiovascular disease. **Am J Cardiovasc Dis**, v. 3, n. 3, p. 129-34, 2013. ISSN 2160-200X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23991347> >.

KAIKITA, K. et al. Targeted deletion of CC chemokine receptor 2 attenuates left ventricular remodeling after experimental myocardial infarction. **Am J Pathol**, v. 165, n. 2, p. 439-47, Aug 2004. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15277218> >.

KILIC, T. et al. Relation between proinflammatory to anti-inflammatory cytokine ratios and long-term prognosis in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome. **Heart**, v. 92, n. 8, p. 1041-6, Aug 2006. ISSN 1355-6037. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1136/hrt.2005.080382> >.

KIRII, H. et al. Lack of interleukin-1beta decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 23, n. 4, p. 656-60, Apr 2003. ISSN 1524-4636. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12615675> >.

KOLMAN, L. et al. Prognostic value of admission fasting glucose levels in patients with acute coronary syndrome. **Am J Cardiol**, v. 104, n. 4, p. 470-4, Aug 2009. ISSN 1879-1913. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19660596> >.

KOWALSKI, J. et al. Effects of atorvastatin, simvastatin, and fenofibrate therapy on monocyte chemoattractant protein-1 secretion in patients with hyperlipidemia. **Eur J Clin Pharmacol**, v. 59, n. 3, p. 189-93, Jul 2003. ISSN 0031-6970 (Print)0031-6970. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00228-003-0581-7> >.

LAYNE, K.; FERRO, A.; PASSACQUALE, G. Netrin-1 as a novel therapeutic target in cardiovascular disease: to activate or inhibit? **Cardiovascular Research**, v. 107, n. 4, p. 410-419, 2015-09-01 00:00:00 2015. Disponível em: < <http://cardiovascres.oxfordjournals.org/cardiovascres/107/4/410.full.pdf> >.

LEITINGER, N.; SCHULMAN, I. G. Phenotypic polarization of macrophages in atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 33, n. 6, p. 1120-6, Jun 2013. ISSN 1524-4636. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23640492> >.

LEVI, M.; VAN DER POLL, T. Two-way interactions between inflammation and coagulation. **Trends Cardiovasc Med**, v. 15, n. 7, p. 254-9, Oct 2005. ISSN 1050-1738. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16226680> >.

LIBBY, P. Molecular and cellular mechanisms of the thrombotic complications of atherosclerosis. **J Lipid Res**, v. 50 Suppl, p. S352-7, Apr 2009. ISSN 0022-2275. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19096046> >.

LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; HANSSON, G. K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. **Nature**, v. 473, n. 7347, p. 317-25, May 2011. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21593864> >.

LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; MASERI, A. Inflammation and Atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, p. 1135-1143, 2002-03-05 2002. Disponível em: < <http://circ.ahajournals.org/content/105/9/1135.full> >.

LIBBY, P. et al. Inflammation and its resolution as determinants of acute coronary syndromes. **Circ Res**, v. 114, n. 12, p. 1867-79, Jun 2014. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24902971> >.

LINK, B. C. et al. Prognostic implications of netrin-1 expression and its receptors in patients with adenocarcinoma of the pancreas. **Ann Surg Oncol**, v. 14, n. 9, p. 2591-9, Sep 2007. ISSN 1068-9265. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17549567> >.

LIVESEY, F. J. Netrins and netrin receptors. **Cell Mol Life Sci**, v. 56, n. 1-2, p. 62-8, Oct 1999. ISSN 1420-682X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11213262> >.

MAKKI, N.; BRENNAN, T. M.; GIOTRA, S. Acute coronary syndrome. **J Intensive Care Med**, v. 30, n. 4, p. 186-200, May 2015. ISSN 1525-1489. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24047692> >.

MANNING-TOBIN, J. J. et al. Loss of SR-A and CD36 activity reduces atherosclerotic lesion complexity without abrogating foam cell formation in hyperlipidemic mice. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 29, n. 1, p. 19-26, Jan 2009. ISSN 1524-4636. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18948635> >.

MAO, X. et al. Netrin-1 attenuates cardiac ischemia reperfusion injury and generates alternatively activated macrophages. **Inflammation**, v. 37, n. 2, p. 573-80, Apr 2014. ISSN 1573-2576. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24234226> >.

MATTOS, L. A. L. P. E. et al. Desfechos clínicos aos 30 dias do registro brasileiro das síndromes coronárias agudas (ACCEPT). **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 100, p. 6-13, 2013. ISSN 0066-782X. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2013000100003&nrm=iso >.

MELGAREJO, E. et al. Monocyte chemoattractant protein-1: a key mediator in inflammatory processes. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 41, n. 5, p. 998-1001, May 2009. ISSN 1878-5875. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18761421> >.

MOORE, K. J.; SHEEDY, F. J.; FISHER, E. A. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. **Nat Rev Immunol**, v. 13, n. 10, p. 709-21, Oct 2013. ISSN 1474-1741. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23995626> >.

MORIMOTO, H.; TAKAHASHI, M. Role of monocyte chemoattractant protein-1 in myocardial infarction. **Int J Biomed Sci**, v. 3, n. 3, p. 159-67, Sep 2007. ISSN 1550-9702. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23675039> >.

MORIMOTO, H. et al. Cardiac overexpression of monocyte chemoattractant protein-1 in transgenic mice prevents cardiac dysfunction and remodeling after myocardial infarction. **Circ Res**, v. 99, n. 8, p. 891-9, Oct 2006. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16990567> >.

MYINT, P. K. et al. Prognostic value of troponins in acute coronary syndrome depends upon patient age. **Heart**, v. 100, n. 20, p. 1583-1590, October 15, 2014. Disponível em: < <http://heart.bmj.com/content/100/20/1583.abstract> >.

NAHRENDORF, M. et al. 18F-4V for PET-CT imaging of VCAM-1 expression in atherosclerosis. **JACC Cardiovasc Imaging**, v. 2, n. 10, p. 1213-22, Oct 2009. ISSN 1876-7591. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcmg.2009.04.016> >.

NAHRENDORF, M.; PITTET, M. J.; SWIRSKI, F. K. Monocytes: protagonists of infarct inflammation and repair after myocardial infarction. **Circulation**, v. 121, n. 22, p. 2437-45, Jun 2010. ISSN 1524-4539. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20530020> >.

NAHRENDORF, M. et al. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions. **J Exp Med**, v. 204, n. 12, p. 3037-47, Nov 2007. ISSN 1540-9538. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18025128> >.

NELKEN, N. A. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. **J Clin Invest**, v. 88, n. 4, p. 1121-7, Oct 1991. ISSN 0021-9738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1843454> >.

NGUYEN, A.; CAI, H. Netrin-1 induces angiogenesis via a DCC-dependent ERK1/2-eNOS feed-forward mechanism. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 103, n. 17, p. 6530-5, Apr 2006. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16611730> >.

NIJM, J. et al. Circulating levels of proinflammatory cytokines and neutrophil-platelet aggregates in patients with coronary artery disease. **Am J Cardiol**, v. 95, n. 4, p. 452-6, Feb 2005. ISSN 0002-9149. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15695127> >.

O'HAYRE, M. et al. Chemokines and cancer: migration, intracellular signalling and intercellular communication in the microenvironment. **Biochem J**, v. 409, n. 3, p. 635-49, Feb 2008. ISSN 1470-8728. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18177271> >.

ODUNCU, V. et al. The prognostic value of very low admission LDL-cholesterol levels in ST-segment elevation myocardial infarction compared in statin-pretreated and statin-naive patients undergoing primary percutaneous coronary intervention. **Int J Cardiol**, v. 167, n. 2, p. 458-63, Jul 2013. ISSN 1874-1754. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22305817> >.

OKOPIEN, B. et al. Effect of monthly atorvastatin and fenofibrate treatment on monocyte chemoattractant protein-1 release in patients with primary mixed dyslipidemia. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 45, n. 4, p. 314-20, Apr 2005. ISSN 0160-2446 (Print)0160-2446. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

OKSALA, N. et al. Association of neuroimmune guidance cue netrin-1 and its chemorepulsive receptor UNC5B with atherosclerotic plaque expression signatures and stability in human(s): Tampere Vascular Study (TVS). **Circ Cardiovasc Genet**, v. 6, n. 6, p. 579-87, Dec 2013. ISSN 1942-3268. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24122613> >.

OLOFSSON, P. S. et al. A functional interleukin-1 receptor antagonist polymorphism influences atherosclerosis development. The interleukin-1beta:interleukin-1 receptor antagonist balance in atherosclerosis. **Circ J**, v. 73, n. 8, p. 1531-6, Aug 2009. ISSN 1347-4820. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19574724> >.

ORN, S. et al. Increased interleukin-1beta levels are associated with left ventricular hypertrophy and remodelling following acute ST segment elevation myocardial infarction treated by primary percutaneous coronary intervention. **J Intern Med**, v. 272, n. 3, p. 267-76, Sep 2012. ISSN 0954-6820. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2012.02517.x> >.

PARK, K. W. et al. The axonal attractant Netrin-1 is an angiogenic factor. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 101, n. 46, p. 16210-5, Nov 2004. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15520390> >.

PASQUI, A. L. et al. Pro-inflammatory/anti-inflammatory cytokine imbalance in acute coronary syndromes. **Clin Exp Med**, v. 6, n. 1, p. 38-44, Mar 2006. ISSN 1591-8890. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16550343> >.

POLANCZYK, C. A.; RIBEIRO, J. P. Coronary artery disease in Brazil: contemporary management and future perspectives. **Heart**, v. 95, n. 11, p. 870-6, Jun 2009. ISSN 1468-201X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19261601> >.

PRABHU, S. D. **Post-infarction ventricular remodeling: an array of molecular events.** J Mol Cell Cardiol. England. 38: 547-50 p. 2005.

PRABHU, S. D.; FRANGOIANNIS, N. G. The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction: From Inflammation to Fibrosis. **Circ Res**, v. 119, n. 1, p. 91-112, Jun 2016. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27340270> >.

RAMKHELAWON, B. et al. Hypoxia induces netrin-1 and Unc5b in atherosclerotic plaques: mechanism for macrophage retention and survival. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 33, n. 6, p. 1180-8, Jun 2013. ISSN 1524-4636. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23599441> >.

REDDY, V. S. et al. Relationship between serum low-density lipoprotein cholesterol and in-hospital mortality following acute myocardial infarction (the lipid paradox). **Am J Cardiol**, v. 115, n. 5, p. 557-62, Mar 1 2015. ISSN 0002-9149. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.12.006> >.

REHMAN, J. et al. Peripheral blood "endothelial progenitor cells" are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. **Circulation**, v. 107, n. 8, p. 1164-9, Mar 2003. ISSN 1524-4539. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12615796> >.

REZAIIE-MAJD, A. et al. Simvastatin reduces expression of cytokines interleukin-6, interleukin-8, and monocyte chemoattractant protein-1 in circulating monocytes from hypercholesterolemic patients. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 22, n. 7, p. 1194-9, Jul 1 2002. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

ROBINSON, S. C.; SCOTT, K. A.; BALKWILL, F. R. Chemokine stimulation of monocyte matrix metalloproteinase-9 requires endogenous TNF-alpha. **Eur J Immunol**, v. 32, n. 2, p. 404-12, Feb 2002. ISSN 0014-2980. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11813159> >.

ROMANO, M. et al. Inhibition of monocyte chemotactic protein-1 synthesis by statins. **Lab Invest**, v. 80, n. 7, p. 1095-100, Jul 2000. ISSN 0023-6837. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10908155> >.

SAHLAWI, M.; HAMZA, M. O. MS366 CYTOKINE PROFILES AND OXIDATIVE STRESS IN ACUTE CORONARY SYNDROME. **Atherosclerosis Supplements**, v. 11, n. 2, p. 184-184, June 2010 2010. Disponível em: < [http://dx.doi.org.ez27.periodicos.capes.gov.br/10.1016/S1567-5688\(10\)70867-9](http://dx.doi.org.ez27.periodicos.capes.gov.br/10.1016/S1567-5688(10)70867-9) >.

SANTOS, I. S. et al. One-year Mortality after an Acute Coronary Event and its Clinical Predictors: The ERICO Study. **Arq Bras Cardiol**, v. 105, n. 1, p. 53-64, Jul 2015. ISSN 1678-4170. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25993485> >.

SCHECTER, A. D. et al. Tissue factor is induced by monocyte chemoattractant protein-1 in human aortic smooth muscle and THP-1 cells. **J Biol Chem**, v. 272, n. 45, p. 28568-73, Nov 1997. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9353321> >.

SCHMEISSER, A. et al. Monocytes coexpress endothelial and macrophagocytic lineage markers and form cord-like structures in Matrigel under angiogenic conditions. **Cardiovasc Res**, v. 49, n. 3, p. 671-80, Feb 16 2001. ISSN 0008-6363 (Print)0008-6363. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

SHIN, D. et al. Impact of initial glycosylated hemoglobin level on cardiovascular outcomes in prediabetic patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. **Coron Artery Dis**, v. 27, n. 1, p. 40-6, Jan 2016. ISSN 1473-5830. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26398151> >.

SHIN, W. S.; SZUBA, A.; ROCKSON, S. G. The role of chemokines in human cardiovascular pathology: enhanced biological insights. **Atherosclerosis**, v. 160, n. 1, p. 91-102, Jan 2002. ISSN 0021-9150. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11755926> >.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia 2013 - 2015**: 603 p. p. 2015.

STEGGER, J. G. et al. Single nucleotide polymorphisms in IL1B and the risk of acute coronary syndrome: a Danish case-cohort study. **PLoS One**, v. 7, n. 6, p. e36829, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22768033> >.

STEINBERG, D.; WITZTUM, J. L. Oxidized low-density lipoprotein and atherosclerosis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 30, n. 12, p. 2311-6, Dec 2010. ISSN 1524-4636. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21084697> >.

SUN, Y.; WEBER, K. T. Cells expressing angiotensin II receptors in fibrous tissue of rat heart. **Cardiovasc Res**, v. 31, n. 4, p. 518-25, Apr 1996. ISSN 0008-6363. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8689643> >.

SUTTON, M. G.; SHARPE, N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. **Circulation**, v. 101, n. 25, p. 2981-8, Jun 27 2000. ISSN 0009-7322. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

TABAS, I. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis. **Nat Rev Immunol**, v. 10, n. 1, p. 36-46, Jan 2010. ISSN 1474-1741. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19960040> >.

TABAS, I.; WILLIAMS, K. J.; BORÉN, J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications. **Circulation**, v. 116, n. 16, p. 1832-44, Oct 2007. ISSN 1524-4539. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17938300> >.

TAPP, L. D. et al. The CD14⁺⁺CD16⁺ monocyte subset and monocyte-platelet interactions in patients with ST-elevation myocardial infarction. **J Thromb Haemost**, v. 10, n. 7, p. 1231-41, Jul 2012. ISSN 1538-7836. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22212813> >.

TARZAMI, S. T. et al. Chemokine expression in myocardial ischemia: MIP-2 dependent MCP-1 expression protects cardiomyocytes from cell death. **J Mol Cell Cardiol**, v. 34, n. 2, p. 209-21, Feb 2002. ISSN 0022-2828. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11851360> >.

TAYLOR, P. C. et al. Reduction of chemokine levels and leukocyte traffic to joints by tumor necrosis factor alpha blockade in patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum**, v. 43, n. 1, p. 38-47, Jan 2000. ISSN 0004-3591. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10643698> >.

TEICH, V.; ARAUJO, D. V. Estimated Cost of Acute Coronary Syndrome in Brazil. **Rev Bras Cardiol**, v. 24, n. 2, p. 85-94, 2011.

TEICH, V. et al. Acute Coronary Syndrome Treatment Costs from the Perspective of the Supplementary Health System. **Arq Bras Cardiol**, v. 105, n. 4, p. 339-44, Oct 2015. ISSN 1678-4170. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26559980> >.

_____. Acute Coronary Syndrome Treatment Costs from the Perspective of the Supplementary Health System. **Arq Bras Cardiol**, v. 105, n. 4, p. 339-44, Oct 2015. ISSN 1678-4170. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26559980> >.

TESSIER-LAVIGNE, M.; GOODMAN, C. S. The molecular biology of axon guidance. **Science**, v. 274, n. 5290, p. 1123-33, Nov 15 1996. ISSN 0036-8075 (Print)0036-8075. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

TROST, J. C.; LANGE, R. A. Treatment of acute coronary syndrome: Part 1: Non-ST-segment acute coronary syndrome. **Crit Care Med**, v. 39, n. 10, p. 2346-53, Oct 2011. ISSN 1530-0293. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21602671> >.

TSUJIOKA, H. et al. Impact of heterogeneity of human peripheral blood monocyte subsets on myocardial salvage in patients with primary acute myocardial infarction. **J Am Coll Cardiol**, v. 54, n. 2, p. 130-8, Jul 2009. ISSN 1558-3597. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19573729> >.

TUÑÓN, J. et al. Usefulness of a combination of monocyte chemoattractant protein-1, galectin-3, and N-terminal probrain natriuretic peptide to predict cardiovascular events in patients with coronary artery disease. **Am J Cardiol**, v. 113, n. 3, p. 434-40, Feb 2014. ISSN 1879-1913. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24295549> >.

VAN GILS, J. M. et al. The neuroimmune guidance cue netrin-1 promotes atherosclerosis by inhibiting the emigration of macrophages from plaques. **Nat Immunol**, v. 13, n. 2, p. 136-43, Feb 2012. ISSN 1529-2916. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22231519> >.

_____. Endothelial expression of guidance cues in vessel wall homeostasis dysregulation under proatherosclerotic conditions. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 33, n. 5, p. 911-9, May 2013. ISSN 1524-4636. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23430612> >.

VARGAS, L. et al. Epidemiological Profile for Acute Coronary Syndrome: The Difference between Genders in an Intensive Care Unit. **J Hypertens**, v. 2, n. 3, p. 1-4, 2013.

WANSCHER, A. et al. The Neuroimmune Guidance Cue Semaphorin 3E is Expressed in Atherosclerotic Plaques and Regulates Macrophage Retention. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 33, n. 5, p. 886-93, May 2013. ISSN 1079-5642 (Print)1524-4636 (Electronic). Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1161/atvbaha.112.300941> >.

WENTZEL, J. J. et al. Endothelial shear stress in the evolution of coronary atherosclerotic plaque and vascular remodelling: current understanding and remaining questions. **Cardiovasc Res**, v. 96, n. 2, p. 234-43, Nov 2012. ISSN 1755-3245. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22752349> >.

WIDERA, C. et al. Incremental prognostic value of biomarkers beyond the GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) score and high-sensitivity cardiac troponin T in non-ST-elevation acute coronary syndrome. **Clin Chem**, v. 59, n. 10, p. 1497-505, Oct 2013. ISSN 1530-8561. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23818444> >.

WIERDA, R. J. et al. Epigenetics in atherosclerosis and inflammation. **J Cell Mol Med**, v. 14, n. 6A, p. 1225-40, Jun 2010. ISSN 1582-4934. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20132414> >.

XAVIER, H. T. et al. V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis. **Arq Bras Cardiol**, v. 101, n. 4 Suppl 1, p. 1-20, Oct 2013. ISSN 0066-782x. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.5935/abc.2013S010> >.

XU, Z. M. et al. Atorvastatin reduces plasma MCP-1 in patients with acute coronary syndrome. **Clin Chim Acta**, v. 338, n. 1-2, p. 17-24, Dec 2003. ISSN 0009-8981 (Print)0009-8981. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.

YAMASHITA, H. et al. Concentrations of interleukins, interferon, and C-reactive protein in stable and unstable angina pectoris. **Am J Cardiol**, v. 91, n. 2, p. 133-6, Jan 2003. ISSN 0002-9149. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12521622> >.

YANG, F. et al. Myocardial infarction and cardiac remodelling in mice. **Exp Physiol**, v. 87, n. 5, p. 547-55, Sep 2002. ISSN 0958-0670. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12481929> >.

YUN, D. D.; ALPERT, J. S. Acute coronary syndromes. **Cardiology**, v. 88, n. 3, p. 223-37, 1997 May-Jun 1997. ISSN 0008-6312. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9129843> >.

YURCHENCO, P. D.; WADSWORTH, W. G. Assembly and tissue functions of early embryonic laminins and netrins. **Curr Opin Cell Biol**, v. 16, n. 5, p. 572-9, Oct 2004. ISSN 0955-0674. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15363809> >.

ZHANG, J.; CAI, H. Netrin-1 prevents ischemia/reperfusion-induced myocardial infarction via a DCC/ERK1/2/eNOS s1177/NO/DCC feed-forward mechanism. **J Mol Cell Cardiol**, v. 48, n. 6, p. 1060-70, Jun 2010. ISSN 1095-8584. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20004665> >.

ZINEH, I. et al. Modulatory effects of atorvastatin on endothelial cell-derived chemokines, cytokines, and angiogenic factors. **Pharmacotherapy**, v. 26, n. 3, p. 333-40, Mar 2006. ISSN 0277-0008 (Print)0277-0008. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1592/phco.26.3.333> >.