

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia
Lana Claudinez dos Santos

**RISCO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES EM MULHERES COM
RETICOLITE ULCERATIVA, EM REMISSÃO CLÍNICA, EM RESPOSTA AO
TRATAMENTO COM AMINOSSALICILATO E AZATIOPRINA**

Belo Horizonte
Junho – 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia
Lana Claudinez dos Santos

**RISCO DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES EM MULHERES COM
RETICULITE ULCERATIVA, EM REMISSÃO CLÍNICA, EM RESPOSTA AO
TRATAMENTO COM AMINOSSALICILATO E AZATIOPRINA**

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 para a obtenção do título de Doutora. Área de concentração: Imunologia.
Orientadora: Prof. Dra Jacqueline I. Alvarez Leite

Belo Horizonte
Junho - 2015

043

Santos, Lana Claudinez dos.

Risco de doenças cardiovasculares em mulheres com retocolite ulcerativa, em remissão clínica, em resposta ao tratamento com aminossalicilato e azatioprina [manuscrito] / Lana Claudinez dos Santos. – 2015.

119 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Jacqueline I. Alvarez Leite.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

1. Proctocolite - Teses. 2. Sistema cardiovascular – Doenças - Teses. 3. Citocinas - Teses. 4. Aminossalicilatos. 5. Azatioprina. 6. Remissão clínica. 7. Bioquímica – Teses. I. Alvarez-Leite, Jacqueline Isaura. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 577.1

ATA DE APROVAÇÃO

806

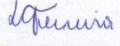


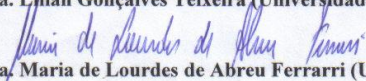
Universidade Federal de Minas Gerais
Curso de Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia ICB/UFMG
Av. Antônio Carlos, 6627 – Pampulha
31270-901 – Belo Horizonte – MG
e-mail: pg-biq@icb.ufmg.br (31)3409-2615

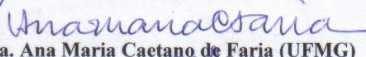


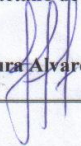
ATA DA DEFESA DA TESE DE DOUTORADO DE LANA CLAUDINEZ DOS SANTOS. Aos doze dias do mês de junho de 2015 às 14:00 horas, reuniu-se no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, a Comissão Examinadora da tese de Doutorado, indicada *ad referendum* do Colegiado do Curso, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado "" Risco de doenças Cardiovasculares em Mulheres com retocolite ulcerativa, em remissão clínica, em resposta ao tratamento com aminossalicilato e azatioprina", requisito final para a obtenção do grau de Doutor em Ciências: Imunologia. Abrindo a sessão, a Presidente da Comissão, Profª. Jacqueline Isaura Alvarez Leite, da Universidade Federal de Minas Gerais, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após a Comissão se reuniu, sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações: Dra. Maria do Carmo Gouveia Peluzio (Universidade Federal de Viçosa), aprovada; Dra. Lilian Gonçalves Teixeira (Universidade Federal de Lavras), aprovada; Dra. Maria de Lourdes de Abreu Ferrarri (Universidade Federal de Minas Gerais), aprovada; Dra. Ana Maria Caetano de Faria (Universidade Federal de Minas Gerais), aprovada; Dr. Jacqueline Isaura Alvarez Leite - Orientadora (Universidade Federal de Minas Gerais), aprovada. Pelas indicações a candidata foi considerada APROVADA. O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pela Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, a Presidente da Comissão encerrou a reunião e lavrou a presente Ata que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 12 de junho de 2015.

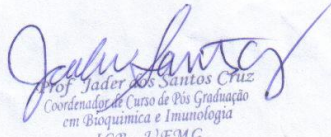

Dra. Maria do Carmo Gouveia Peluzio (Universidade Federal de Viçosa)


Dra. Lilian Gonçalves Teixeira (Universidade Federal de Lavras)


Dra. Maria de Lourdes de Abreu Ferrarri (UFMG)


Dra. Ana Maria Caetano de Faria (UFMG)


Dr. Jacqueline Isaura Alvarez Leite - Orientadora (UFMG)


Prof. Jader dos Santos Cruz
Coordenador do Curso de Pós-Graduação
em Bioquímica e Imunologia
ICB - UFMG

Dedico esse trabalho aos meus pais, Cláudio e Inês e ao meu irmão Alan, pelo amor, carinho, confiança e incentivo, em todos os momentos dessa caminhada.

AGRADECIMENTOS

... A Deus, pelos dons da vida, da sabedoria e da inteligência e pela oportunidade de vivenciar essa experiência. Agradeço a Ele por me amparar nas dificuldades, iluminar meus passos, me guiar no caminho a seguir e por colocar pessoas maravilhosas em minha vida, que tanto contribuíram para a concretização dessa etapa.

... À minha orientadora, Professora Dra Jacqueline I. Alvarez Leite, por me acolher em seu laboratório, compartilhar seus conhecimentos e por contribuir para meu crescimento profissional e científico. Agradeço ainda pelas oportunidades concedidas, pela paciência e compreensão durante esses seis anos de convivência e por sua contribuição para a conclusão de meus trabalhos de mestrado e doutorado.

... À Professora Dra Maria de Lourdes de Abreu Ferrari, por me acolher em seu ambulatório permitindo a realização desse estudo. Agradeço pela confiança e pela colaboração no desenvolvimento desse trabalho, bem como pela oportunidade de crescimento profissional, enquanto Nutricionista de sua equipe.

... Aos meus pais Cláudio e Inês por estarem sempre presentes em todos os momentos bons e ruins e por transmitirem, mesmo à distância, confiança, paz e amor para que eu pudesse concluir mais essa etapa de minha vida.

... Ao meu irmão Alan, pelo amor, carinho e companheirismo.

... À Aline Villela, por sua preciosa contribuição no desenvolvimento do trabalho enquanto aluna de iniciação científica e enquanto profissional de nutrição. Obrigada pela amizade, disponibilidade, disposição e comprometimento, tanto na rotina laboratorial como na difícil análise da ingestão dietética de cada voluntária desse estudo. Esse trabalho também é seu!

... Aos amigos e colaboradores desse trabalho: Lorryne Lopes, Alda Jusceline, Edenil Aguilar, Aline Villela e Maria Noviello, pelo auxílio nas análises e na rotina de laboratório e por carinhosamente compartilharem seus conhecimentos, práticos e teóricos, contribuindo para minha formação e para o desenvolvimento e publicação desse trabalho. Só nós sabemos o trabalho que tivemos para recrutar e avaliar voluntários, coletar sangue, processar materiais, realizar as inúmeras análises laboratoriais e as análises dos dados. Os “Elisas” com empada e chocolate e as “Quartas Culturais”, nossas maiores especialidades, jamais serão esquecidos!

... A toda equipe do Laboratório de Aterosclerose e Bioquímica Nutricional (LABiN), da “era” 2009 – 2015 pela amizade, carinho, contribuições científicas e pelos momentos de alegria e diversão. O meu muito obrigada a todos vocês, de um modo muito especial (e em ordem alfabética pois não há preferências): Alda, Aline, Cristina, Dani, Edenil, Fabíola, Fernanda, Franciele, Gisele, Isadora, Laila, Lílian, Lorrayne, Maísa, Maria Carmen, Paola, Penélope, Rachel Bacha, Solange, Talita, Tati e Victor.

... À equipe do Ambulatório de Intestino do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG, pela recepção, atenção, discussão de casos clínicos e pela contribuição para meu crescimento profissional. Agradeço de um modo carinhoso a Adriana Damaris e Fernanda Caldas pelo suporte e amizade e às nutricionistas Talita Mayra e Annanda Albuquerque por compartilhar comigo as dificuldades e conquistas no caminhar desse estudo bem como por concederem a oportunidade de participar da equipe de nutrição do ambulatório, propiciando aprendizado, crescimento e experiência profissional.

... A equipe do Laboratório de Imunoparasitologia (IMPAR), do Laboratório de Imunologia e Biologia Celular de Parasitas (em especial, Nina, Bárbara e Jarina), do Laboratório de Imunobiologia (LIB) e do Laboratório de Biologia Vascular (Juliana, Giane e Prof. Luciano Capettini), pela disponibilidade quanto aos equipamentos, materiais e contribuições científicas.

... A amiga Eneida Paganini, pela amizade e por estar sempre disposta a ajudar. Sua contribuição foi de suma importância para o desenvolvimento desse trabalho. Obrigada também pelo “Café Dos Amigos”, tradição há três anos e que há de perdurar por muitos anos ainda.

... Às amigas Rosália Carvalho e Izabela Galvão, pela disposição em proceder as coletas de sangue, sempre que necessário. Agradeço também a enfermeira Fabíola Fernandes, por facilitar a execução desse processo, indicando profissionais capacitados e disponibilizando o local para as coletas.

... Ao Jamil, pela disponibilidade quanto aos equipamentos e materiais e pelas divertidas discussões de futebol.

... Agradeço carinhosamente a cada paciente e a cada voluntário que se dispôs a participar desse estudo, ouvindo atentamente a proposta, respondendo aos questionamentos, permitindo as análises antropométricas, preenchendo o registro

alimentar e se deslocando de sua casa para a coleta de sangue, contribuindo assim para a realização desse trabalho e o crescimento da Ciência.

... Aos amigos das disciplinas de Bases II e seminários.

... Às agências financiadoras: CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; CAPES - Conselho de Aperfeiçoamento em Pesquisa e FAPEMIG - Fundação de Amparo à pesquisa de Minas Gerais; em especial ao CNPq, pela bolsa concedida.

... A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

“Existem dois dias no ano em que nada pode ser feito: o ontem e o amanhã. Portanto, hoje é o melhor dia para trabalhar, amar, sonhar, ousar, produzir e acima de tudo, ser feliz.”

Dalai Lama

SUMÁRIO

	LISTA DE TABELAS.....	X
	LISTA DE FIGURAS.....	XI
	LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XII
	RESUMO.....	15
	ABSTRACT.....	16
1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	Doenças Inflamatórias Intestinais.....	19
2.2	O sistema imunitário em DII.....	20
2.3	Diagnóstico e classificação da RCU.....	22
2.4	Tratamento das DII.....	24
2.4.1	Glicocorticoides.....	25
2.4.2	Aminossalicilatos.....	27
2.4.2.1	<i>Sulfassalazina.....</i>	<i>27</i>
2.4.2.2	<i>Mesalazina.....</i>	<i>28</i>
2.4.3	Azatioprina.....	28
2.4.4	Agentes biológicos.....	30
2.5	Composição corporal em DII.....	31
2.6	O tecido adiposo, o sistema imune e as citocinas.....	32
2.7	Aterosclerose e doenças cardiovasculares.....	33
2.8	Fatores de risco para doenças cardiovasculares.....	37
2.9	Avaliação do risco de doença cardiovascular pelos escores de risco de Framingham.....	40
2.10	Risco de Doenças Cardiovasculares em pacientes com Doenças Inflamatórias Intestinais.....	41
3	JUSTIFICATIVA.....	45
4	OBJETIVOS.....	46
4.1	Objetivo geral.....	46
4.2	Objetivos específicos.....	46
5	PACIENTES E MÉTODOS.....	47
5.1	Delineamento do estudo e seleção de participantes.....	47

5.2	Entrevista e coleta de dados.....	48
5.2.1	Dados pessoais.....	49
5.2.2	História clínica e familiar.....	49
5.2.3	Hábitos de vida.....	49
5.2.4	Avaliação antropométrica.....	50
5.2.5	Avaliação dietética.....	51
5.3	Coleta de sangue, dosagens e os escores de risco de Framingham.....	51
5.3.1	Avaliação do perfil lipídico.....	52
5.3.1.1	<i>Dosagem de triglicerídeos no sangue.....</i>	<i>52</i>
5.3.1.2	<i>Dosagem de colesterol total no soro.....</i>	<i>53</i>
5.3.1.3	<i>Dosagem de HDL colesterol no soro.....</i>	<i>53</i>
5.3.1.4	<i>Determinação das concentrações de LDL e VLDL colesterol no soro.....</i>	<i>54</i>
5.3.2	Dosagem da glicemia de jejum.....	54
5.3.3	Dosagem de hemoglobina.....	55
5.3.4	Avaliação das proteínas circulantes.....	55
5.3.4.1	<i>Dosagem de proteínas totais.....</i>	<i>55</i>
5.3.4.2	<i>Dosagem de albumina.....</i>	<i>56</i>
5.3.4.3	<i>Determinação da globulina.....</i>	<i>56</i>
5.3.5	Avaliação das proteínas de fase aguda.....	57
5.3.5.1	<i>Determinação da PCR sérica.....</i>	<i>57</i>
5.3.5.2	<i>Determinação do fibrinogênio sérico.....</i>	<i>57</i>
5.3.6	Determinação da velocidade de hemossedimentação (VHS).....	58
5.3.7	Leucograma.....	58
5.3.7.1	<i>Contagem total de leucócitos.....</i>	<i>58</i>
5.3.7.2	<i>Contagem diferencial de leucócitos.....</i>	<i>58</i>
5.3.8	Dosagem de óxido nítrico (nitrito) no soro.....	59
5.3.9	Quantificação de citocinas no soro.....	59
5.3.10	Quantificação de anticorpos IgG anti-LDL oxidada.....	60
5.3.10.1	<i>Isolamento, quantificação e oxidação da LDL.....</i>	<i>60</i>
5.3.10.2	<i>Determinação da concentração de anticorpos IgG anti LDL-oxidada.....</i>	<i>61</i>
5.3.11	Determinação do escore de risco de Framingham.....	61
5.4	Análise estatística.....	62

6	RESULTADOS.....	63
6.1	Comparação entre pacientes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos e controles saudáveis.....	63
6.2	Comparação entre pacientes com RCU em remissão clínica em uso de azatioprina associada ao aminossalicilatos e seus respectivos controles saudáveis.....	69
6.3	Comparação entre pacientes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos ou com azatioprina e aminossalicilatos.....	75
7	DISCUSSÃO.....	82
8	CONCLUSÃO.....	97
	REFERÊNCIAS.....	98
	ANEXOS.....	109
	Anexo A: Aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.....	110
	Anexo B: Aprovação do projeto de pesquisa pelo Departamento de Ensino, Pesquisa e Extensão do Hospital das Clínicas da UFMG.....	111
	APÊNDICES.....	112
	Apêndice A: Termo de consentimento livre e esclarecido (grupo RCU).....	113
	Apêndice B: Termo de consentimento livre e esclarecido (grupo controle saudável).....	114
	Apêndice C: Ficha de avaliação nutricional.....	115
	Apêndice D: Registro alimentar de três dias.....	119
	ARTIGO.....	120

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Índice de Truelove e Witts.....	23
Tabela 2	Classificação do estado nutricional conforme o IMC.....	50
Tabela 3	Hábitos de vida e história clínica das participantes saudáveis e com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos.....	64
Tabela 4	Dados antropométricos, pressão arterial e marcadores séricos das participantes saudáveis e com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos.....	66
Tabela 5	Ingestão média de macro e micronutrientes pelo grupo controle saudável e pelas pacientes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos.....	69
Tabela 6	Hábitos de vida e história clínica das participantes saudáveis e com RCU em remissão clínica em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos.....	70
Tabela 7	Dados antropométricos, pressão arterial e marcadores séricos das participantes saudáveis e com RCU em remissão clínica em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos.....	72
Tabela 8	Ingestão média de macro e micronutrientes pelo grupo controle saudável e pelas pacientes com RCU em remissão clínica em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos.....	75
Tabela 9	Dados gerais, antropometria e perfil sérico das participantes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos ou com azatioprina e aminossalicilatos.....	77
Tabela 10	Perfil lipídico, glicemia e hemoglobina das participantes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos ou com azatioprina e aminossalicilatos.....	78
Tabela 11	Ingestão média de macro e micronutrientes pelo grupo com RCU em remissão clínica em uso de aminossalicilatos e pelo grupo com RCU em remissão clínica em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos.....	81

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Primeiro estágio de desenvolvimento da aterosclerose.....	35
Figura 2	Placa de aterosclerose desenvolvida ou madura.....	36
Figura 3	Esquema ilustrativo da seleção de pacientes com RCU para participação do estudo.....	48
Figura 4	Níveis séricos de citocinas em mulheres com RCU em remissão clínica, em tratamento com aminossalicilatos comparadas a controles saudáveis.....	67
Figura 5	Risco relativo de DCV em pacientes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos comparadas a controles saudáveis.....	68
Figura 6	Níveis séricos de citocinas em pacientes com RCU em remissão clínica, em uso de azatioprina e aminossalicilatos, comparadas a controles saudáveis.....	73
Figura 7	Risco relativo de DCV em pacientes com RCU em remissão clínica, em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos, comparado com controles saudáveis.....	74
Figura 8	Níveis séricos de citocinas em mulheres com RCU em remissão clínica, em uso de aminossalicilatos ou azatioprina e aminossalicilatos.....	79
Figura 9	Risco relativo de doença cardiovascular em mulheres com RCU em remissão clínica, em uso de aminossalicilatos comparadas àquelas em uso de azatioprina e aminossalicilatos.....	80
Figura 10	Mecanismo proposto para o aumento do risco de DCV em mulheres com RCU em remissão clínica tratadas com aminossalicilatos ou com azatioprina e aminossalicilatos.....	96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-ASA – 5 aminossalicílico
6-MP – 6 mercaptopurina
6-MMP - 6-metilmercaptapurina
6-TGN - nucleotídeo 6-tioguanina
6-TU - ácido 6-tioúrico
AVE – acidente vascular encefálico
AZA - azatioprina
Bcl2 – *B-cell lymphoma 2*
Bcl-xl – *B-cell lymphoma-extra large*
Cel/ μ L – células por microlitro
CM - centímetros
DC – doença de Crohn
DCV – doença cardiovascular
DII – doença inflamatória intestinal
DM - diabetes mellitus
DNA – ácido desoxirribonucleico
eNOS – óxido nítrico sintase endotelial
FDA - *Food and Drug Administration*
G - gramas
GP130 – glicoproteína 130
GP80 – glicoproteína 80
H₂SO₄ – ácido sulfúrico
HAS – hipertensão arterial sistêmica
HC – Hospital das Clínicas
HDL – lipoproteína de alta densidade
HDLc – colesterol em lipoproteína de alta densidade
HPRT - hipoxantina fosforibosil transferase
IAG – Instituto Alfa de Gastroenterologia
IAM – infarto agudo do miocárdio
ICAM – molécula de adesão intracelular 1
ICB – Instituto de Ciências Biológicas
IFN- γ – interferon gama

IgG – imunoglobulina G
IL-10 – interleucina 10
IL-1 β – interleucina 1 beta
IL-2 – interleucina 2
IL-4 – interleucina 4
IL-5 – interleucina 5
IL-6 – interleucina 6
IL-6R – receptor para interleucina 6
IMC – índice de massa corporal
iNOS – óxido nítrico sintase induzível
Kg - quilogramas
Kg/m² – quilogramas por metro ao quadrado
LABiN – Laboratório de Aterosclerose e Bioquímica Nutricional
LDL – lipoproteína de baixa densidade
LDLc – colesterol em lipoproteína de baixa densidade
LDLox – lipoproteína de baixa densidade oxidada
MCP-1 – proteína quimioatraente para monócitos 1
M-CSF – fator estimulante de colônia de macrófagos
mg - miligramas
mM - milimolar
mmHg – milímetros de mercúrio
MMP – metaloproteinase
NCEP-ATPIII – *National cholesterol education program-adult treatment panel III*
NF- κ B – fator nuclear *kappa* B
NHI – *National Heart Institute*
NHLBI - *National Heart, Lung and Blood Institute*
NKT – células T matadoras naturais
nm – nanômetros
nNOS – óxido nítrico sintase neuronal
NOS – óxido nítrico sintase
OMS – Organização Mundial de Saúde
ON – óxido nítrico
OPD - ortofenileno-diamino
PAD – pressão arterial diastólica

PAS – pressão arterial sistólica
PCR – proteína C reativa
RCU – retocolite ulcerativa
RNA – ácido ribonucleico
RPM – rotações por minuto
sIL-6R – receptor solúvel para interleucina 6
SR-A – receptor scavenger A
SR-B1 – receptor scavenger B1
STAT1 – sinal de transdução e ativação de transcrição 1
STAT3 – sinal de transdução e ativação de transcrição 3
TGF- β – fator de transformação de crescimento beta
TPMT - metiltransferase tiopurina
TNF – fator de necrose tumoral
UA – unidades arbitrárias
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais
VCAM-1 – molécula de adesão celular vascular 1
VHS – velocidade de hemossedimentação
VLDLc – colesterol em lipoproteína de muito baixa densidade

RESUMO

A Retocolite Ulcerativa (RCU) é uma doença inflamatória intestinal, crônica, com importante envolvimento do sistema imune. As doenças inflamatórias crônicas têm sido associadas com o aumento do risco de doenças cardiovasculares, mas poucos estudos têm avaliado esse risco em paciente com RCU e a influência do tratamento medicamentoso. Assim, nosso objetivo foi avaliar o risco de desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares em mulheres com RCU em remissão clínica, considerando o tratamento medicamentoso. Participaram do estudo vinte e uma mulheres sendo doze em uso exclusivo de aminossalicilatos (grupo ASA) e nove em uso de azatioprina associada a aminossalicilatos (grupo AZA+ASA). O grupo controle saudável foi pareado por idade. Foram avaliados a pressão arterial, composição corporal, hábitos alimentares e parâmetros bioquímicos e imunológicos. Comparados ao respectivo grupo controle, os grupos com RCU mostraram aumento do tecido adiposo e redução da massa livre de gordura. Pressão arterial, níveis de óxido nítrico, proteína C reativa, velocidade de hemossedimentação e anticorpos anti-LDL oxidada também foram maiores nos grupos RCU comparados aos seus controles. O grupo ASA apresentou aumento de IL-6 e MCP-1 circulantes enquanto no grupo AZA+ASA houve aumento de IL-6, TNF, MCP-1 e das citocinas anti-inflamatórias IL-10 e TGF- β . Os escores de risco de Framingham para avaliação do risco de doenças cardiovasculares em 10 e 30 anos também foram maiores nos grupos com RCU. Quando os grupos RCU foram comparados entre si, observou-se que as mulheres tratadas com azatioprina associada aos aminossalicilatos mostraram níveis reduzidos de proteínas totais, globulinas, velocidade de hemossedimentação e linfócitos, com aumento dos níveis das citocinas inflamatórias IL-6 e TNF e anti-inflamatórias IL-10 e TGF- β . Assim, os dados sugerem que as mulheres com RCU em remissão clínica têm maior risco de desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares quando comparadas ao grupo controle saudável. Por sua vez, mulheres tratadas com azatioprina e aminossalicilatos associados parecem estar mais protegidas que aquelas em uso isolado de aminossalicilatos, devido à melhor regulação do processo inflamatório.

Palavras-chave: aminossalicilatos; azatioprina; citocinas; doenças cardiovasculares; remissão clínica; retocolite ulcerativa.

ABSTRACT

Ulcerative colitis (UC) is an inflammatory bowel disease, chronic, with involvement of the immune system. Chronic inflammatory disease have been associated with increased risk of cardiovascular disease (CVD) but few studies have assessed this risk in patients with UC and the influence of drug treatment. Thus, we evaluated the risk of development CVD in women with UC in clinical remission considering the drug treatment. 21 women with UC participated in this study, where 12 used aminosalicylates (ASA group) and 9 used azathioprine added to aminosalicylates (AZA+ASA group). The healthy control group was matched for age. We evaluated blood pressure, body composition and biochemical and immunological parameters. Compared the respective control group, the UC groups showed expansion of body fat and less lean body mass. Blood pressure, pro-inflammatory cytokines, nitric oxide, C reactive protein, erythrocyte sedimentation rate (ESR) and anti-oxidized LDL antibodies were higher in UC groups. Only AZA+ASA group showed increased of anti-inflammatory cytokines (IL-10 and TGF- β). The Framingham scores showed higher risk of CVD in UC groups. UC groups were compared and women treated with azathioprine showed reduction of total protein, globulin, ESR and lymphocytes, with increased of IL-6, TNF, IL-10 and TGF- β . Data suggest that women with UC in clinical remission have a higher risk for development of atherosclerosis and CVD when compared to the control group, while women treated with azathioprine seem more protected than that in isolated use of aminosalicylates, due the better regulation of the inflammatory process.

Keywords: aminosalicylates; azathioprine; cardiovascular disease; clinical remission; cytokines; ulcerative colitis.

1 INTRODUÇÃO

As doenças inflamatórias intestinais (DII) caracterizam-se por um processo inflamatório crônico, destrutivo, de etiologia parcialmente conhecida e que acomete o trato gastrointestinal. Apresentam curso clínico variável, marcado por períodos de remissão ou de atividade inflamatória, sendo seus representantes a retocolite ulcerativa (RCU) e a doença de Crohn (DC).

A RCU é caracterizada por inflamação difusa da mucosa colônica a qual envolve o reto e se estende de forma ininterrupta, comprometendo parte ou todo intestino grosso. Pacientes com RCU apresentam redução da massa livre de gordura e aumento da gordura corporal, condição que contribui para a maior secreção de adipocinas ou citocinas inflamatórias, com ação local e sistêmica, contribuindo para um quadro de inflamação crônica de baixo grau. Em RCU, os leucócitos presentes na mucosa intestinal e na lâmina própria, especialmente linfócitos e macrófagos, promovem a liberação de mediadores inflamatórios, condição que contribui para a manutenção da inflamação crônica no cólon.

O tratamento da RCU visa induzir remissão da doença ativa e manter a remissão alcançada. Para tanto, o tratamento deve ser baseado na gravidade e extensão da doença, podendo ser empregados medicamentos como aminossalicilatos, glicocorticoides, imunomoduladores e agentes biológicos, de forma isolada ou combinada.

Alguns trabalhos mostram que pacientes com doenças inflamatórias crônicas como a artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico apresentam maior incidência de doenças cardiovasculares (DCV), devido à inflamação crônica e sistêmica. Recentes estudos sugerem que pacientes com DII também apresentam maior risco para o desenvolvimento de aterosclerose precoce com modificações na rigidez e espessura das artérias, comparados à população saudável.

As DCV são desordens que acometem os vasos sanguíneos e o coração e representam a maior causa de morbimortalidade no mundo sendo a aterosclerose sua principal causa. Ela promove alterações silenciosas na parede arterial como disfunção endotelial; aumento da permeabilidade vascular; acúmulo de LDL oxidada, leucócitos e células musculares lisas na íntima da artéria, bem como intensa liberação de citocinas (TNF, IL-6, IL-1 β), quimiocinas (MCP-1) e outros agentes pró-inflamatórios, resultando no desenvolvimento e expansão da placa de ateroma. Sua

ruptura desencadeia complicações cardiovasculares como trombose, acidente vascular encefálico e infarto agudo do miocárdio, condições associadas a alta mortalidade. Fatores de risco para DCV incluem tabagismo, sedentarismo, hábitos alimentares, ingestão de bebidas alcoólicas, presença de doenças como hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus e dislipidemia, além da contagem total de leucócitos, níveis de hemoglobina, VHS, PCR, IL-6 e fibrinogênio.

Estudos que esclareçam a relação entre DCV e DII têm sido desenvolvidos mas nenhum deles avalia a RCU e DC separadamente, nem consideram o tratamento medicamentoso e o estágio da doença (atividade ou remissão). Embora vários trabalhos têm mostrado uma associação entre DCV e DII, nenhum sugere um possível mecanismo de ligação entre as doenças. Acredita-se que a inflamação crônica possa ser o evento chave que associa as doenças, mas nenhum mecanismo foi proposto. Assim, novos estudos que busquem identificar a relação entre DII e DCV precisam ser realizados considerando o tipo de doença (RCU ou DC), seu estágio e tratamento medicamentoso, em busca de um possível mecanismo que explique as evidências previamente conhecidas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doenças Inflamatórias Intestinais

As Doenças Inflamatórias Intestinais (DII) caracterizam-se por um processo inflamatório crônico, destrutivo, de etiologia parcialmente conhecida, que acometem o trato gastrointestinal. Apresentam curso clínico variável, marcado por períodos de remissão, interpostos a novos surtos de atividade inflamatória. Associam-se com frequência às manifestações extraintestinais (que podem acometer fígado, pele, visão, sistema cardiovascular dentre outros) e variadas complicações. A etiopatogenia, apesar de não completamente esclarecida, envolve basicamente quatro aspectos que interagem entre si e com fatores ambientais: a) fatores genéticos; b) fatores luminais, relacionados à microbiota intestinal, seus antígenos, produtos metabólicos e antígenos alimentares; c) fatores relacionados à barreira intestinal, incluindo os aspectos referentes à imunidade inata e à permeabilidade intestinal e d) fatores relacionados à imunorregulação, tendo por base a imunidade adquirida^{1; 2; 3; 4; 5}.

Em geral, as DII acometem principalmente a população adulta, durante a segunda e terceira décadas de vida, podendo ocorrer também em crianças e adolescentes. Por serem doenças crônicas, progressivas, elas podem causar importantes repercussões na qualidade de vida do paciente, refletindo na educação, capacidade de trabalho e produtividade, vida social e estado psicológico^{6; 7; 8; 9}.

Os principais representantes das DII são a Doença de Crohn (DC) e a Retocolite Ulcerativa (RCU)^{10; 11; 12}. A RCU caracteriza-se por inflamação difusa da mucosa colônica, que envolve o reto podendo estender-se cranialmente de maneira simétrica, circunferencial e ininterrupta, comprometendo parte ou todo intestino grosso^{2; 10; 11; 13; 14}. Histologicamente, podem ser encontrados abscessos nas criptas intestinais e infiltrado inflamatório de neutrófilos, macrófagos, eosinófilos, linfócitos e plasmócitos na lâmina própria, acometendo não somente a camada mucosa, mas podendo evoluir até a submucosa⁸. Por sua vez, a DC afeta qualquer parte do trato gastrointestinal, em especial o íleo terminal e o cólon proximal. A inflamação não é contínua, sendo caracterizada por áreas inflamadas e não-inflamadas^{11; 12; 13}.

As taxas de incidência e prevalência da DII no mundo aumentaram nas últimas 5 décadas⁴. A incidência de DII é maior em países industrializados, com

taxas de 6,5 a 16,0 novos casos para cada 100 mil habitantes/ano e prevalência de 26 a 214 pacientes para cada 100 mil habitantes/ano. Em países subdesenvolvidos, a incidência é de 0,08 a 5 novos casos para cada 100 mil habitantes/ano enquanto a prevalência é de 3,6 a 70 casos para cada 100 mil habitantes/ano⁹.

Na Coreia a prevalência de RCU aumentou de 7,57 para 30,87 para cada 100.000 habitantes, do período de 1997 a 2005. Na Ásia a incidência e prevalência das DII também têm aumentado, sendo que a RCU tem acometido predominantemente as mulheres⁴. Nos EUA 1,4 milhão de adultos têm DII³.

No Brasil, a taxa de incidência de DII entre os anos 2000 e 2005 na região centro-oeste de São Paulo foi de 19,5 novos casos para cada 100 mil habitantes ocorrendo principalmente em mulheres. A incidência de RCU nessa região foi de 4,48/100 mil habitantes e a prevalência foi de 14,81 pacientes para cada 100 mil habitantes⁹. Na Bahia a cada 100 pacientes com RCU atendidos, 73% são mulheres¹⁵. Em Recife/PE, 62,5% da população com DII internada em um hospital universitário tem diagnóstico de RCU enquanto os outros 37,5% tem DC, sendo que a prevalência maior da DII nesta região é em homens na faixa etária de 40 anos¹⁶. Em Porto Alegre/RS 72% dos pacientes com DII têm diagnóstico de DC com maior acometimento em mulheres¹⁷. Os dados brasileiros sugerem que a incidência e prevalência de DII têm aumentado no país, acometendo indivíduos de ambos os sexos, com certa predominância em mulheres. As mudanças no estilo de vida e a industrialização são os principais fatores associados com o aumento da DII em todo o mundo⁴.

2.2 O sistema imunitário em DII

Em DII participam da resposta imune as células do sistema imune inato e adquirido além de outras como as células endoteliais intestinais. Em conjunto essas células são responsáveis pelo aumento da síntese de mediadores inflamatórios como citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão, espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico, intensificando o processo inflamatório^{1; 6; 13; 18}.

Os linfócitos T CD4⁺ e os macrófagos são as principais células do sistema imunitário envolvidas no início e manutenção da inflamação característica das DII, refletindo em um estado crônico. Eles liberam citocinas como TNF, IL-6 e IL-1 β que ativam NF-kB, resultando em desequilíbrio entre citocinas pró e anti-inflamatórias e

aumento do recrutamento de leucócitos para o trato gastrointestinal, contribuindo para danos à mucosa/submucosa e para o estabelecimento da resposta inflamatória e sua manutenção^{6; 19; 20; 21; 22}.

Um mecanismo importante nas DII e que contribui para o estado inflamatório crônico da doença é a capacidade dos linfócitos T da lâmina própria serem resistentes à apoptose, contribuindo para seu acúmulo nesta região e aumento do processo inflamatório local. Além disso, linfócitos de pacientes com DII apresentam maior capacidade inflamatória frente a antígenos exógenos comparados às células de indivíduos saudáveis, o que potencializa a resposta inflamatória^{19; 23}.

A resistência dos linfócitos T em DII está relacionada com a sinalização via IL-6 a qual ocorre de duas maneiras: a primeira é pela via tradicional, onde a IL-6 se liga ao seu receptor de membrana (IL-6R), interagindo com as subunidades gp80 e gp130, ativando STAT3. Outra via, ocorre quando as células não expressam IL-6R. Neste caso, a IL-6 se liga ao seu receptor solúvel (sIL-6R) e este complexo interage com gp130 presente na superfície das células, resultando em ativação de STAT3. Em ambos os casos, a ativação de STAT3 resulta em aumento da expressão de Bcl-2 e Bcl-xl, favorecendo um perfil anti-apoptótico das células da lâmina própria e manutenção do processo inflamatório^{19; 20; 23; 24}.

Por sua vez, os macrófagos liberam citocinas que interagem com seus respectivos receptores em diferentes células, ativando uma cascata de sinalização intracelular que resulta na ativação de fatores de transcrição como NF-κB e STAT-1, levando ao aumento da transcrição de mediadores inflamatórios e maior recrutamento de leucócitos, favorecendo a manutenção da resposta imune em DII⁷. Neutrófilos e eosinófilos também têm papel fundamental no processo inflamatório em DII. Os eosinófilos estão comumente associados a processos inflamatórios no trato gastrointestinal. Já os neutrófilos, em DII, estão aumentados no trato gastrointestinal devido a presença de antígenos alimentares e a intensa liberação de toxinas pela microbiota intestinal. Assim, os neutrófilos iniciam a secreção de uma proteína chamada BPI (*bactericidal/permeability-increasing protein*), a qual apresenta propriedade bactericida com afinidade por toxinas provenientes de bactérias gram-negativas, auxiliando no combate à endotoxemia e prevenção à sepse em DII²⁵.

Pacientes com RCU apresentam níveis elevados de IL-6, TNF e IL-1β na mucosa, evidenciando o papel concomitante destas citocinas na resposta imune^{6; 18};

^{21; 24}. Estas citocinas estimulam células apresentadoras de antígenos, macrófagos e células endoteliais a produzirem diversas citocinas inflamatórias, ativando outras células e criando um ciclo vicioso^{6; 18; 21; 24}.

2.3 Diagnóstico e classificação da RCU

A RCU acomete o cólon desencadeando alterações metabólicas que variam conforme o indivíduo, a doença e sua extensão^{5; 26}. O diagnóstico de RCU é realizado por meio de parâmetros histológicos, endoscópicos e laboratoriais, associados às manifestações clínicas^{8; 10; 27}. A doença pode ser classificada: (1) por sua extensão anatômica, em proctite, proctosigmoidite, colite esquerda e pancolite; (2) pela gravidade, em leve, moderada e grave e (3) pela evolução clínica, em aguda fulminante, crônica contínua e crônica intermitente^{10; 28}.

Quanto a extensão da doença, a proctite corresponde a inflamação que acomete a mucosa iniciando-se no reto se estendendo a cerca de 15 cm da linha dentada; proctosigmoidite é quando acomete a mucosa do reto e sigmoide, atingindo cerca de 25 cm a 30 cm após a linha dentada; colite esquerda é quando a inflamação acomete a mucosa do reto até a flexura esplênica, podendo atingir a porção distal do cólon transversal enquanto a pancolite afeta a mucosa do reto até a parte proximal do cólon transversal¹⁰.

O índice de Truelove e Witts²⁹ (Tabela 1) é um dos mais empregados para avaliar a gravidade da RCU. Este índice classifica a RCU como leve, moderada ou grave, considerando os seguintes parâmetros: número de evacuações ao dia, presença de sangue nas fezes, temperatura corporal, pulso, níveis de hemoglobina e VHS^{10; 29}. Pacientes que não se enquadram nos parâmetros propostos por Truelove e Witts (1951) estão em remissão.

Tabela 1: Índice de Truelove e Witts

PARÂMETROS	LEVE	MODERADA	GRAVE
Número de evacuações/dia	≤ 4	5	≥ 6
Sangue vermelho vivo nas fezes	±	+	++
Temperatura corporal (°C)	Normal	Valores intermediários	Temperatura noturna média >37,5°C ou ≥37,8°C em dois dentro de quatro dias
Pulso (bpm)	Normal	Intermediário	≥ 90 bpm
Hemoglobina (g/dL)	> 10	Intermediário	≤ 10,5
VHS (mm, uma hora)	≤ 30	Intermediário	30

Índice de Truelove e Witts^{10; 29}

A classificação da gravidade da RCU inclui ainda o quadro fulminante onde os pacientes apresentam comprometimento do estado geral, extensivo número de evacuações ao dia contendo sangue e pus, presença de febre, dor abdominal, provas de atividade inflamatória bastante alteradas, anemia com necessidade de transfusão e possível aparecimento de complicações como hemorragias maciças, megacólon tóxico, perfuração intestinal e outras complicações sistêmicas²⁸.

Em geral, a diarreia é um dos melhores indicadores da gravidade da doença²⁸. Na fase ativa e não complicada o sintoma predominante é a diarreia mucossanguinolenta e piomucossanguinolenta. O número de evacuações varia muito entre os pacientes, oscilando de 2 a 3 até incontáveis em 24h. Nesta fase é comum a perda de sangue junto às evacuações intestinais ou na forma de enterorragia, evidenciando a exacerbação do processo inflamatório. Outras manifestações clínicas comumente observadas neste período incluem febre, astenia, emagrecimento e anemia. Perda de água, eletrólitos e proteínas são comuns nesta fase²⁸.

A exacerbação do processo inflamatório culmina em aumento de leucócitos circulantes e na mucosa intestinal com maior liberação de mediadores inflamatórios e intensificação da inflamação. Esta é uma fase onde o paciente pode apresentar maior risco de complicações cardiovasculares, possivelmente em decorrência deste

intenso processo inflamatório. Em seus estudos, Kristensen et al^{30; 31; 32} mostraram que pacientes com DII em atividade têm maior risco para desenvolvimento de DCV incluindo acidente vascular encefálico (AVE), fibrilação atrial e insuficiência cardíaca e até mesmo morte por DCV comparados a indivíduos controles, enquanto durante a remissão o risco de DCV é semelhante ao grupo controle^{30; 31; 32}. Rungoe e colaboradores³³ relatam que pacientes com DII têm duas vezes mais risco de DCV durante o primeiro ano de diagnóstico da doença³³. Isso se deve ao intenso processo inflamatório recentemente instalado no trato gastrointestinal.

A fase de remissão é caracterizada pelo controle dos sintomas e cicatrização da mucosa³⁴. Nessa fase os pacientes geralmente não queixam dor abdominal, febre, sangramento retal, muco e pus nas fezes, uma vez que as lesões na mucosa estão cicatrizadas e a doença está sob controle medicamentoso. Em geral as fezes são bem formadas, sem elementos anormais enquanto os marcadores inflamatórios como PCR e VHS mantêm-se dentro da faixa de normalidade. O processo inflamatório durante a remissão também é diferenciado, com redução nos níveis de leucócitos e de mediadores inflamatórios. Em geral, pacientes que não se enquadram nos parâmetros de atividade propostos por Truelove e Witts²⁹ (Tabela 1) encontram-se em remissão.

Em geral, a maioria dos trabalhos que envolvem pacientes com DII, não diferenciam RCU da DC. Da mesma forma, vários trabalhos não distinguem a doença em fase de atividade daquela em fase de remissão. Considerando que o quadro clínico do paciente difere entre os estágios e que a inflamação é um importante mecanismo em ambos, seria interessante avaliar as doenças e seu estágio separadamente, para obtenção de dados mais conclusivos em cada condição.

2.4 Tratamento das DII

O tratamento das DII visa induzir a remissão da doença ativa, manter a remissão alcançada, evitar complicações e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Para alcançar tais objetivos, a decisão terapêutica deve ser baseada na gravidade e extensão da doença. Os principais grupos de medicamentos empregados no tratamento são os glicocorticoides, aminossalicilatos, imunomoduladores e a terapia biológica¹⁰.

2.4.1 Glicocorticoides

Os glicocorticoides são uma classe de hormônios esteroides, sintéticos, que exercem ações anti-inflamatórias e imunossupressoras. Eles podem ser administrados de diversas formas, tais como via oral, intramuscular, intravenosa, intra-articular, aerossol ou em forma de colírios, gotas nasais, cremes e pomadas. Após administração, a droga é transportada especialmente pela albumina e em pequenas concentrações pela globulina de ligação de corticosteroides (GLC) até as células onde sofre difusão passiva. No citoplasma, os glicocorticoides interagem com receptores específicos, especialmente o GR α , receptor de alta afinidade para glicocorticoides e que pode ser encontrado em todos os tecidos, com expressão variada conforme o local. No estado de repouso o receptor GR α é encontrado associado a um complexo de proteínas denominado HSP (proteínas de choque térmico) 56 e 90. Após a ligação do glicocorticoide a esse receptor, o receptor se dissocia do complexo proteico e sofre uma alteração em sua conformação. Em seguida, o complexo receptor-glicocorticoide migra para o núcleo das células onde se liga aos chamados elementos de resposta a glicocorticoides (ERG) “positivos” ou “negativos”, presentes nos promotores dos genes alvo, interferindo assim no processo de transcrição³⁵.

O complexo receptor-glicocorticoide parece atuar por três vias para regular a expressão gênica. O primeiro mecanismo é o da transativação, onde o complexo se liga a um ERG positivo estimulando a transcrição de alguns genes, especialmente aqueles envolvidos em mecanismos anti-inflamatórios. O segundo mecanismo é o da transrepressão, onde o complexo se liga ao ERG negativo, reduzindo a expressão de alguns genes. A terceira via de atuação do complexo receptor-glicocorticoide envolve o mecanismo Fos/Jun, onde a presença do complexo reduz a ligação dos fatores de transcrição Fos e Jun ao sítio regulatório AP-1 reduzindo o processo de transcrição. Além disso, o complexo receptor-glicocorticoide é capaz de se ligar aos fatores de transcrição P65 e P50 inibindo sua ligação ao NF-kB e consequentemente, impedindo a transcrição de diversos genes pró-inflamatórios, auxiliando assim na regulação do processo inflamatório³⁵. Acredita-se que a resistência ao corticoide seja decorrente de falhas nos mecanismos de regulação da expressão gênica, resultando em perda da capacidade de inibir vias pró-inflamatórias como a via de NF-kB e AP-1.

Apesar de atuar sobre a expressão de diversos genes, o complexo receptor-glicocorticoide pode exercer ações rápidas, não genéticas, interferindo na transdução de sinais ainda no citoplasma, sem alterar a síntese de RNA e proteínas. Uma das ações desse complexo envolve a fosforilação e liberação da proteína anexina-1, importante na movimentação de leucócitos³⁵.

Os principais glicocorticoides empregados no tratamento da DII incluem prednisona, prednisolona e hidrocortisona. Em geral são utilizados quando a DII está em atividade, com o objetivo de induzir a remissão da doença e sua retirada deve ser feita gradativamente. O tratamento da RCU leve ou moderada deve ser realizado com a associação de glicocorticoides e aminossalicilatos enquanto em casos graves, pode ser necessária a administração intravenosa deste fármaco associada à administração via oral. A terapia de manutenção da remissão da DII não deve ser feita com o glicocorticoide^{10; 18}.

Diversos efeitos metabólicos e anti-inflamatórios são associados ao uso de glicocorticoides^{11; 35; 36; 37; 38}:

- Redução da captação e da utilização da glicose, aumento da gliconeogênese e do armazenamento de glicogênio e hiperglicemia;
- Redução da síntese de proteínas e aumento do catabolismo, especialmente no músculo;
- Alteração sobre a resposta lipolítica às catecolaminas e outros hormônios. Assim, esses hormônios levam a ativação da lipase e alteração dos níveis de lipídios circulantes bem como modificações na distribuição da gordura corporal;
- Redução da absorção de cálcio no trato gastrointestinal e aumento de sua excreção renal, favorecendo o estabelecimento de osteopenia/osteoporose;
- Redução da atividade de osteoblastos e ativação de osteoclastos, também contribuindo para osteopenia/osteoporose;
- Retenção de sódio e perda de potássio;
- Alterações oftalmológicas, dermatológicas e psíquicas;
- Redução da migração de neutrófilos da circulação para os tecidos;
- Redução da produção de moléculas de adesão e citocinas inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6 e TNF), resultando em menor ativação de leucócitos, especialmente de neutrófilos e macrófagos;

- Redução da ativação de células T *helper* e de sua expansão clonal;
- Redução da expressão da iNOS e conseqüentemente menor produção de óxido nítrico por essa via;
- Diminuição da secreção de histamina por basófilos;
- Aumento da produção de IL-10;

Pacientes que são dependentes de glicocorticoides, ou seja, que necessitam deste para manter a remissão assim como aqueles que não respondem à terapia com esta droga devem fazer uso de outros medicamentos para induzir e manter a remissão tais como azatioprina e 6-mercaptopurina¹⁰.

2.4.2 Aminossalicilatos

Os aminossalicilatos são medicamentos que vêm sendo utilizados há mais de 60 anos para o tratamento das DII e são empregados para indução e manutenção da remissão³⁷. O grupo dos aminossalicilatos inclui a sulfassalazina e derivados do ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) sendo o mais comumente utilizado a mesalazina.

2.4.2.1 Sulfassalazina

A sulfassalazina (Azulfín®) é um medicamento antiinflamatório de uso oral, empregado no tratamento das DII e do reumatismo. É uma droga metabolizada no cólon pela enzima azoredutase gerando os compostos sulfapiridina e mesalazina, sendo o último, o princípio ativo da droga^{10; 39}. A mesalazina não é absorvida, exercendo ações locais, enquanto a sulfapiridina é absorvida, metabolizada no fígado e posteriormente excretada. Possíveis sintomas decorrentes do uso da sulfassalazina são provenientes da sulfapiridina³⁵.

Os mecanismos de ação da sulfassalazina ainda não foram elucidados, no entanto, sabe-se que a droga promove a redução da quimiotaxia de leucócitos especialmente neutrófilos, inibição da proliferação celular e indução da apoptose de leucócitos; redução da ativação de NF-kB, modulação da secreção de citocinas pró-inflamatórias, inibição da produção de prostaglandinas e leucotrienos, diminuição de radicais livres e do estresse oxidativo, degradação do peroxinitrito e redução da apoptose das células epiteliais intestinais. Em conjunto, as ações anti-inflamatórias

contribuem para o controle da inflamação e indução/manutenção da remissão da doença^{10; 36; 37; 39}.

Os efeitos colaterais da sulfassalazina são dose-dependentes e estão associados com os níveis séricos de sulfapiridina sendo os principais náuseas, vômitos, cefaleia, anorexia e alterações hepáticas e renais^{10; 39}.

2.4.2.2 Mesalazina

A mesalazina (Asalit®) é um medicamento antiinflamatório de uso oral e uso tópico como supositório e enema. Grande parte dos pacientes que não toleram a sulfassalazina são tratados com mesalazina, apresentando boa tolerância. Esse medicamento é eficaz na manutenção da remissão e melhora do quadro geral, além de possuir menor custo comparado à sulfassalazina^{10; 39}.

A liberação de mesalazina no trato gastrointestinal ocorre de diferentes formas. De acordo com a formulação da droga ela pode ser liberada no decorrer de todo o trato gastrintestinal, no íleo proximal e distal ou no cólon. A liberação pode ser imediata ou prolongada, ocorrendo durante todo o dia e facilitando a adesão ao tratamento^{10; 37}.

Os mecanismos de ação da droga são os mesmos descritos para sulfassalazina, uma vez que a mesalazina é o princípio ativo de ambas as drogas. As reações adversas incluem flatulência, fraqueza, dor abdominal e alterações nas funções hepática e renal³⁹.

2.4.3 Azatioprina

A azatioprina - AZA (Imuran®) é um medicamento imunossupressor que também é utilizado no tratamento das DII e da artrite reumatoide. A azatioprina é convertida em 6-mercaptopurina (6-MP) por uma reação não-enzimática que ocorre no interior de eritrócitos^{10; 35; 40}. Em seguida, a 6-MP é metabolizada em três vias. Na primeira via, a 6-MP sofre ação da enzima TPMT (metiltransferase tiopurina), a qual converte a 6-MP em 6-MMP (6-metilmercaptopurina), metabólito com ação hepatotóxica. A 6-MP também pode ser metabolizada pela enzima HPRT (hipoxantina fosforibosil transferase), que resulta na formação de 6-TGN (nucleotídeo 6-tioguanina), metabólito responsável pela ação terapêutica em DII e

pela mielossupressão. Outra via de metabolização da 6-MP envolve a enzima xantina oxidase que leva à formação do composto 6-TU (ácido 6-tioúrico), um metabólito inativo no organismo, posteriormente excretado⁴¹.

O principal mecanismo de ação da azatioprina está relacionado à incorporação dos nucleotídeos 6-tioguaninas ao RNA e/ou DNA das células em replicação, interrompendo sua proliferação e a formação de seus produtos. Assim, a azatioprina é capaz de inibir a expansão clonal das células T durante a resposta imune, diminuindo conseqüentemente a produção de citocinas e imunoglobulinas por essas células^{35; 42} e reduzindo o processo inflamatório e a contagem de linfócitos no sangue.

Outro mecanismo de ação importante da droga envolve o bloqueio da via de Rac1. Na via de Rac1, a coestimulação por CD28 leva a ativação de proteínas no citoplasma dos linfócitos culminando na formação e ativação do complexo Rac1-GTP, o qual promove ativação de NF-kB. Por sua vez, NF-kB aumenta a expressão de genes anti-apoptóticos e ativa a via de STAT3 que também induz o aumento da expressão desses genes, contribuindo para a sobrevivência da célula e produção de mediadores inflamatórios. Com a administração de AZA, seu metabólito ativo 6-MP é convertido em 6-TGN que se liga ao complexo Rac1-GTP inibindo-o pela formação do complexo Rac1-GTP-6TGN. Isso impede que haja ativação direta de genes anti-apoptóticos e da via de STAT3, culminando em apoptose das células e regulação do processo inflamatório^{10; 19; 41}.

Em RCU, os imunossupressores são indicados quando o paciente é dependente ou resistente ao glicocorticoide, quando necessita de mais de dois ciclos de glicocorticoide no período de um ano ou quando o tratamento habitual não apresenta resposta nem melhora do padrão de atividade da RCU¹⁰. Tanto AZA quanto 6-MP apresentam efeitos tardios sendo necessário um período de tratamento mínimo de três meses para avaliar se o tratamento está sendo eficaz ou não¹⁰.

Efeitos colaterais relacionados à azatioprina incluem náuseas, vômitos, erupções cutâneas, distúrbios gastrointestinais (esofagite, estomatite, esteatorreia...), hepatotoxicidade, pancreatite, trombocitopenia, leucopenia e mielossupressão^{10; 35; 39; 41}.

2.4.4 Agentes biológicos

Pacientes com DII em grau moderado a grave ou que não respondem a outros tratamentos podem ter indicação para realização da terapia biológica¹⁰. Os principais agentes biológicos utilizados são Infliximabe (Remicade®) e Adalimumabe (Humira®). Eles são comumente empregados no tratamento da DC mas vêm sendo utilizados no tratamento de alguns casos graves de RCU em atividade, visando induzir e posteriormente manter a remissão^{10; 18}.

O infliximabe é um anticorpo IgG monoclonal anti-TNF α , cuja composição deriva de 75% de anti-TNF α humano e 25% de anti-TNF α sintético. A administração é feita por via intravenosa. Por sua vez o adalimumabe também é um anticorpo IgG anti-TNF α , 100% humano, administrado por via subcutânea. Ambos são capazes de se ligar ao TNF circulante e de membrana impedindo que este desenvolva seu papel pró-inflamatório, reduzindo assim a inflamação. A ligação do anti-TNF α ao TNF de membrana induz uma sinalização reversa, inibindo a produção de TNF e induzindo a apoptose das células produtoras desta citocina. Além disso, o anti-TNF α se liga aos receptores de TNF bloqueando esta via de sinalização e contribuindo para redução do processo inflamatório^{10; 18; 41}.

O infliximabe é administrado em uma dose de 5mg/kg nas semanas 0, 2 e 6, por via intravenosa para indução da remissão. Posteriormente, uma dose de manutenção deve ser administrada a cada oito semanas. A dose bem como a frequência de administração podem ser alteradas caso o paciente pare de responder à terapia tradicional¹⁰. A necessidade de administração do infliximabe associado aos fármacos imunossupressores deve ser avaliada cuidadosamente, considerando a história clínica do paciente¹⁰. A dose recomendada de adalimumabe para pacientes com DC é de 160 mg, seguidos de 80 mg duas semanas após a dose inicial e posteriormente, 40 mg a cada 15 dias para a terapia de manutenção. O uso de adalimumabe em RCU ainda não foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA)⁴³.

Os efeitos colaterais mais comumente observados na terapia com anti-TNF α são infecções do trato respiratório (bronquite, faringite), reações à infusão, febre e cefaleia, náuseas e dor abdominal¹⁰.

2.5 Composição corporal em DII

O corpo é dividido em dois compartimentos sendo eles a massa gorda e massa livre de gordura (representada pela massa muscular, massa óssea e água corporal). Vários métodos podem ser utilizados para avaliar a composição corporal dos indivíduos sendo o mais comumente empregado a bioimpedância⁴⁴.

A avaliação nutricional feita somente pelo IMC não apresenta conclusões sobre a composição corporal. Um indivíduo pode apresentar IMC dentro da faixa de normalidade (18,5 a 24,9 kg/m²)⁴⁵, mas possuir níveis elevados de gordura corporal com redução da massa livre de gordura, fatores que não podem ser detectados pelo IMC, evidenciando a importância de uma análise detalhada da composição corporal⁴⁴.

Alguns trabalhos têm mostrado a ocorrência de modificações na composição corporal de pacientes com DII, evidenciando uma redução da massa livre de gordura^{44; 46; 47}. Isto sugere que os pacientes apresentam menor proporção de massa muscular e/ou massa óssea, favorecendo o desenvolvimento de doenças como sarcopenia, osteopenia e osteoporose. Em contrapartida, há um aumento da massa gorda, caracterizando quadro de obesidade e inflamação crônica de baixo grau, o qual influencia no estado pró-inflamatório do paciente^{44; 48}.

Alterações na ingestão calórica podem afetar a composição corporal de pacientes, especialmente daqueles com a doença em atividade, devido à diminuição do apetite. Por sua vez, o aumento dos níveis de citocinas inflamatórias também modifica o metabolismo energético, alterando o *turnover* de proteínas e a utilização de substratos energéticos. Também é conhecido que a terapia com glicocorticoides resulta no aumento da massa gorda além de favorecer o catabolismo da massa magra, afetando a composição corporal dos pacientes⁴⁴.

O aumento da massa gorda e as alterações na distribuição da gordura corporal, com hipertrofia do tecido adiposo mesentérico e aumento da gordura intra-abdominal são achados importantes e que vêm sendo observados em pacientes com DII⁴⁶. O aumento desse tecido adiposo apresenta importante associação com o risco para distúrbios metabólicos como as DCV⁴⁹.

2.6 O tecido adiposo, o sistema imune e as citocinas

O tecido adiposo é um órgão metabolicamente ativo que desempenha importantes funções como geração de calor, produção e armazenamento de energia e secreção de adipocinas (ou citocinas). Ele é constituído por adipócitos, pré-adipócitos, células do estroma vascular, tecidos conectivos, nervos e células imunes. O tecido adiposo é classificado em subcutâneo e visceral. O tecido adiposo visceral apresenta importante relação com o risco de DCV, devido à maior liberação de mediadores inflamatórios^{6; 50; 51; 52; 53; 54; 55}.

Em condições fisiológicas, baixas quantidades de citocinas são produzidas pelo tecido adiposo e podem desempenhar ação endócrina, parácrina ou autócrina. Elas são classificadas como antiinflamatórias ou pró-inflamatórias e podem afetar o metabolismo lipídico, sensibilidade à insulina, homeostase e a regulação da pressão arterial, bem como contribuir para o surgimento e agravamento de doenças como a obesidade, DCV, diabetes e a síndrome metabólica^{6; 46; 52}.

À medida que ocorre a expansão do tecido adiposo, a migração de monócitos para este tecido e sua diferenciação em macrófagos aumentam, bem como a secreção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas com redução da produção de mediadores antiinflamatórios, caracterizando um perfil inflamatório crônico, de baixo grau, que pode contribuir para o desenvolvimento e agravamento de outras doenças e aumento dos níveis séricos de marcadores de inflamação como a proteína c reativa (PCR)^{6; 46; 49; 50; 52}. Desta forma, a expansão do tecido adiposo resulta no desenvolvimento de um quadro de inflamação subclínica que favorece o estabelecimento de complicações clínicas, especialmente as DCV⁵⁰.

Dentre as principais citocinas pró-inflamatórias liberadas pelo tecido adiposo estão a interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral (TNF), proteína quimioatraente para monócitos 1 (MCP-1) e leptina^{6; 46; 50; 52}. O aumento da secreção desses mediadores inflamatórios contribui para maior migração de leucócitos, especialmente monócitos para o tecido adiposo e sua expansão, bem como para aumento do processo inflamatório⁴⁶. A IL-6 pode ser secretada não somente por adipócitos, mas também por monócitos, macrófagos, células T, células endoteliais e fibroblastos. Além de contribuir para formação da placa de aterosclerose ela atua na maturação de células B e crescimento de células T, além de ativar o sistema renina-angiotensina, novamente contribuindo para o desenvolvimento de DCV^{50; 56; 57; 58; 59}.

A MCP-1 produzida por adipócitos e células do sistema imune, promove o recrutamento de monócitos/macrófagos, favorecendo a expansão do tecido adiposo e aumentando o processo inflamatório^{6; 60}. Por sua vez, o TNF também produzido por adipócitos e células imunes, promove alterações na expressão de moléculas de adesão e aumento da produção de óxido nítrico via iNOS, resultando em disfunção endotelial e maior migração de leucócitos para os tecidos. Além disso, o TNF contribui para o aumento do estresse oxidativo, oxidação da LDL e secreção de mediadores inflamatórios, favorecendo o desenvolvimento da aterosclerose^{20; 23; 57; 60; 61; 62; 63}.

Segundo Ponemone e colaboradores (2010)²³, pacientes com DC apresentam alterações no tecido adiposo mesentérico, exibindo um perfil predominantemente pró-inflamatório. Bilski e colaboradores (2013)⁶ mostraram que pacientes com DC apresentam maior expressão de TNF, IL-6, MCP-1, IL-1 β e leptina no tecido adiposo, condição que parece contribuir para o agravamento da DII, aumento de marcadores de inflamação como a PCR e maior risco de DCV^{6; 57; 64; 65}. Rodrigues e colaboradores⁴⁹ relatam que a histologia do tecido adiposo mesentérico de pacientes com DC revela um aumento do infiltrado de macrófagos, células T e fibrose, além de elevado número de adipócitos com redução em seu tamanho, quando comparado ao tecido adiposo de indivíduos controle. Olivier e colaboradores (2011)⁶⁶ relatam que pacientes com DC apresentam aumento de macrófagos ativados no tecido adiposo refletindo em aumento do processo inflamatório⁵⁰. De acordo com Berg e Scherer (2005)⁵⁰, o tecido adiposo possui cerca de 5% a 10% de macrófagos. Com a expansão do tecido adiposo, este infiltrado aumenta correspondendo a cerca de 60% da composição do tecido adiposo.

O tecido adiposo também é uma importante fonte importante de óxido nítrico (ON). Sua expansão resulta em aumento da secreção de ON, contribuindo para disfunção endotelial, ativação de células inflamatórias e o estabelecimento de doenças cardiovasculares⁶⁷.

2.7 Aterosclerose e doenças cardiovasculares

Atualmente é bem conhecido o papel da inflamação no desenvolvimento e progressão da aterosclerose. Pacientes com doenças inflamatórias crônicas como artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico apresentam maior incidência de

doenças cardiovasculares devido ao estado inflamatório crônico, sendo mais propensos à complicações cardiovasculares como o infarto agudo do miocárdio (IAM) e até mesmo morte^{1; 11; 50; 60; 68; 69}.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2013) as DCV são desordens que acometem os vasos sanguíneos e o coração e incluem: doença arterial coronariana, doença cerebrovascular, hipertensão arterial sistêmica, doença arterial periférica, doença arterial reumática, doença arterial congênita e insuficiência cardíaca. Dados da OMS mostram que em 2008 as DCV representaram a maior causa de mortes no mundo, atingindo 17 milhões de indivíduos. Em 2030, a previsão é que este número aumente para 23 milhões. A aterosclerose é a principal causa das DCV.

A aterosclerose é um processo complexo, com modificações silenciosas na parede da artéria, caracterizado por desordens no metabolismo lipídico⁷⁰. A formação do ateroma ocorre em dois estágios. O primeiro é caracterizado pelo surgimento das estrias gordurosas. A migração da LDL para a parede da artéria e sua oxidação gera a LDLox, evento chave na iniciação e desenvolvimento da aterosclerose. Esta, por sua vez, contribui para a ativação das células endoteliais vasculares, aumentando a expressão de moléculas de adesão como E-selectina, P-selectina e molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1), favorecendo a adesão, rolamento e diapedese de leucócitos para a íntima da artéria. As células endoteliais vasculares também secretam mediadores inflamatórios que intensificam sua interação com os leucócitos e posterior diapedese para íntima da artéria. Após a migração, os monócitos se diferenciam em macrófagos sob estímulo do fator estimulante de colônia de macrófagos (M-CSF) produzido pelas células musculares lisas e células endoteliais vasculares. Na íntima, os macrófagos iniciam a endocitose da LDLox por meio dos receptores scavenger (CD36, SR-A e SR-B1) formando a célula espumosa. A liberação de citocinas e quimiocinas contribui para aumentar o recrutamento de leucócitos para a parede do vaso, ampliando a resposta inflamatória e favorecendo o desenvolvimento da placa (Figura 1). O acúmulo das células espumosas na íntima caracteriza a estria gordurosa e tem seu início na infância e adolescência^{2; 60; 70; 71; 72; 73; 74; 75; 76; 77; 78}.

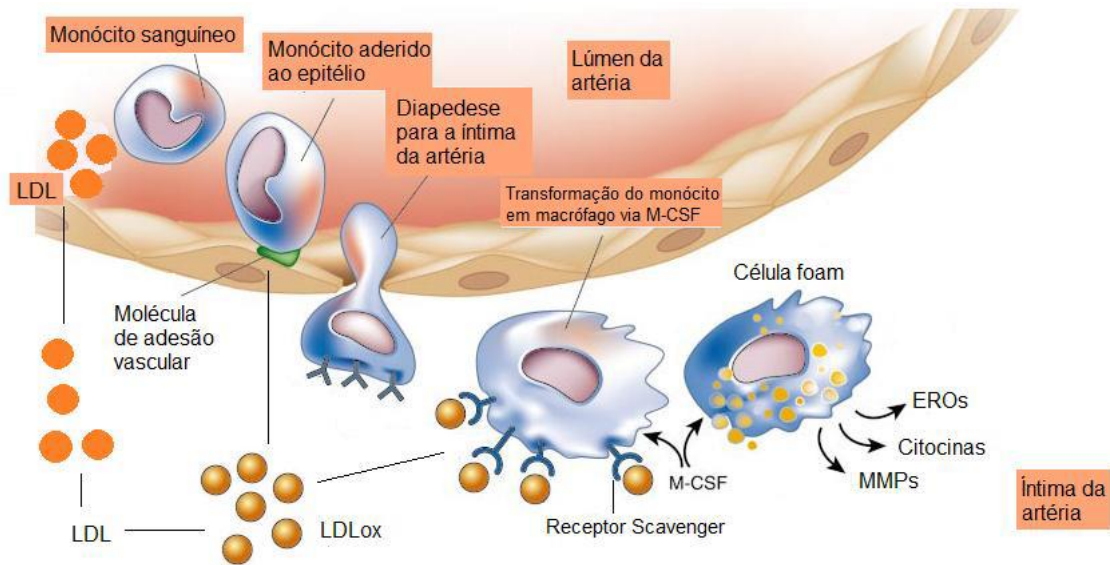


Figura 1: Primeiro estágio de desenvolvimento da aterosclerose. A LDL circulante migra para a íntima da artéria por difusão passiva onde sofre alterações em sua estrutura gerando a LDLox. A LDLox por sua vez estimula a expressão de moléculas de adesão vascular que propicia a adesão e diapedese dos monócitos sanguíneos para a íntima da artéria. Na íntima, o monócito sofre a ação da quimiocina M-CSF produzida pelas células endoteliais e musculares lisas sendo transformado em macrófago o qual expressa receptores Scavenger que reconhecem a LDLox promovendo sua endocitose e formando posteriormente a célula *foam*. A célula *foam* inicia a formação das estrias gordurosas, promove a liberação de citocinas, EROs e metaloproteinases (MMPs), estimulando o recrutamento de outras células imunes para a íntima da artéria, aumentando o processo inflamatório e levando à formação da placa de aterosclerose. Adaptado⁷⁹.

No segundo estágio da formação da placa de aterosclerose as células espumosas e aglomerados de colesterol são circundados por uma capa fibrosa constituída por colágeno, produzido pelas células musculares lisas que migram da camada média da artéria para a camada íntima. Esta migração e proliferação de células musculares lisas é estimulada por citocinas e fatores de crescimento produzidos por macrófagos e linfócitos e aumenta a rigidez da artéria. A capa fibrosa tem como função proteger a placa de aterosclerose. Neste estágio, células dendríticas, mastócitos, linfócitos e células NKT também são encontrados na placa e produzem citocinas e quimiocinas ampliando o processo inflamatório e consequentemente a placa de ateroma (Figura 2)^{2; 70; 71; 73; 74}.

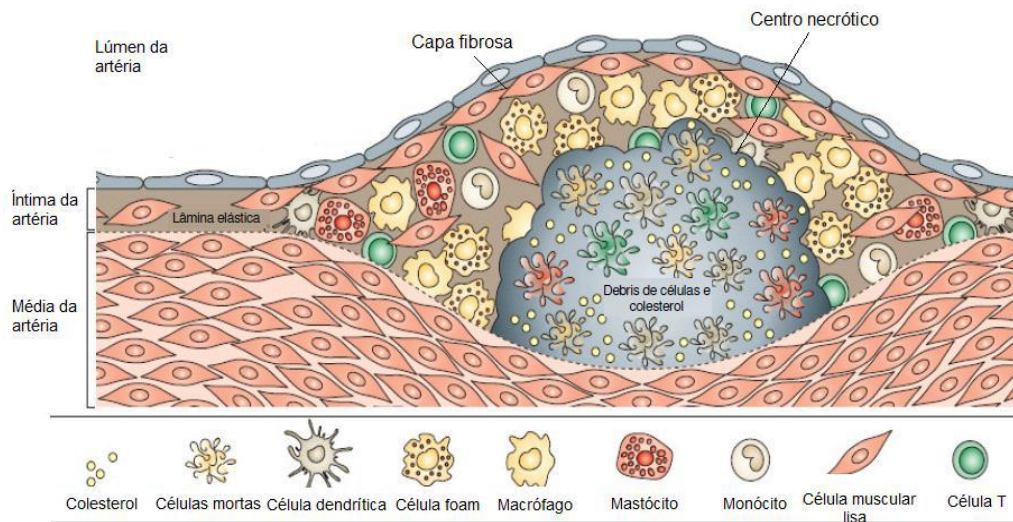


Figura 2: Placa de aterosclerose desenvolvida ou madura. Nesta etapa, diversos componentes imunológicos, colesterol e células mortas são encontrados na composição da placa. No centro da placa há formação de um núcleo necrótico, composto por células mortas e colesterol livre. A capa fibrosa circunda a placa, envolvendo as células constituintes e protegendo o ateroma impedindo seu rompimento. Adaptado⁷⁵.

A manutenção da capa fibrosa depende de um equilíbrio entre a produção e a degradação do colágeno. A liberação de mediadores inflamatórios e metaloproteínas contribui para a desestabilização da placa devido à degradação do colágeno, tornando a placa mais vulnerável à ruptura. A ruptura da placa propicia o desenvolvimento de trombose, estenose, hipertensão arterial, IAM, aneurisma, AVE, isquemia de membros inferiores e até mesmo à insuficiência renal^{70; 75; 76; 80; 81}.

A inflamação está presente em todos os estágios da aterosclerose, envolvendo a iniciação, progressão e desestabilização da placa. A inflamação sistêmica pode acelerar a aterosclerose por vários mecanismos, como por danos ao endotélio mediados pelas citocinas, ativação do sistema imune e da cascata de coagulação^{82; 83}.

Níveis elevados de LDLox na placa e circulantes resultam em redução da elasticidade da artéria, influenciando tanto na estrutura do vaso quanto em sua função, alteração da sinalização de ON endotelial, ativação do endotélio, aumento da expressão de moléculas de adesão e da migração de leucócitos para a íntima da artéria^{60; 72}. A oxidação da LDL gera epítopos antigênicos capazes de induzir uma resposta imunológica. Assim, a detecção de anticorpos anti-LDL oxidada é proposta para avaliar a oxidação *in vivo* da LDL⁷² e serve como indicador indireto de

aterosclerose. Níveis elevados de IgG anti-LDLox estão associados com propriedades aterogênicas⁶⁰.

Estudos recentes têm mostrado que pacientes com DII apresentam aumento da espessura das camadas íntima e média das carótidas evidenciando a presença de aterosclerose precoce, quando comparados com a população em geral^{2; 84}.

2.8 Fatores de risco para doenças cardiovasculares

Fatores de risco tradicionais para DCV incluem idade, hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia, diabetes (DM), tabagismo, ingestão de bebidas alcoólicas, sedentarismo e a dieta^{54; 71; 85; 86}. Dentre os fatores de risco não tradicionais estão a contagem de células brancas e de plaquetas, níveis de hemoglobina, PCR e IL-6^{84; 85; 86}. Apesar de não ser um fator de risco emergente, elevados níveis de óxido nítrico circulantes desempenham importante papel inflamatório e no estresse oxidativo, contribuindo para o desenvolvimento de DCV.

O avanço da idade é um fator que aumenta o risco de DCV, sendo maior em mulheres do que em homens. Indivíduos com doenças como HAS, DM e dislipidemia também apresentam maior risco para o desenvolvimento de DCV. O estilo de vida sedentário está relacionado ao risco aumentado de DCV enquanto a prática de atividade física mostra reduzir o risco de morbimortalidade por DCV⁸⁷. A ingestão de bebida alcoólica também está relacionada com a mortalidade por várias causas inclusive por DCV, incluindo a morte súbita e o AVE⁸⁷. O tabaco em todas as formas (cigarro, charuto, cachimbo e tabaco mastigável) é prejudicial à saúde, aumentando o risco de DCV. Eventos associados ao tabaco incluem redução dos níveis de óxido nítrico e aumento da expressão de moléculas de adesão resultando em disfunção endotelial e contribuindo para ocorrência de AVE e morte. A cessação desta prática reduz o risco das complicações^{87; 88}.

A dieta também é um fator importante para a saúde cardiovascular. Uma alimentação inadequada pode refletir no desenvolvimento de doenças como obesidade, dislipidemia, DM e HAS, fatores de risco para DCV. A relação entre a ingestão de gorduras e DCV tem sido amplamente investigada. A gordura saturada e a gordura trans têm demonstrado aumentar os níveis do LDL colesterol enquanto ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados demonstram reduzi-lo. Por sua vez, o colesterol dietético é um fator determinante para a concentração do colesterol

sérico. Quanto maior a ingestão de colesterol, maior a tendência de aumento dos níveis séricos de colesterol. Baixa ingestão de frutas e vegetais e o consumo de bebida alcoólica também são fatores de risco para DCV^{87; 89}. A ingestão de uma dieta saudável e equilibrada contribui para reduzir o risco de doenças em especial, da DCV.

Fatores de risco não tradicionais tem implicação importante no desenvolvimento da DCV. A contagem total de leucócitos reflete o número de células imunes circulantes e níveis aumentados destas células no sangue sugerem maior risco de complicações cardiovasculares, uma vez que pode haver maior migração dessas células para a íntima da artéria e expansão da resposta inflamatória e da placa de ateroma. Por sua vez, as plaquetas desempenham importante papel imune e inflamatório na resposta a injúrias teciduais. Alterações plaquetárias podem resultar em maior risco de hemorragia e de eventos trombóticos contribuindo assim para complicações cardiovasculares bem como para a patogênese da aterosclerose e outras doenças inflamatórias^{90; 91; 92}.

A IL-6 tem sido implicada no desenvolvimento da aterosclerose, visto que ela participa de eventos associados a este processo. Ela está associada à maior produção de PCR e dislipidemia, disfunção endotelial, aumento do recrutamento e ativação de células inflamatórias, aumento da espessura da íntima e média das artérias e indução de metaloproteinases, refletindo em maior vulnerabilidade da placa e risco para complicações cardiovasculares. A IL-6 também promove aumento da expressão de receptores scavenger CD-36 e SR-A, fundamentais na captação de LDLox, contribuindo para formação de células espumosas e aceleração do desenvolvimento da lesão aterosclerótica^{56; 93; 94}. Outras citocinas inflamatórias como TNF e IL-1 têm sido consideradas fatores de risco não-tradicionais para DCV devido ao seu papel inflamatório e importância no desenvolvimento da lesão aterosclerótica.

A PCR é uma proteína de fase aguda amplamente utilizada como marcador de risco de DCV e de atividade em DII. Sua produção é estimulada pela IL-6 e pelo TNF e ocorre principalmente no fígado^{11; 86}. No entanto, a PCR também pode ser produzida por células extra-hepáticas, especialmente aquelas que compõem a placa de aterosclerose, evidenciando sua importância na avaliação do grau de inflamação e risco de complicações cardiovasculares⁹³. Níveis elevados de PCR estão associados com disfunção endotelial uma vez que ela inibe a produção de ON por eNOS, modifica os mecanismos de constrição e relaxamento vascular, aumenta a

expressão de moléculas de adesão como as selectinas, ICAM e VCAM, além de promover aumento da secreção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias pelo endotélio dos vasos. Ela também estimula a captação de LDL pelos macrófagos e parece estar relacionada com o aumento da migração de células musculares lisas e sua proliferação^{11; 50; 60; 86; 94; 95}. Em um trabalho de Kaptoge e colaboradores (2010)⁹⁶, pacientes com altos níveis de PCR no soro apresentaram maior risco para doenças da artéria coronária comparados a indivíduos controle. Estudos *in vitro* mostram que a PCR é capaz de induzir a secreção de citocinas pró-inflamatórias por monócitos humanos⁶⁰, destacando seu papel no processo inflamatório e risco de aterosclerose. No intestino, as modificações na expressão de moléculas de adesão decorrentes do processo inflamatório intestinal e do aumento dos níveis de PCR podem contribuir para o aumento da migração de leucócitos da circulação para a mucosa gastrointestinal, perpetuando o processo inflamatório crônico em DII.

Estudos *in vitro* mostram que a PCR também é capaz de induzir a secreção de citocinas pró-inflamatórias por monócitos humanos⁶⁰. Em uma meta-análise⁹⁶, pacientes com níveis elevados de PCR no soro apresentaram maior risco para doenças cardiovasculares comparados àqueles com níveis reduzidos. Assim, níveis elevados de PCR em DII também sugerem maior risco para DCV¹¹.

Apesar de não ser um fator de risco emergente para DCV, o óxido nítrico desempenha um importante papel na inflamação e no estresse oxidativo. A produção de ON ocorre a partir da arginina com coprodução de citrulina, por meio das enzimas óxido nítrico sintase (NOS)⁹⁷. Existem duas formas de NOS: a forma constitutiva, presente no sistema nervoso (nNOS) e no endotélio vascular (eNOS) e a forma induzível (iNOS), expressa em monócitos, macrófagos, neutrófilos, células T, células musculares lisas e epiteliais^{36; 97; 98; 99; 100}.

O papel do ON como antiinflamatório ou pró-inflamatório ainda é discutido, mas parece depender da quantidade de ON secretado. A NOS constitutiva produz baixos níveis de ON com ação fisiológica e protetora. Esse ON ativa a ciclase guanilato solúvel e resulta na produção de GMP em diferentes partes do corpo, inclusive na mucosa gastrointestinal, resultando em efeitos como o relaxamento do músculo da vasculatura e neurotransmissão. Por sua vez, a forma induzível produz quantidades maiores de ON por um período prolongado, em resposta a citocinas, microrganismos e outros estímulos, exercendo efeitos sistêmicos, pró-inflamatórios e de injúria⁹⁷. O mecanismo pelo qual o ON causa danos é desconhecido mas é

sugerido que o ON produzido pela iNOS interage com radicais de oxigênio como o superóxido, produzindo peroxinitrito, composto citotóxico que pode desencadear a peroxidação lipídica dos fosfolípidios da membrana celular e aumentar a permeabilidade endotelial. Além disso, o peroxinitrito pode reagir com a tirosina formando a nitrotirosina, em proteínas celulares^{36; 97; 99}, causando danos celulares.

No geral, o óxido nítrico pode apresentar papel cardioprotetor ou aterogênico, conforme sua via de produção e concentração. Em geral, o aumento do ON produzido via iNOS inibe os mecanismos cardioprotetores, estabelecendo um papel aterogênico para o ON e aumentando a progressão da aterosclerose e da DCV. Este aumento do ON também está relacionado com a ocorrência de trombose, vasoespasma e até mesmo com a insuficiência cardíaca crônica^{98; 100; 101}. O aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias induz a expressão da iNOS resultando em aumento da produção de ON circulante, refletindo em maior risco cardiovascular^{36; 67}.

A redução das concentrações de ON pela via constitutiva e o aumento daquele produzido via iNOS, inibe o papel cardioprotetor, favorecendo um ambiente aterogênico, contribuindo para a progressão da aterosclerose e da DCV¹⁰⁰.

O tecido adiposo também é uma das principais fontes de produção de ON. O aumento do tecido adiposo resulta em aumento da secreção de ON, favorecendo o estabelecimento de DCV. Agentes antioxidantes como vitamina C e a vitamina E parecem desempenhar importante papel na redução dos danos causados pelo ON⁶⁷.

Indivíduos com RCU apresentam maior expressão e atividade da iNOS quando comparados a indivíduos com DC ou indivíduos saudáveis, bem como maiores níveis de ON na mucosa intestinal⁹⁷. Segundo Dijkstra e colaboradores¹⁰², a expressão de iNOS em monócitos circulantes de pacientes com DII é maior que nas células de indivíduos saudáveis.

2.9 Avaliação do risco de doenças cardiovasculares pelos escores de risco de Framingham

O escore de risco de Framingham foi desenvolvido após a realização de um longo estudo denominado “Estudo de Framingham” conduzido pelo NHI (*National Heart Institute*) hoje conhecido como NHLBI (*National Heart, Lung and Blood Institute*). Esse estudo iniciou-se em 1948 na cidade de Framingham, Massachusetts

(EUA) e teve como objetivo identificar os fatores e características comuns que contribuem para o desenvolvimento de DCV. O estudo envolveu três gerações monitoradas minuciosamente no decorrer do tempo e submetidas a exames físicos, laboratoriais e entrevistas sobre sua história atual. O estudo permitiu a identificação dos principais fatores de risco para DCV sendo eles: HAS, altos níveis de colesterol, tabagismo, obesidade, diabetes e sedentarismo. O estudo reuniu ainda importantes informações sobre outros fatores associados como triglicérides, níveis de HDL, idade, sexo e condições psicológicas.

O escore de risco de Framingham permite avaliar o risco para desenvolvimento de DCV em um período de 10 anos e 30 anos. Ele pode ser realizado em um calculador *on line* (<http://www.framinghamheartstudy.org/risk-functions/cardiovascular-disease/index.php>) e considera os seguintes parâmetros: sexo, idade, pressão arterial sistólica, tratamento da hipertensão arterial, tabagismo, presença de diabetes e níveis de colesterol total e HDL ou índice de massa corporal (IMC).

2.10 Risco de Doenças Cardiovasculares em pacientes com Doenças Inflamatórias Intestinais

Até o ano 2007, trabalhos que avaliavam a relação entre DII e DCV afirmavam não haver nenhuma ligação entre as doenças e que pacientes com DII não apresentam maior risco de morte por DCV comparados à população geral¹⁰³. Kristensen e colaboradores³⁰ relatavam que pacientes com DII, em remissão, não apresentam maior risco para infarto agudo do miocárdio e morte cardiovascular comparados a controles, sendo este risco evidente somente durante a atividade da doença. Por sua vez, Maharshak e colaboradores¹⁰⁴ mostraram que não há modificações na espessura da íntima e da média das artérias de pacientes com DII enquanto Dorn e Sandler¹⁰³ relataram que não há associação entre mortalidade por DCV e DII.

No entanto, a partir de 2011, diversos trabalhos têm sido publicados afirmando existir uma relação entre DCV e DII, cujo mecanismo ainda não foi esclarecido. Recentes publicações sugerem que pacientes com DII apresentam maior risco para desenvolvimento de aterosclerose precoce incluindo modificações

na rigidez e espessura das artérias e maior risco de eventos tromboembólicos, comparados à indivíduos saudáveis^{1; 2; 11; 74; 83; 84; 105}.

Papa e colaboradores¹⁰⁵ relatam em seu trabalho que pacientes com DII têm maior risco de complicações decorrentes de trombose. Nesse estudo eles também avaliaram a espessura das camadas íntima e média da artéria carótida. O estudo foi conduzido em 32 pacientes com diagnóstico de DII e 20 controles. Os dados obtidos nesse estudo também evidenciaram um aumento da espessura das camadas íntima e média da artéria carótida nos pacientes com DII, com associação positiva aos níveis de homocisteína séricos. Os autores também não definiram o estágio da doença, tratamento medicamentos e não optaram por um grupo controle saudável, devidamente pareado.

Yarur e colaboradores⁸⁴ em um estudo de coorte longitudinal, onde foram incluídos 356 pacientes com DII e 712 controles pareados, os autores avaliaram o papel de fatores de risco tradicionais e não-tradicionais no desenvolvimento de DCV em pacientes com DII. Nesse trabalho, os autores observaram significativa redução na prevalência de HAS, DM, obesidade e dislipidemia em pacientes com DII comparados a controles pareados e concomitante aumento de fatores de risco não-tradicionais como a contagem total de leucócitos em pacientes com DII. Isso sugere que os fatores de risco tradicionais para DCV não parecem estar relacionados ao desenvolvimento desta doença em pacientes com DII, no entanto, fatores de risco não-tradicionais parecem desempenhar um importante papel no desenvolvimento de DCV em DII, sugerindo uma possível participação do processo inflamatório. Embora seja um estudo com uma grande população incluindo um grupo controle pareado, não foi considerada a DC e a RCU separadamente assim como o tratamento medicamentoso não foi avaliado, nem o estágio da doença.

Aloi e colaboradores¹, estudaram o risco de disfunção endotelial e aumento da espessura da camada íntima da artéria em pacientes pediátricos com DII. Foram avaliados 25 pacientes com RCU e 27 pacientes com DC e no grupo controle foram incluídos 31 participantes. Os autores observaram o aumento da espessura das carótidas das artérias e redução da vasodilatação dependente do endotélio no grupo RCU. Embora seja um estudo inovador em crianças, distinguindo as doenças, não houve distinção quanto a fase da doença e os medicamentos em uso e não houve o pareamento entre os grupos em estudo.

Kristensen e colaboradores¹⁰⁶ em uma revisão, concluíram que pacientes com DII têm maior risco de tromboembolismo venoso, especialmente durante a fase de atividade da doença, sugerindo que uma terapia anti-inflamatória possa contribuir para redução desse agravo e de DCV.

Theocharidou e colaboradores⁷⁴ relataram que a inflamação é um preditor para DCV e a presença de DII pode estar associada ao surgimento de DCV. Nesse estudo, eles avaliaram a espessura das camadas íntima e média da artéria em pacientes com DII sendo 26 com diagnóstico de DC e 16 com diagnóstico de RCU e concluíram que pacientes com DII têm aumento da espessura das camadas íntima e média da artéria carótida comparados ao grupo controle saudável. Esses dados sugerem uma associação entre inflamação e alterações precoces na parede da artéria, disfunção e risco de DCV em DII. Nesse estudo, os autores se limitam a selecionar pacientes com diagnóstico de DII sem diferenciar o estágio da doença e tratamento medicamentoso. Também não foi realizado nenhum tipo de pareamento entre grupo RCU e grupo controle.

Principi e colaboradores¹⁰⁷ estudaram a função endotelial e o risco cardiovascular em DII em atividade por meio da vasodilatação dependente ou independente (via nitroglicerina) do endotélio e a espessura das camadas íntima e média das carótidas, incluindo 25 pacientes com DC e 23 com RCU, na fase de atividade da doença, comparados ao grupo controle saudável. Os resultados evidenciaram que a vasodilatação mediada pelo fluxo foi menor nos pacientes com DII sugerindo disfunção endotelial e aterosclerose precoce, condição que contribui para a progressão da aterosclerose. Nesse estudo eles não encontraram alterações quanto a espessura das camadas íntima e média. Esse é um dos poucos estudos já publicados em que os autores definem a fase da doença e fazem a opção por um grupo controle saudável. No entanto, o tratamento medicamentoso não foi considerado e nenhum tipo de pareamento foi feito.

Akdogan e colaboradores¹⁰⁸ estudaram a velocidade da onda de pulso e da espessura das camadas íntima e média da carótida em pacientes com RCU. Participaram desse estudo 37 indivíduos com RCU e 30 controles. Os dados mostram que pacientes com RCU têm aumento da velocidade da onda de pulso e da espessura da íntima e média da artéria, evidenciando aterosclerose precoce nesse grupo e relatando a necessidade de investigar possíveis mecanismos associados a esse processo. Embora avaliassem somente pacientes com RCU, a fase da doença

e o tratamento medicamentoso não foram considerados ao selecionar o grupo RCU e o grupo controle foi definido com ausência de DII e não foi pareado.

Singh e colaboradores¹⁰⁹ em uma revisão sistemática, encontraram que pacientes com DII têm maior risco para o desenvolvimento de AVE e doença arterial isquêmica comparados à população sem DII e esse risco é maior em mulheres, sugerindo que a presença da DII resulta em aumento de DCV, especialmente no sexo feminino.

Zanoli e colaboradores¹¹⁰ em trabalho recentemente publicado, estudaram a relação entre rigidez arterial, inflamação e uso de drogas imunomodulatórias em pacientes com DII. Esse trabalho foi dividido em duas etapas: estudo 1, envolvendo 74 pacientes com DII e 80 controles pareados e estudo 2 envolvendo 32 pacientes com DII e 30 controles pareados. No estudo 1, os autores evidenciaram um aumento da rigidez das artérias, fator que contribui para a disfunção endotelial e desenvolvimento de DCV. No estudo 2, os autores verificaram o papel do tratamento medicamentoso sendo que 14 pacientes usavam aminossalicilatos, 11 pacientes usavam glicocorticoides e azatioprina enquanto 7 pacientes eram tratados com agente biológico anti-TNF α , evidenciando que somente os pacientes em uso dos aminossalicilatos tiveram aumento da rigidez da artéria. Assim, observou-se que o aumento da rigidez da artéria está relacionado à inflamação e as drogas imunomodulatórias são capazes de reduzir essa rigidez, sugerindo menor risco de DCV nos pacientes tratados com essas drogas. Esse é o primeiro trabalho que considerou o tratamento medicamentoso em DII e a relação com DCV. No entanto, ele não distingue os pacientes em atividade daqueles em remissão, considerando que drogas como os glicocorticoides são usados para indução da remissão da doença, quando ocorrem quadros de agudização, enquanto a azatioprina e os agentes biológicos podem ser empregados em ambas as fases da doença, em esquemas e doses específicos.

As recentes publicações sugerindo uma relação entre DCV e DII, a ausência de estudos diferenciando pacientes com RCU e DC, a fase da doença (atividade ou remissão) e o tratamento medicamentoso, evidenciam a necessidade de novos estudos com o intuito de esclarecer possíveis mecanismos associados entre DII e DCV. Estudar separadamente a RCU e a DC também é necessário para avaliar o risco de DCV em cada doença bem como os mecanismos envolvidos.

3 JUSTIFICATIVA

Diversos trabalhos tem mostrado que pacientes com doenças inflamatórias crônicas como artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico apresentam maior incidência de DCV, devido à inflamação crônica e sistêmica. Recentes estudos sugerem que pacientes com DII também apresentam maior risco para desenvolvimento de aterosclerose precoce, comparados à população saudável. No entanto, grande parte dos estudos publicados até o momento abrange a DII como um todo, não especificando o risco de DCV em RCU ou em DC, assim como não diferenciam o estágio da doença (remissão ou atividade) e o tratamento medicamentoso. Outro quesito importante envolve a seleção do grupo controle, que pode não ser devidamente pareado com o grupo doente em questão e muitas vezes se limita a ser composto por indivíduos sem o diagnóstico de DII, não observando por exemplo a presença de fatores de risco para DCV, evidenciando ser apenas um grupo controle ao invés de um grupo controle saudável.

Assim, torna-se necessário avaliar o risco de DCV em indivíduos com diagnóstico de RCU, em um determinado estágio da doença e considerando o tratamento medicamentoso, comparados a um grupo controle saudável, devidamente pareado bem como o papel do tratamento medicamentoso sobre os marcadores de inflamação e sua possível relação com as DCV.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivos gerais

Os objetivos do presente estudo foram: (1) avaliar o risco de desenvolvimento de DCV em mulheres com RCU em remissão clínica, tratadas com aminossalicilatos (ASA) ou com a terapia combinada de azatioprina + aminossalicilatos (AZA+ASA) e comparar ao seu respectivo grupo controle saudável pareado por idade; (2) avaliar o efeito do tratamento medicamentoso para a manutenção da remissão clínica da RCU sobre o risco de DCV.

4.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho visam avaliar, em todos os grupos e comparar entre eles:

- A história clínica e história familiar de primeiro grau;
- Os hábitos de vida incluindo tabagismo, etilismo e atividade física;
- O estado nutricional e a composição corporal, incluindo parâmetros como peso, estatura, IMC, circunferência da cintura, percentual de gordura corporal e massa livre de gordura;
- A ingestão dietética;
- Os níveis pressóricos;
- O perfil lipídico e a glicemia;
- A concentração de proteínas totais e suas frações albumina e globulina;
- Os níveis de hemoglobina;
- A velocidade de hemossedimentação;
- Os níveis séricos das proteínas de fase aguda PCR e fibrinogênio;
- A contagem total e diferencial de leucócitos circulantes;
- Os níveis séricos das citocinas TNF, IL-6, IL-1 β , IL-10, TGF- β e da quimiocina MCP-1;
- Os níveis séricos de óxido nítrico (nitrito);
- Os níveis de anticorpos IgG anti-LDL oxidada;
- Escore de risco de Framingham.

5. PACIENTES E MÉTODOS

5.1 Delineamento do estudo e seleção de participantes

Participaram desse estudo 21 mulheres com diagnóstico de RCU confirmado por aspectos clínicos, endoscópicos, laboratoriais e histológicos, em remissão clínica da doença, segundo os critérios de Truelove e Witts^{10; 29} e sem fatores de risco ou diagnóstico de DCV (Figura 3). Trata-se de um estudo cuja amostra foi determinada por conveniência. Destas, 12 faziam uso de aminossalicilatos e 9 faziam uso de azatioprina associada (8) ou não (1) a agentes aminossalicilatos. As pacientes foram selecionadas no ambulatório de referência para Doenças Inflamatórias Intestinais do Instituto Alfa de Gastroenterologia (IAG) do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). No grupo controle foram incluídas mulheres saudáveis, pareadas por idade. A faixa etária considerada neste estudo foi de 20 a 59 anos. Os critérios de inclusão para este estudo foram: idade entre 20 e 59 anos, ausência de fatores de risco para DCV como HAS (PA>140/90 mmHg), dislipidemia (colesterol total >200 mg/dL; LDL > 130 mg/dL e triglicérides >150 mg/dL), DM (glicemia >100 mg/dL) ou uso de medicamentos para estas doenças; ausência de distúrbios hormonais e para mulheres com RCU incluíram ainda o diagnóstico da doença confirmado por critérios clínicos, endoscópicos, histológicos e laboratoriais, estar em fase de remissão clínica da doença e fazer uso de aminossalicilatos (mesalazina ou sulfassalazina) e/ou azatioprina ou seu metabólito ativo 6-MP. Os critérios de exclusão foram idade inferior a 20 anos ou ≥60 anos, uso de glicocorticoides ou agentes biológicos, presença de fatores de risco tradicionais para doença cardiovascular ou diagnóstico de doença cardiovascular. Homens com RCU não participaram do presente estudo por não atenderem aos critérios de inclusão (Figura 3). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG, protocolo 00342.0.203.000-11 (Anexo A) e pelo Departamento de Ensino, Pesquisa e Extensão (DEPE) do Hospital das Clínicas da UFMG (Anexo B). Todas as participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndices A e B).

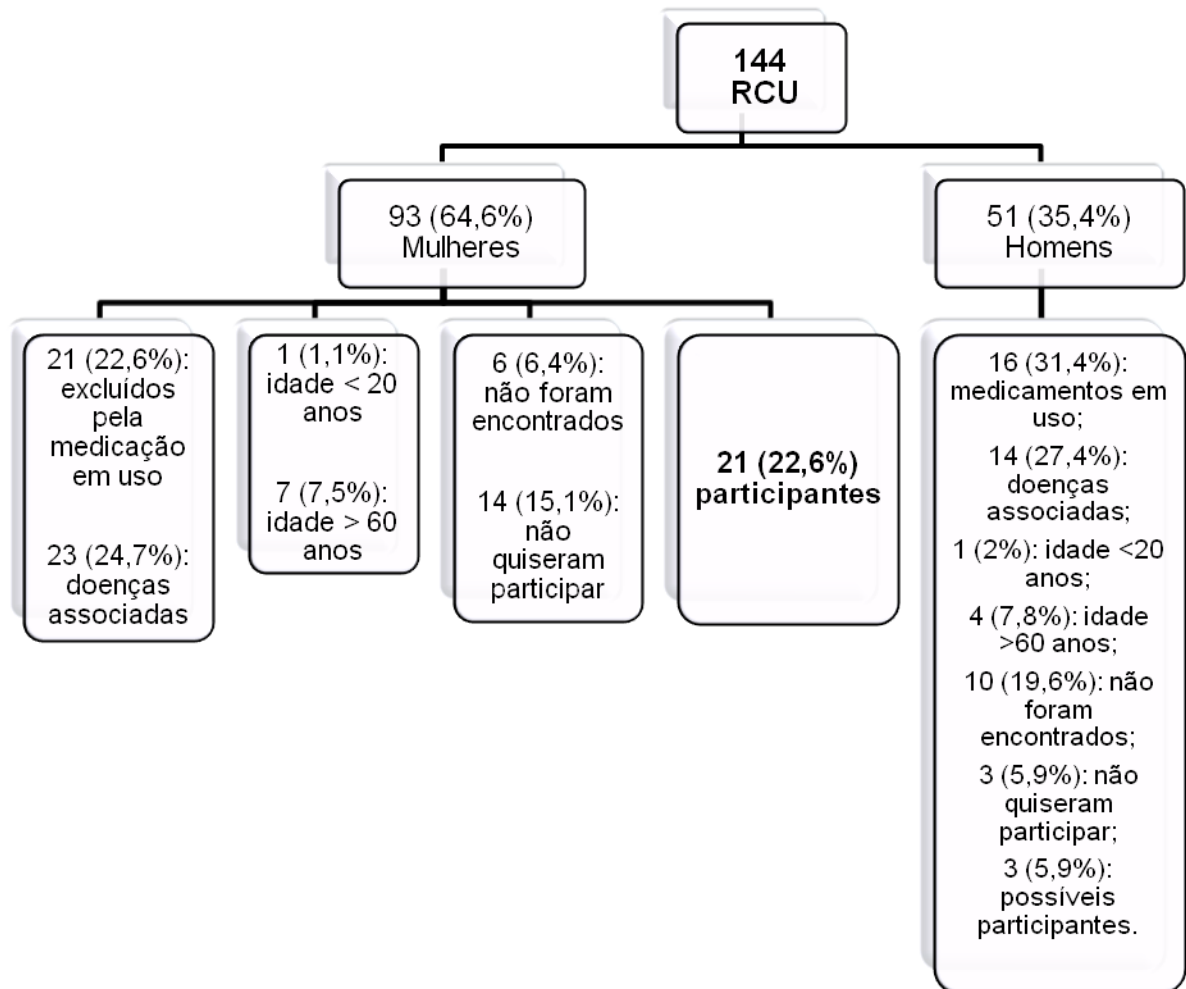


Figura 3: Esquema ilustrativo da seleção de pacientes com RCU para participação do estudo. Seleção de pacientes com RCU atendidas no Ambulatório de Referência para Doenças Inflamatórias Intestinais do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG, para participação deste estudo. O Ambulatório atende cerca de 144 pacientes com RCU. Dentre os pacientes com RCU, 93 (64,6%) são mulheres enquanto 51 (35,4%) são homens. Os homens foram excluídos deste estudo visto que apenas 3 estavam aptos para participar do mesmo. No grupo das mulheres, 21 (22,6%) foram excluídas devido à medicação em uso para tratamento da RCU, 23 (24,7%) apresentavam fatores de risco para DCV ou DCV, 8 (8,6%) foram excluídas devido à idade, 6 (6,4%) não foram encontradas no dia da consulta (ausência à consulta, abandono de tratamento, óbito) enquanto 14 (15,1%) não quiseram participar, restando assim 21 (22,6%) mulheres aptas a participar.

5.2 Entrevista e coleta de dados

A seleção das participantes e a coleta de dados ocorreu no período de outubro de 2011 até abril de 2014. Após analisar os prontuários das pacientes com RCU em seu dia de atendimento ambulatorial, aquelas que atendiam aos critérios de inclusão foram convidadas a participar do estudo. Para selecionar o grupo controle saudável, cartazes com informações sobre o projeto de pesquisa foram espalhados

no *Campus* UFMG e as interessadas procuraram a responsável pela pesquisa, a qual promoveu a seleção das participantes respeitando os critérios de inclusão e o pareamento por idade.

Todas as participantes deste estudo foram submetidas a uma entrevista realizada por uma única avaliadora, para obtenção de dados pessoais, história clínica e familiar de primeiro grau, hábitos de vida, uso de medicamentos, avaliação antropométrica (mensuração de peso, estatura, IMC, circunferência da cintura, percentual de gordura corporal e percentual de massa livre de gordura) e mensuração da pressão arterial (Apêndice C). A ingestão dietética foi analisada pelo registro alimentar de três dias, preenchido pela participante (Apêndice D).

5.2.1 Dados pessoais

Nesta categoria foram incluídos nome completo, raça, sexo, data de nascimento, idade, naturalidade, endereço completo, telefone para contato, e-mail, estado civil e escolaridade. O agendamento da coleta de sangue foi realizado via telefone ou e-mail e os resultados dos testes bioquímicos e da análise dietética com as devidas orientações nutricionais, quando necessárias, foram encaminhados à participante via Correios ou endereço eletrônico.

5.2.2 História clínica e familiar

Foram obtidas informações sobre a presença de doenças, internações, cirurgias e gestações. As participantes foram questionadas quanto ao uso de medicamentos e/ou suplementos, sua frequência e dose. As mulheres com RCU relataram o tempo de diagnóstico da doença, além da presença de sintomas gastrintestinais e hábito intestinal. A história familiar buscou identificar a presença de qualquer doença entre pai, mãe e irmãos de cada participante.

5.2.3 Hábitos de vida

As participantes foram questionadas quanto ao tabagismo e o consumo de bebida alcoólica. A prática de atividade física também foi verificada entre as participantes.

5.2.4 Avaliação antropométrica

A avaliação antropométrica realizada pela mesma avaliadora, qualificada para este procedimento, incluiu: aferição do peso corporal e da estatura, cálculo do IMC, mensuração da circunferência da cintura, percentual de gordura corporal e massa livre de gordura. A pressão arterial das participantes também foi aferida neste momento.

O peso corporal foi aferido em balança digital com a participante em posição ereta, com os pés juntos e corretamente posicionados sobre a plataforma e braços estendidos ao longo do corpo. Foi solicitado à participante que ela retirasse calçados e acessórios. A estatura foi aferida com o auxílio de um estadiômetro vertical com precisão de 0,1 cm, acoplado à balança ou com o auxílio de uma fita métrica, fixada à parede isenta de rodapé. Para mensuração, a participante foi mantida em posição ereta, com o olhar fixo no plano horizontal, braços estendidos ao longo do corpo, calcanhares juntos, peso distribuído igualmente entre os pés e ausência de calçados e de acessórios na cabeça. O IMC foi calculado pela fórmula: $IMC=p/a^2$, onde **p** corresponde ao peso em kg e **a** corresponde à estatura em metros ao quadrado. O IMC foi classificado conforme preconizado pela OMS (2000) (Tabela 2):

Tabela 2: Classificação do estado nutricional conforme proposto pela Organização Mundial de Saúde

Estado nutricional	Ponto de corte (kg/m²)
Baixo peso	<18,5
Eutrófico	18,5 – 24,9
Sobrepeso	25,0 – 29,9
Obesidade I	30,0 – 34,9
Obesidade II	35,0 – 39,9
Obesidade III	>40,0

Classificação do estado nutricional proposta pela OMS (2000)

Para mensuração da circunferência da cintura foi utilizada uma fita métrica milimetrada, não flexível. A aferição foi realizada com a participante em posição ereta, entre a região inferior da caixa torácica e a região superior da cicatriz. O ponto de corte é de até 88 cm para mulheres.

A pressão arterial foi aferida após a participante permanecer dez minutos em repouso, em aparelho digital. Foram realizadas quatro aferições, sendo que a primeira foi descartada e a média das outras três foi calculada.

A composição corporal foi avaliada por bioimpedância elétrica tetrapolar, acoplada à balança digital. Para avaliação foi necessário retirar calçados e acessórios em geral, especialmente os metálicos. O equipamento foi ajustado conforme o sexo, idade, estatura e nível de atividade física da participante. Para avaliação, a participante foi mantida em posição ereta, com os pés sobre os eletrodos e os braços esticados a frente do corpo, firmando os eletrodos de mão e formando um ângulo de 90° com o corpo. Em seguida, à leitura foi iniciada e os valores referentes ao percentual de gordura corporal e massa livre de gordura foram registrados.

5.2.5 Avaliação dietética

A avaliação dietética foi realizada por meio do registro alimentar de três dias preenchido em casa pela participante. Foi solicitado um registro detalhado de todas as refeições realizadas em um dia, incluindo horários, alimentos, local da refeição e a quantidade consumida, dada em medidas caseiras¹¹¹. O registro foi preenchido por três dias, sendo dois dias de semana e um dia de final de semana. Em seguida, os registros foram analisados no *Software DietWin Profissional, 2011* sendo quantificada a ingestão média de calorias, carboidratos, proteínas, lipídios, colesterol, gordura saturada, fibras, cálcio, ferro, sódio, potássio e vitaminas A e C.

5.3 Coleta de sangue, dosagens e os escores de risco de Framingham

Após jejum de 12h, 20 mL de sangue periférico foram coletados por sistema a vácuo, utilizando tubos vacuttainer. A coleta foi realizada no Instituto Jenny Faria do IAG/HC/UFMG ou no Laboratório de Aterosclerose e Bioquímica Nutricional (LABiN) do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG por profissional treinada na realização de punção venosa.

Após obtenção do sangue, os tubos foram acondicionados no gelo e transportados ao LABiN/ICB/UFMG para processamento. O material foi centrifugado

em centrífuga de mesa (Fanem Excelsa Baby, mod. 205N), a 3000 RPM por 10 minutos para obtenção do soro ou plasma.

Foram determinadas as concentrações de: colesterol total e frações, triglicérides, glicemia, proteínas totais, albumina, globulina, hemoglobina, proteína C reativa (PCR), velocidade de hemossedimentação (VHS), fibrinogênio, contagem total e diferencial de leucócitos, níveis de óxido nítrico circulantes (nitrito), níveis das citocinas IL-6, TNF, IL-1 β e IL-10, TGF- β e da quimiocina MCP-1 circulantes, bem como a mensuração de anticorpos IgG anti-LDLox. Os escores de risco de Framingham foram determinados por meio de um calculador *on line* (<http://www.framinghamheartstudy.org/risk-functions/cardiovascular-disease/index.php>) para avaliar o risco de doenças cardiovasculares na população em estudo, num período de 10 anos ou 30 anos, considerando o perfil lipídico ou o IMC, após obtenção desses parâmetros.

5.3.1 Avaliação do perfil lipídico

5.3.1.1 Dosagem de triglicérides no soro

A concentração de triglicérides no soro foi realizada por método enzimático colorimétrico (FOSSATI, PRENCIPE, 1982), utilizando kit comercial Labtest®, Brasil. Neste método, os triglicérides são hidrolisados pela lipase lipoproteica liberando glicerol livre. Este é fosforilado pela glicerolquinase gerando glicerol-3-fosfato, que é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio, na presença da glicerolfosfato oxidase. A peroxidase age sobre o peróxido de hidrogênio que em presença de um reagente fenólico 4-clorofenol e 4-aminoantipirina, produz um composto róseo avermelhado, com absorção máxima a 505 nm.

Para avaliar as concentrações de triglicérides no soro dos pacientes, 10 μ L de cada amostra foram diluídos em 240 μ L de água deionizada (1:25). Em seguida, 100 μ L da diluição foram plaqueados, em duplicata, em microplacas de 96 poços. 100 μ L do reagente de cor foram adicionados a cada amostra e a placa foi incubada em estufa a 37°C por 15 minutos com posterior leitura em espectrofotômetro a 492 nm (Modelar Devices, modelo Spectra Max Plus).

Para determinação da curva padrão, 40 μ L do padrão de triglicérides foram diluídos em 960 μ L de água deionizada. A partir daí, procedeu-se a diluição seriada

em mais quatro vezes. 100 µL de cada diluição foram plaqueados, em duplicata e foram incubados com 100 µL de reagente de cor em estufa a 37°C por 15 minutos. Após a reação, a absorbância foi lida a 492 nm, em leitor de microplaca (Modelar Devices, modelo Spectra Max Plus).

5.3.1.2 Dosagem de colesterol total no soro

A concentração de colesterol total foi determinada pelo método da colesterol oxidase proposto por Allain et al (1974), utilizando kit comercial Labtest®, Brasil. Nesta técnica, ésteres de colesterol são hidrolisados pela colesterol esterase, formando glicerol livre. Este, na presença da colesterol oxidase e de oxigênio, gera peróxido de hidrogênio, o qual sofre ação da peroxidase e em presença de fenol e 4-aminoantipirina, produz um composto de coloração róseo-avermelhado que possui absorbância máxima de 500 nm.

Para avaliar a concentração de colesterol no soro das participantes, 5 µL de cada amostra foram diluídos em 245 µL de água deionizada (1:50). Em seguida, 100 µL da diluição foram plaqueados, em duplicata, em microplacas de 96 poços. 100 µL do reagente de cor foram adicionados a cada amostra e a placa foi incubada em estufa a 37°C por 15 minutos com posterior leitura em espectrofotômetro a 492 nm (Modelar Devices, modelo Spectra Max Plus).

Para determinação da curva padrão, 40µL do padrão de colesterol foram diluídos em 960 µL de água deionizada. A partir daí, procedeu-se a diluição seriada em mais quatro vezes. 100 µL de cada diluição foram plaqueados, em duplicata e foram incubados com 100 µL de reagente de cor em estufa a 37°C por 15 minutos. Após a reação, a absorbância foi lida a 492 nm, em leitor de microplaca (Modelar Devices, modelo Spectra Max Plus).

5.3.1.3 Dosagem de HDL colesterol no soro

A concentração de HDL-colesterol (HDLc) foi determinada por meio de kit colorimétrico Labtest®, Brasil.

O método consiste na precipitação das lipoproteínas VLDL e LDL pelo ácido fosfotúngstico e cloreto de magnésio. 20 µL de reagente precipitante foram adicionados a 20 µL de soro e agitados vigorosamente com a pipeta durante 30

segundos. As amostras foram centrifugadas a 12000 RPM, por 4 minutos, para precipitação das demais frações de colesterol. Em seguida, 10 µL do sobrenadante, onde está a fração HDL, foram plaqueados, em triplicata, em microplacas de 96 poços. 200 µL de reagente de colesterol total (Labtest®, Brasil) foram adicionados a cada amostra, com posterior incubação em estufa a 37°C por 15 minutos e leitura em espectrofotometro a 492 nm.

Para a determinação do padrão, 10 µL da amostra foram substituídos por 10 µL de padrão de HDLc. O cálculo das concentrações de HDLc, em mg/dL, foi feita a determinação do fator de calibração (F) por meio da seguinte equação:

$$F = 40/\text{média da absorbância do padrão, sendo F o fator de calibração;}$$

$$\text{HDLc (mg/dL)} = \text{absorbância da amostra} \times F$$

5.3.1.4 Determinação das concentrações de LDL e VLDL colesterol no soro

A concentração de colesterol LDL (LDLc) no soro das participantes foi calculado pela equação de Friedewald et al (1972), onde VLDLc corresponde a triglicérides/5.

$$\text{LDLc (mg/dL)} = \text{colesterol total} - \text{HDLc} - \text{VLDLc}$$

5.3.2 Dosagem da glicemia de jejum

A glicemia plasmática foi determinada por kit enzimático Labtest®, Brasil. A glicose é oxidada a ácido glucônico via glicose oxidase, liberando peróxido de hidrogênio. Este sofre ação da peroxidase, em presença de fenol e 4-aminoantipirina, produzindo um composto róseo-avermelhado com absorção a 520 nm.

Nesta análise, 2 µL de plasma de cada amostra foram plaqueados, em triplicata, em microplacas de 96 poços. 200 µL do reagente de glicose foram

adicionados a cada amostra, com posterior incubação em estufa a 37°C por 15 minutos e leitura em espectrofotometro a 492 nm.

Para a determinação do padrão, 2 µL de amostra foram substituídos por 2 µL de padrão. O cálculo da concentração de glicose em mg/dL foi realizado conforme a fórmula:

$$\text{Concentração de glicose: (média da absorbância da amostra/média da absorbância do padrão) x 100}$$

5.3.3 Dosagem de hemoglobina

A determinação da concentração de hemoglobina no sangue foi realizada utilizando kit Labtest®, Brasil. O teste se baseia na oxidação do ferro (II) do grupo heme da hemoglobina, oxihemoglobina e carboxihemoglobina ao estado férrico pelo ferricianeto formando a hemiglobina, que se combina com o cianeto ionizado para produzir cianeto de hemiglobina, o qual pode ser medido em 540 nm.

Para realização do teste, 4 µL de sangue citratado foram pipetados em tubo de ensaio de vidro e 1 mL do reagente de cor de hemoglobina foi adicionado a cada tubo. Em seguida, 200 µL da amostra foram plaqueados, em triplicata, em microplaca de 96 poços, com leitura em espectrofotômetro a 540 nm.

Para a determinação do padrão, 4 µL de amostra foram substituídos por 4 µL de padrão. O cálculo da concentração de hemoglobina em g/dL foi realizado pela seguinte fórmula:

$$\text{Hemoglobina (g/dL) = (absorbância da amostra / absorbância do padrão) x 10}$$

5.3.4 Avaliação das proteínas circulantes

5.3.4.1 Dosagem de proteínas totais

A determinação das proteínas totais no soro foi realizada por meio de kit Labtest®, Brasil. A reação se baseia na ligação dos íons cobre (Cu²⁺), presentes no

reagente de Biureto, às ligações peptídicas das proteínas séricas, gerando uma coloração púrpura, com absorvância máxima em 545 nm.

Para realização do teste, 5 µL do soro de cada paciente foram plaqueados, em triplicata, em microplaca de 96 poços. 250 µL do reagente de Biureto foram acrescentados às amostras com posterior incubação em estufa a 37°C por 10 minutos e leitura em espectrofotometro a 545 nm.

Para determinação do padrão, 5 µL de amostra foram substituídos por 5 µL de padrão. O cálculo da concentração de proteínas totais em g/dL foi realizado conforme a seguinte fórmula:

$$\text{Proteínas totais (g/dL)} = (\text{absorbância das amostras} / \text{absorbância do padrão}) \times 4$$

5.3.4.2 Dosagem de albumina

A concentração de albumina no soro foi determinada por meio de kit Labtest®, Brasil. A albumina é capaz de se ligar a uma variedade de ânions orgânicos e moléculas complexas, como o verde de bromocresol, gerando uma coloração verde, com absorvância entre 600 nm e 640 nm.

Para realização do teste, 2,5 µL do soro de cada paciente foram plaqueados, em triplicata, em microplaca de 96 poços. 250 µL do reagente de cor Verde de Bromocresol foram acrescentados a cada amostra com leitura imediata em espectrofotômetro a 630 nm.

Para a determinação do padrão 2,5 µL de amostra foram substituídos por 2,5 µL de padrão. O cálculo da concentração de albumina em g/dL foi realizado pela seguinte fórmula:

$$\text{Albumina (g/dL)} = (\text{absorbância do teste} / \text{absorbância do padrão}) \times 3,8$$

5.3.4.3 Determinação da globulina

A concentração de globulinas é dada pela diferença entre proteínas totais e albumina, conforme a fórmula abaixo:

$$\text{Globulina (g/dL)} = \text{Proteínas Totais (g/dL)} - \text{Albumina (g/dL)}$$

5.3.5 Avaliação das proteínas de fase aguda

5.3.5.1 Determinação da PCR sérica

A determinação da concentração de PCR circulante foi realizada utilizando kit Bioclin®, Brasil.

O teste de imunoturbidimetria permite a determinação quantitativa da PCR no soro humano por reação antígeno-anticorpo. Na presença de um polímero ativador, que aumenta a sensibilidade e a velocidade do ensaio, a PCR forma um complexo insolúvel com o anticorpo específico, gerando turbidez, cuja intensidade aumenta proporcionalmente à concentração de PCR na amostra.

Neste teste, 5 µL do soro de cada paciente foram plaqueados, em triplicata, em microplaca de 96 poços. 100 µL do reagente de trabalho (tampão + anti-soro) foram adicionados a cada amostra com posterior incubação em estufa a 37°C por 2 minutos e leitura em espectrofotômetro a 505 nm.

Para determinação da curva padrão, 50 µL do calibrador foram diluídos em 50 µL de salina 0,75%. A partir daí, procedeu-se a diluição seriada em mais quatro vezes. 5 µL de cada diluição foram plaqueados, em triplicata e incubados com 100 µL do reagente de trabalho em estufa a 37°C por 2 minutos com leitura a 505 nm.

5.3.5.2 Determinação do fibrinogênio sérico

A concentração de fibrinogênio no plasma foi determinada por meio de kit Labtest®, Brasil. O teste de tempo de trombina de Clauss se baseia na adição de uma quantidade padronizada de trombina à amostra de plasma citratado diluído e o tempo de coagulação, em segundos, é medido. O tempo de coagulação do plasma citratado diluído é inversamente proporcional à concentração de fibrinogênio.

Para realização do teste, 50 µL do plasma citratado foram diluídos em 450 µL de tampão contendo imidazol, azida sódica, polímero coloidal e estabilizadores. 200 µL desta diluição foram transferidos para um tubo de ensaio de vidro e incubados em estufa a 37°C por 5 minutos. Em seguida, 100 µL de trombina bovina foram

adicionados às amostras, o cronômetro foi disparado e os tubos foram inclinados sucessivamente em intervalos menores que um segundo até a formação de um coágulo que interrompesse a movimentação do líquido. Neste momento, o cronômetro foi parado e o tempo em segundos foi registrado para posterior determinação da concentração de fibrinogênio nas amostras.

Para determinação da curva padrão, a amostra foi substituída pelo plasma de referência, o qual foi diluído nas proporções de 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 e 1:30 no mesmo tampão em que as amostras foram diluídas, dando sequência ao protocolo acima.

5.3.6 Determinação da velocidade de hemossedimentação (VHS)

Este teste avalia a velocidade de sedimentação dos eritrócitos em um período de uma hora. Para avaliação da VHS, utilizou-se o método de Westergreen. Uma alíquota de sangue citratado foi pipetado em pipeta Westergreen, a qual foi mantida em posição vertical durante uma hora, para acompanhar a sedimentação do sangue. Decorrido o tempo, foi procedida a leitura da sedimentação, dada em micrômetros.

5.3.7 Leucograma

5.3.7.1 *Contagem total de leucócitos*

Para contagem global de leucócitos no sangue, 10 μL de sangue periférico foram diluídos em 90 μL da solução Turk. Desta diluição, 10 μL foram colocados na câmara de Neubauer, a qual foi levada ao microscópio óptico, em aumento final de 40x, para proceder à contagem das células nos quatro quadrantes laterais e cálculo do número de células por μL de sangue.

5.3.7.2 *Contagem diferencial de leucócitos*

Para a contagem diferencial de leucócitos circulantes, 8 μL de sangue periférico foram transferidos para uma lâmina para realização do esfregaço. Em seguida, as lâminas foram coradas pela técnica de coloração de May Grunwald-

Giemsa modificador¹¹². Foram contadas 100 células por lâmina, sendo estas classificadas em bastonete, segmentado, eosinófilo, basófilo, linfócito ou monócito.

5.3.8 Dosagem de óxido nítrico (nitrito) no soro

Para determinar a concentração de nitrito no soro das participantes, 25 µL da amostra foram plaqueados, em duplicata, em microplacas de 96 poços. 25 µL da solução coquetel, composta por nitrato redutase, NADPH, tampão KH₂PO₄ e água deionizada foram acrescentados à amostra seguindo de incubação em estufa a 37°C por 6 horas. Em seguida, 50 µL da solução de Griess foram acrescentados às amostras, reagindo por 10 minutos. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 540 nm. Para determinação da curva padrão de nitrito, utilizou-se 50 µL da solução de nitrito a 1 mM para realização da diluição seriada.

5.3.9 Quantificação de citocinas no soro

Os níveis circulantes das citocinas TNF, IL-6, IL-1β e IL-10; TGF-β e da quimiocina MCP-1 foram determinados por ensaio de Elisa, conforme instruções do fabricante. Em resumo, placas Nunc® foram sensibilizada com 100 µL do respectivo anticorpo de captura diluído em *Coating Buffer* pH 9,5. A placa foi incubada overnight, a 4°C, em câmara úmida. Em seguida, o anticorpo de captura foi descartado e as placas foram lavadas três vezes, com *Wash buffer*. Procedeu-se o bloqueio de ligantes inespecíficos com 200 µL de solução diluente (pH 7,0) e incubação à temperatura ambiente por uma hora. A solução de bloqueio foi descartada e as placas foram lavadas 3x com *Wash buffer*. Em seguida foram plaqueados o branco, a curva padrão em diluição seriada e as amostras (100 µL). A placa foi incubada em temperatura ambiente por duas horas. Após incubação, a placa foi lavada 5x com *Wash Buffer* e foram acrescentados 100 µL 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 lavada 7x, com *Wash Buffer*, com intervalos de um minuto entre cada lavagem. 100 µL do substrato OPD, diluído em tampão citrato (pH 5,0) e acrescido de água oxigenada 30% foram adicionados a cada poço. Após incubação

por 30 minutos, à temperatura ambiente, a reação foi parada com 50 μL de H_2SO_4 2N com leitura em espectrofotômetro por 450 nm.

5.3.10 Quantificação de anticorpos IgG anti-LDL oxidada

Para quantificação de anticorpos IgG anti-LDL oxidada é necessária a sensibilização de placas Nunc® com LDL oxidada (LDLox) diluída em água milli Q.

5.3.10.1 Isolamento, quantificação e oxidação da LDL

O isolamento e oxidação de LDL foram realizados conforme metodologia descrita por Chung et al (1986)¹¹³ e Lee et al (1999)¹¹⁴. Para isolamento da LDL, 40 mL de sangue periférico de um indivíduo saudável, não fumante e isento de tratamento medicamentoso foram coletados em tubo vacuttainer sem anticoagulante. O sangue foi centrifugado a 3000 RPM, por 10 minutos. O soro foi separado e foram adicionados os seguintes conservantes: aprotinina, benzamidina 2 mM, solução de azida sódica 5% com cloranfenicol 0,1% e PMSF 0,5 mM em DMSO. Em seguida, o soro teve sua densidade elevada para 1,21 (densidade da lipoproteína HDL), pela adição de Brometo de potássio (KBr). Logo após, 3 mL deste soro foram transferidos para tubos de polipropileno e o volume total (10 mL) foi completado com a solução de KBr com densidade de 1,006, formando um gradiente descontínuo de densidade de duas camadas. Os tubos foram centrifugados em ultracentrífuga a 50000 RPM, por duas horas e meia, à temperatura de 4°C. Após centrifugação, um anel alaranjado, correspondente à LDL, foi colhido com auxílio de uma seringa e submetido à diálise em PBS 1x, durante 24 horas, à temperatura de 4°C, sendo realizada uma troca do tampão a cada 8 horas. Ao terminar a diálise, a LDL foi recolhida, uma alíquota foi separada para a determinação da concentração de proteínas na amostra e o restante do material foi filtrado com o auxílio de um filtro de seringa de 45 μm e armazenado em tubo eppendorf estéril, protegido da luz.

A dosagem de proteínas na LDL nativa foi realizada conforme a metodologia proposta por Lowry et al (1951)¹¹⁵. A LDL foi diluída (1:20) em água deionizada. 250 μL desta diluição foram transferidos para outro eppendorf e acrescidos 250 μL de uma solução contendo CuSO_4 , Tartarato de sódio e Na_2CO_3 , na proporção de 1:1:100 respectivamente. 25 μL do reagente de Folin, na proporção de 1:2, diluído

em água deionizada, foram colocados em cada eppendorf, seguindo de agitação imediata em vórtex. Após trinta minutos em repouso à temperatura ambiente, 200 µL de cada amostra foram plaqueados, em duplicata, em microplaca de 96 poços. A absorbância foi lida a 660 nm. Para cálculo da concentração de proteínas na amostra, foi determinada a curva padrão por meio de concentrações conhecidas de albumina, seguindo todas as etapas mencionadas acima.

Para oxidação da LDL, 1,5 mL de LDL nativa foram diluídos em 4,5 mL de água Mili-Q, em erlenmeyer e 30 µL de CuCl_2 a 1 mM foram adicionados. O material foi mantido sob constante agitação, em temperatura de 37°C por três horas e meia. Após término, a oxidação da LDL foi interrompida pelo acréscimo de 60 µL de EDTA 0,5M. A LDL oxidada foi filtrada com o auxílio de um filtro de seringa de 45 µm e acondicionada a 4°C, por no máximo, 30 dias.

5.3.10.2 Determinação da concentração de anticorpos IgG anti LDL-oxidada

Placas Nunc® foram sensibilizada com 100 µL de LDL oxidada diluída em água milli Q. A placa foi incubada por 24h, em câmara úmida, a temperatura ambiente. Em seguida, a LDLox foi descartada e procedeu-se o bloqueio de ligantes inespecíficos com 200 µL de soro bovino fetal 1%, com incubação em estufa a 37°C por uma hora. A solução de bloqueio foi descartada e as placas foram lavadas 5x com *Wash buffer*. Em seguida, foram plaqueados 100 µL do branco e das amostras diluídas 1:2. A placa foi incubada em temperatura ambiente, overnight. Decorrido o tempo, a placa foi lavada 5x com *Wash Buffer* e foram acrescentados 100 µL de IgG peroxidase (1:5000), com incubação a 37°C por duas horas. A placa foi lavada 10x com *Wash Buffer*. 100 µL do substrato OPD, diluído em tampão citrato (pH 5,0) e acrescido de água oxigenada 30% foram adicionados a cada poço. Após incubação por 30 minutos, à temperatura ambiente, a reação foi parada com 30 µL de H_2SO_4 2N com leitura em espectrofotômetro a 492 nm.

5.3.11 Determinação dos escores de risco de Framingham

Para avaliação o risco de doenças cardiovasculares em 10 e 30 anos, utilizou-se o escore de risco de Framingham, que considera parâmetros como sexo, idade, tabagismo, pressão arterial sistólica, perfil lipídico (colesterol total e HDL-c) ou IMC.

O teste foi realizado em um calculador online, onde os dados são inseridos e o percentual de risco para eventos cardiovasculares é calculado mediante as variáveis previamente lançadas.

5.4 Análise estatística

Os dados estão apresentados em média \pm erro padrão. Teste de *Kolmogorov-Sminov* foi utilizado para avaliar a distribuição dos dados. Para comparação de variáveis contínuas foram utilizados testes não-pareados como teste *T de Student* ou teste de *Mann Whitney* enquanto para testes pareados foram utilizados teste *T de Student* pareado ou teste de *Wilcoxon*. Para análise das variáveis categóricas utilizou-se o teste exato de *Fisher's*. A correlação entre variáveis foi analisada por meio do coeficiente de correlação de *Pearson*. A análise estatística foi realizada no software SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*), versão 19.0. O valor de significância adotado foi de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

Inicialmente, pacientes com RCU em remissão clínica, em tratamento com aminossalicilatos (grupo ASA) foram comparados a seus controles saudáveis pareados para avaliação do risco de DCV neste grupo. Em seguida, pacientes com RCU em remissão clínica, em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos (grupo AZA+ASA) foram submetidas à mesma comparação com seus respectivos controles saudáveis pareados por idade. Por fim, os grupos com RCU foram comparados entre si para avaliação do risco de DCV e para avaliar o possível papel do tratamento medicamentoso nos parâmetros avaliados.

6.1 Comparação entre pacientes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos e controles saudáveis

Nesta etapa, o grupo ASA foi pareado por idade com um grupo controle saudável. Os dados gerais dos grupos experimentais estão descritos na Tabela 3. A idade média foi de $37,8 \pm 2,4$ anos no grupo controle e $37,8 \pm 2,2$ anos no grupo RCU. No grupo ASA oito (66,7%) pacientes nunca fumaram enquanto quatro (33,7%) deixaram de fumar antes do diagnóstico da doença. Nove (75%) mulheres do grupo saudável e duas (16,7%) do grupo ASA relataram ingestão de bebida alcoólica fermentada ou destilada pelo menos uma vez na semana. Apenas quatro mulheres (33,3%) com RCU em tratamento com aminossalicilatos praticavam exercício físico regularmente, mostrando maior sedentarismo nesse grupo (Tabela 3).

Tabela 3: Hábitos de vida e história clínica das participantes saudáveis e com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos

Parâmetros	Controle	RCU – ASA	P
Número de pacientes	12	12	-
Idade	37,8 ± 2,4	37,8 ± 2,2	1,0
Tabagismo	0	0	-
Etilismo^a	9 (75%)	2 (16,7%)	0,01
Atividade física^a	9 (75%)	4 (33,3%)	0,09
Uso de medicamentos:			
Mesalazina	-	10 (83,3%)	-
Sulfassalazina	-	2 (16,7%)	-
Omeprazol	-	3 (25%)	-
Suplemento vitamínico/mineral	-	4 (33,4%)	-
Anti-depressivo	1 (8,3%)	4 (33,4%)	-
Contraceptivo oral	3 (25%)	2 (16,7%)	-
Nenhum medicamento	8 (66,7%)	1 (8,3%)	0,009
História de DCV na família^a	4 (38,5%)	8 (66,7%)	0,22

ASA: grupo de pacientes com RCU – retocolite ulcerativa – em tratamento com aminossalicilatos para manutenção da remissão clínica. ^ateste de Fisher; DCV: doença cardiovascular.

No grupo ASA, dez (83,3%) mulheres usavam mesalazina e duas (16,7%) usavam sulfassalazina. O uso de outros medicamentos como inibidores da bomba de prótons, suplementos vitamínicos, anti-depressivos/tranquilizantes e contraceptivos orais, foram relatados entre as participantes. A história de DCV na família foi semelhante entre os grupos (Tabela 3).

A análise dos dados antropométricos mostrou que peso, IMC e circunferência da cintura foram semelhantes entre os grupos. Porém, mulheres do grupo ASA apresentaram maior percentual de gordura corporal e menor massa livre de gordura (Tabela 4). A pressão arterial sistólica e diastólica estava dentro da faixa de normalidade, porém, os níveis pressóricos foram maiores no grupo ASA (Tabela 4).

Os níveis de glicemia, triglicérides, colesterol total e suas frações foram semelhantes entre os grupos (Tabela 4). Pacientes com RCU - ASA apresentaram aumento de proteínas totais e globulinas com a concomitante redução da albumina. Marcadores de inflamação e atividade da doença como PCR e VHS foram maiores

em RCU – ASA, embora estivessem dentro da faixa de recomendação em ambos os grupos. Fibrinogênio e hemoglobina foram semelhantes entre os grupos. O leucograma mostrou que a contagem global e diferencial de leucócitos também foi semelhante (Tabela 4).

O estresse oxidativo é outro fator importante na aterosclerose. Foram avaliados os níveis de nitrito como indicador da concentração de óxido nítrico e os níveis de anticorpos IgG anti-LDLox circulantes. Os resultados mostram que o grupo RCU em uso de aminossalicilatos apresenta maiores níveis de nitrito e maior concentração de anticorpos anti-LDLox comparado ao grupo controle (Tabela 4), demonstrando maior estresse oxidativo nessas pacientes e também maior propensão à aterosclerose, uma vez que o ON é importante na disfunção endotelial e a LDLox é um fator essencial para o desenvolvimento da placa ateromatosa.

Tabela 4 – Dados antropométricos, pressão arterial e marcadores séricos das participantes saudáveis e com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos

Parâmetro	Controle	RCU – ASA	p
Peso (kg) ^a	58,4 ± 1,7	56,9 ± 3,7	0,52
IMC (kg/m ²) ^a	22,7 ± 0,6	23,4 ± 1,8	0,25
Circunferência da cintura (cm) ^b	73 ± 1,8	80 ± 3,8	0,13
Massa livre de gordura (kg) ^b	42,2 ± 1,2	36,9 ± 1,2	0,01
% massa de gordura (MG) ^b	29 ± 1,8	37,2 ± 2,7	0,05
PAS (mmHg) ^b	99,7 ± 2,5	113,2 ± 3,9	0,009
PAD (mmHg) ^b	65 ± 1,1	76,5 ± 3,1	0,004
Triglicérides (mg/dL) ^a	87,6 ± 7,6	84,3 ± 15,3	0,68
Colesterol total (mg/dL) ^a	184 ± 8	190,2 ± 6,8	0,38
HDLc (mg/dL) ^b	45,4 ± 4,6	46,2 ± 3,2	0,90
LDLc (mg/dL) ^b	126,1 ± 7,7	130,2 ± 7,2	0,73
VLDLc (mg/dL) ^a	17,5 ± 1,5	16,9 ± 2,9	0,57
Glicose (mg/dL) ^a	75,8 ± 3,4	75,5 ± 3,2	0,69
PCR (g/dL) ^a	1,4 ± 0,2	2,6 ± 0,5	0,002
Proteínas totais (g/dL) ^a	6,7 ± 0,2	7,4 ± 0,6	0,007
Albumina (g/dL) ^b	4,1 ± 0,2	3,5 ± 0,2	0,02
Globulina (g/dL) ^b	2,6 ± 0,2	4,1 ± 0,6	0,002
Hemoglobina (g/dL) ^b	14,3 ± 0,8	12,8 ± 0,8	0,35
VHS (mm/h) ^b	14,6 ± 1,7	26,3 ± 4	0,01
Fibrinogênio (g/dL) ^b	312 ± 7,5	324,2 ± 6,3	0,15
Óxido nítrico (mM) ^b	1,7 ± 0,2	2,7 ± 0,3	0,03
IgG Anti LDLox (ua) ^b	0,34 ± 0,02	0,41 ± 0,02	0,02
Leucócitos totais (cel/μL) ^b	6321 ± 807,4	5977 ± 847,8	0,78
Neutrófilos (cel/μL) ^b	4055 ± 557,7	3328 ± 703,9	0,47
Eosinófilos (cel/μL) ^a	102,5 ± 20,4	57,5 ± 19,8	0,11
Monócitos (cel/μL) ^b	299,7 ± 53,2	243,8 ± 44,9	0,52
Linfócitos (cel/μL) ^a	1808 ± 234,3	1743 ± 217	0,91

ASA: grupo com RCU em tratamento com aminossalicilatos para manutenção da remissão clínica. ^aTeste de Wilcoxon; ^bTeste T pareado; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; ua: unidades arbitrárias; Classificação do percentual de gordura corporal adaptado de Pollock e Wilmore (1993).

O perfil sérico de citocinas também foi avaliado. Dentre as citocinas pró-inflamatórias, as concentrações de IL-6 e da quimiocina MCP-1 foram maiores no grupo RCU. TNF, IL-1 β , TGF- β e IL-10 foram semelhantes entre os grupos (Figura 4).

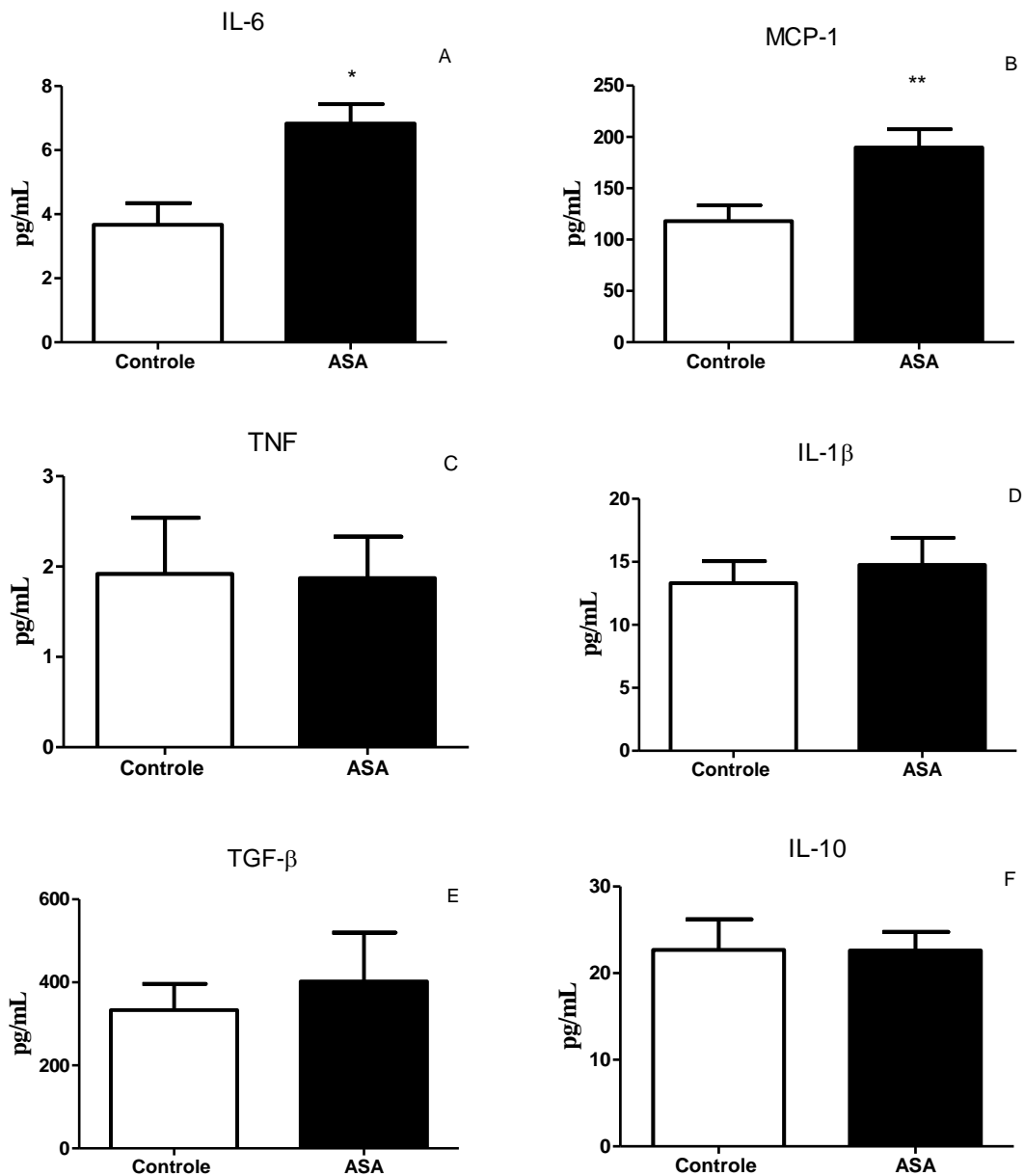


Figura 4: Níveis séricos de citocinas em mulheres com RCU em remissão clínica, em tratamento com aminossalicilatos comparadas a controles saudáveis. (A) IL-6 ($p=0,01$)^a; (B) MCP-1 ($p=0,005$)^a; (C) TNF ($p=0,95$)^b; (D) IL-1 β ($p=0,66$)^b; (E) TGF- β ($p=0,62$)^b; (F) IL-10 ($p=0,97$)^a. ^aTeste de Wilcoxon; ^bTeste T Student pareado.

O risco de desenvolvimento de DCV em 10 e 30 anos foi avaliado pelos escores de Framingham. Os dados mostram que o grupo ASA possui maior risco

para DCV em um período de 10 anos, considerando tanto o perfil lipídico quanto o IMC. Resultado semelhante foi encontrado, quando avaliamos o risco de DCV em um período de 30 anos, considerando os mesmos parâmetros (Figura 5).

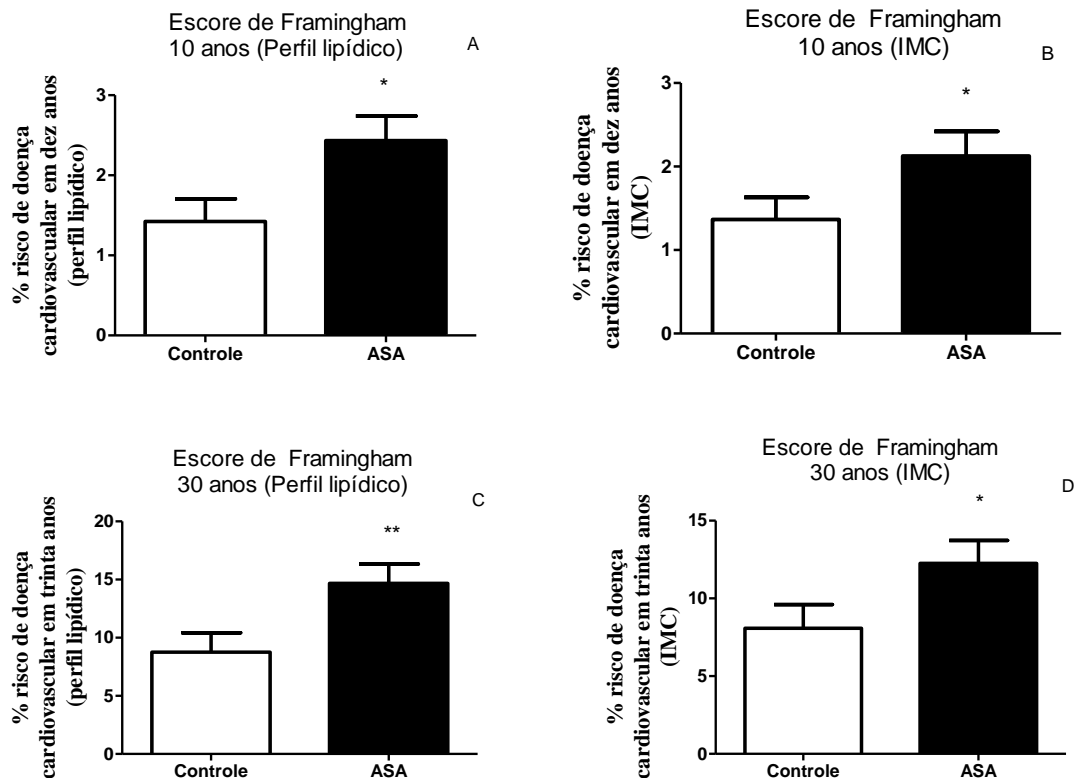


Figura 5: Risco relativo de DCV em pacientes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos comparadas a controles saudáveis. O escore de risco de Framingham mostrou que o grupo RCU apresenta maior risco para DCV em 10 anos considerando o perfil lipídico (A) ($p=0,01$) e o IMC (B) ($p=0,04$). Mesmo resultado foi observado na avaliação do escore de Framingham para o risco de DCV em 30 anos considerando o perfil lipídico (C) ($p=0,006$) e o IMC (D) ($p=0,04$). ^ateste Wilcoxon; ^bteste T *Student* pareado.

Pela avaliação dietética, observou-se que as mulheres do grupo ASA, em remissão clínica, tratadas com aminossalicilatos apresentaram baixa ingestão total de carboidratos, porém, quando esta ingestão é ajustada pelo peso corporal, observa-se que o consumo em gramas por quilo de peso é semelhante entre os grupos. A ingestão de proteínas e lipídios foi similar entre os grupos, bem como o consumo de gordura saturada e colesterol. A ingestão de fibras e cálcio foram menores no grupo ASA. A ingestão de minerais como ferro, sódio, potássio e zinco e de vitaminas antioxidantes (A, C) foi semelhante entre os grupos (Tabela 5).

Tabela 5: Ingestão média de macro e micronutrientes pelo grupo controle saudável e pelas pacientes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos

Nutrientes	Controle	RCU – ASA	p
Carboidrato (g)^b	249,1 ± 17,2	202,1 ± 9,7	0,04
Carboidrato (g/kg/dia)^b	4,2 ± 0,35	3,5 ± 0,25	0,10
Proteínas (g)^b	80,4 ± 5,7	70,2 ± 5,5	0,33
Proteínas (g/kg/dia)^b	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1	0,33
Lipídios (g)^b	63,8 ± 5,9	59,1 ± 4,6	0,53
Gordura saturada (g)^b	21,3 ± 2,0	20,9 ± 1,7	0,89
Colesterol (mg)^b	263,0 ± 24,6	250,9 ± 18,9	0,75
Fibras (g)^b	22,2 ± 1,9	16,6 ± 0,9	0,03
Cálcio (mg)^a	782,4 ± 90,7	421,3 ± 58,7	0,03
Ferro (mg)^b	9,2 ± 0,7	7,5 ± 0,5	0,11
Sódio (mg)^b	2556,0 ± 197,5	2634,0 ± 303,0	0,60
Potássio (mg)^b	2335,0 ± 286,5	1904,0 ± 157,7	0,30
Zinco (mg)^b	8,7 ± 0,80	9,4 ± 0,80	0,74
Vitamina C (mg)^a	141,1 ± 14,6	94,5 ± 35,4	0,42
Vitamina A (µg)^a	384,7 ± 25,3	261,3 ± 55,1	0,32

ASA: grupo com RCU em tratamento com aminossalicilatos para manutenção da remissão clínica; g: gramas; kg: quilogramas; mg: miligramas. ^aTeste de Wilcoxon; ^bTeste T pareado.

6.2 Comparação entre pacientes com RCU em remissão clínica em uso de azatioprina associada ao aminossalicilato e seus respectivos controles saudáveis

Nesta etapa, as pacientes em uso de azatioprina associada ao aminossalicilato foram pareadas por idade com controles saudáveis. Os dados gerais estão descritos na Tabela 6. A idade média neste grupo com RCU foi de 37,8 ± 2,8 anos enquanto no grupo controle foi de 37,8 ± 3,4 anos (Tabela 6). No grupo AZA+ASA, 5 (55,5%) participantes nunca fumaram enquanto 4 (44,5%) são ex-tabagistas e apenas uma relatou ingestão de bebida alcoólica fermentada. Todas as participantes do grupo AZA+ASA são sedentárias (Tabela 6). As nove integrantes do grupo AZA+ASA fazem uso de azatioprina. Destas, 6 (66,7%) fazem uso

concomitante de mesalazina, 2 (22,2%) utilizam sulfassalazina e uma não faz uso de aminossalicilatos associados ao tratamento com azatioprina. O uso de medicamentos como inibidores da bomba de prótons, antidepressivos, contraceptivo oral e suplementos vitamínico/mineral foi relatado entre as participantes deste estudo. A história familiar de DCV foi semelhante entre os grupos (Tabela 6).

Tabela 6: Hábitos de vida e história clínica das participantes saudáveis e com RCU em remissão clínica em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos

Parâmetros	Controle	AZA+ASA	p
Número de pacientes	9	9	-
Idade	37,8 ± 2,8	37,8 ± 3,4	1,0
Tabagismo	0	0	-
Etilismo^a	7 (77,8%)	1 (11,1%)	0,01
Atividade física^a	7 (77,8%)	0	0,002
Uso de medicamentos:			
Azatioprina	-	9 (100%)	-
Mesalazina	-	6 (66,7)	-
Sulfassalazina	-	2 (22,2%)	-
Omeprazol	-	1 (11,1%)	-
Suplemento vitamínico/mineral	-	3 (33,3%)	-
Anti-depressivo	1 (11,1%)	3 (33,3%)	-
Contraceptivo oral	2 (22,2%)	1 (11,1%)	-
Nenhum medicamento ^a	6 (66,7%)	-	0,009
História de DCV na família^a	4 (38,5%)	4 (44,4%)	0,67

AZA+ASA: grupo com RCU em uso de azatioprina e aminossalicilatos para manutenção da remissão clínica. ^ateste de Fisher; DCV: doença cardiovascular.

O peso entre os grupos foi semelhante, no entanto, o IMC apresentou uma tendência a ser maior no grupo AZA+ASA. Circunferência da cintura e percentual de gordura corporal também foram maiores neste grupo. A pressão arterial foi maior no grupo AZA+ASA (Tabela 7). Perfil lipídico e glicemia foram semelhantes entre os grupos, assim como os níveis de proteínas totais, globulinas, albumina, hemoglobina e fibrinogênio. PCR foi maior no grupo AZA+ASA enquanto a VHS foi semelhante

entre os grupos e ambos atendem aos parâmetros recomendados. A contagem global e diferencial de leucócitos foi semelhante entre os grupos (Tabela 7).

Níveis séricos de óxido nítrico foram maiores no grupo em uso de azatioprina, bem como a concentração de anticorpos anti-LDLox, sugerindo maior estresse oxidativo neste grupo (Tabela 7).

Tabela 7 – Dados antropométricos, pressão arterial e marcadores séricos das participantes saudáveis e com RCU em remissão clínica em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos

Parâmetro	Controle	AZA+ASA	p
Peso (kg)^a	58,3 ± 1,7	72,1 ± 6,7	0,52
IMC (kg/m²)^a	22,7 ± 0,8	28,2 ± 2,1	0,06
Circunferência da cintura (cm)^a	73,3 ± 2,1	89,1 ± 5,6	0,04
% massa gorda^a	29,3 ± 2,2	36,9 ± 7,8	0,05
PAS (mmHg)^a	99,8 ± 3,7	116,5 ± 7,6	0,02
PAD (mmHg)^a	67 ± 2,9	76,6 ± 6,2	0,05
Triglicérides (mg/dL)^a	96,2 ± 13,7	84,3 ± 14,0	0,58
Colesterol total (mg/dL)^b	185,4 ± 13,0	185,5 ± 13,5	0,82
HDLc (mg/dL) ^a	44,2 ± 6,1	39,6 ± 6,1	0,64
LDLc (mg/dL) ^a	133,3 ± 12,7	134,8 ± 13,3	0,94
VLDLc (mg/dL) ^a	19,3 ± 2,7	17,7 ± 2,7	0,73
Glicose (mg/dL)^a	72,8 ± 3,7	81,6 ± 3,2	0,15
PCR (g/dL)^b	1,3 ± 0,16	2,3 ± 0,31	0,008
Proteínas totais (g/dL)^a	7,3 ± 0,4	6,7 ± 0,2	0,17
Albumina (g/dL)^a	4,3 ± 0,2	3,6 ± 0,2	0,09
Globulina (g/dL)^a	3,0 ± 0,4	3,0 ± 0,2	0,98
Hemoglobina (g/dL)^a	13,4 ± 0,6	14,4 ± 1,3	0,48
VHS (mm/h)^b	14,0 ± 1,4	18,0 ± 5,4	0,51
Fibrinogênio (g/dL)^b	321,0 ± 8,0	314,5 ± 7,2	0,65
Óxido nítrico (mM)^a	1,4 ± 0,2	2,1 ± 0,3	0,02
IgG Anti LDLox (ua)^a	0,357 ± 0,02	0,436 ± 0,04	0,05
Leucócitos totais (cel/μL)^a	5519,0 ± 965,2	5025,0 ± 885,7	0,28
Neutrófilos (cel/μL) ^a	3436,0 ± 624,8	3143,0 ± 551,6	0,41
Eosinófilos (cel/μL) ^b	97,0 ± 26,6	53,5 ± 63,1	0,36
Monócitos (cel/μL) ^b	193,5 ± 44,5	194,3 ± 60,7	0,57
Linfócitos (cel/μL) ^a	1720,0 ± 321,2	1484,0 ± 335,4	0,24

AZA+ASA: grupo com RCU em uso de azatioprina e aminossalicilatos para manutenção da remissão clínica.
^aTeste de Wilcoxon; ^bTeste T pareado; PAS/PAD: pressão arterial sistólica/ diastólica; ua: unidades arbitrárias.
Classificação do percentual de gordura corporal adaptado de Pollock e Wilmore (1993).

Quanto ao perfil de citocinas, o grupo AZA+ASA apresentou maiores níveis de IL-6, MCP-1, TNF, IL-10 e TGF- β (Figura 6). Uma forte relação entre os níveis de TNF e ON foram encontrados no grupo com RCU ($p=0,004$; $r^2=0,707$), evidenciando a importância da interação destes agentes no risco para aterosclerose.

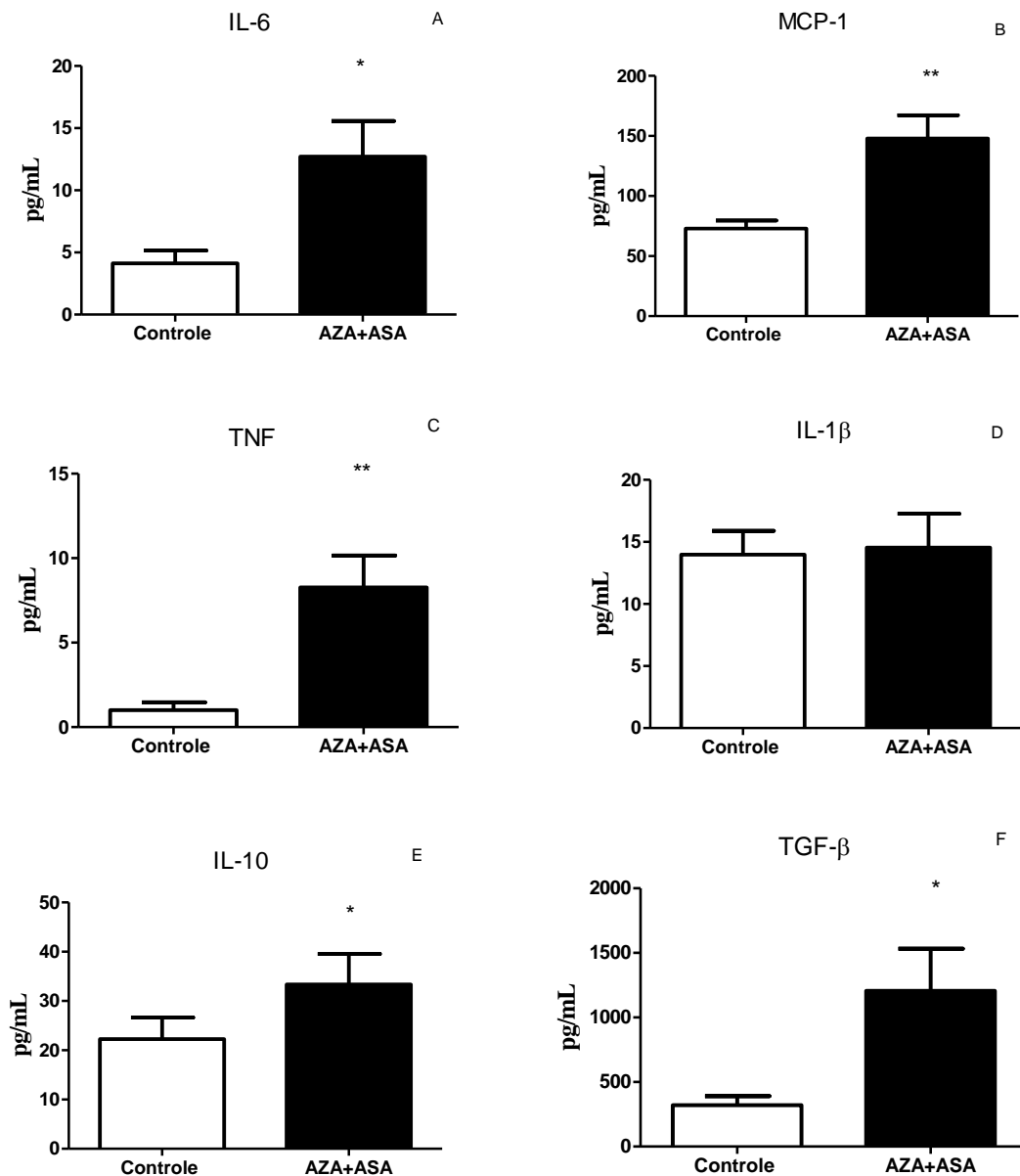


Figura 6: Níveis séricos de citocinas em pacientes com RCU em remissão clínica, em uso de azatioprina e aminossalicilatos, comparadas a controles saudáveis. (A) IL-6 ($p=0,02$)^a; (B) MCP-1 ($p=0,004$)^a; (C) TNF ($p=0,003$)^b; (D) IL-1 β ($p=0,77$)^a; (E) IL-10 ($p=0,02$)^b; (F) TGF- β ($p=0,03$)^b. ^aTeste de T pareado; ^bTeste Wilcoxon.

O risco relativo para eventos cardiovasculares, determinado pelos escores de Reynolds e de Framingham (em 10 e 30 anos, considerando o perfil lipídico ou o

IMC), mostrou maior risco de doenças cardiovasculares no grupo AZA+ASA comparado ao seu controle pareado (Figura 7).

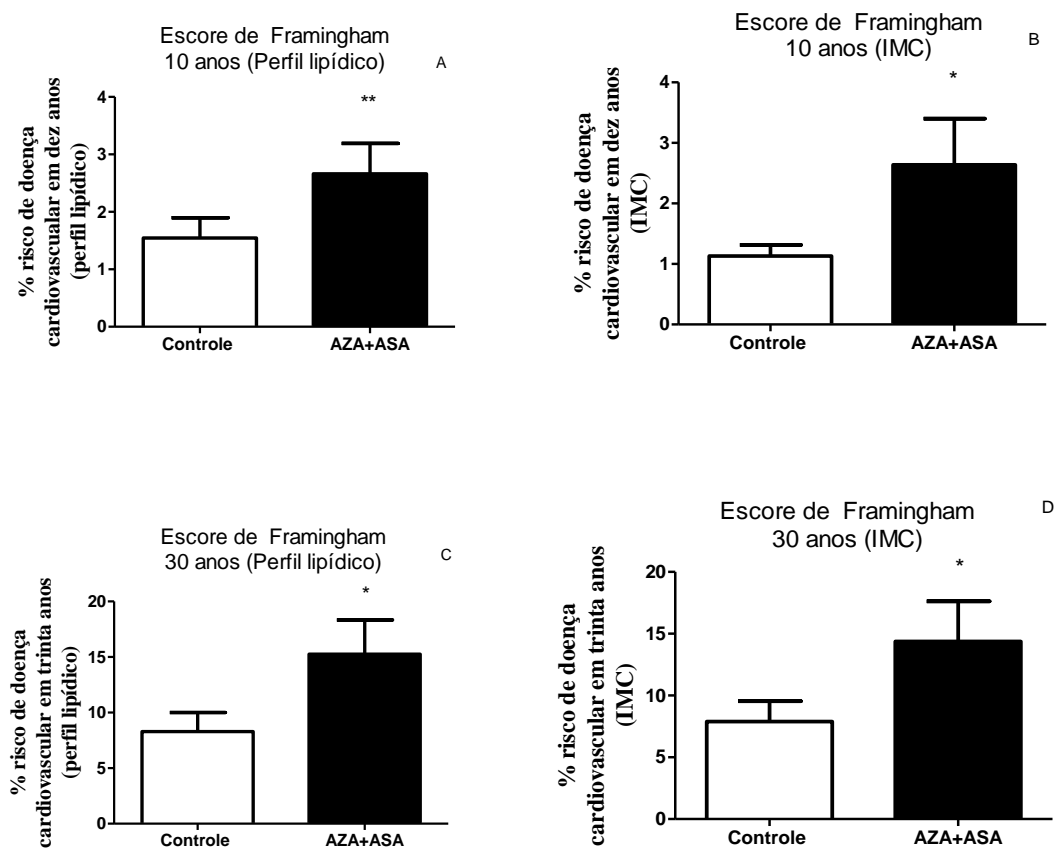


Figura 7: Risco relativo de DCV em pacientes com RCU em remissão clínica, em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos, comparado com controles saudáveis. O escore de risco de Framingham mostrou que o risco relativo para DCV em 10 anos e 30 anos foi semelhante, tanto para o perfil lipídico (A - $p=0,43^a$ e B - $p=0,62^b$ respectivamente) como para o IMC (C - $p=0,31^b$ e D - $p=0,30^b$ respectivamente). ^ateste Mann Whitney; ^bteste T Student.

A análise da ingestão dietética mostrou que as mulheres com RCU em remissão clínica, tratadas com azatioprina associada ao aminossalicilato apresentam menor ingestão de carboidratos, tanto no consumo geral quanto avaliado em gramas por quilo de peso, comparado ao grupo controle saudável pareado. A ingestão total de lipídios também foi menor no grupo AZA+ASA. O consumo de proteínas, gordura saturada, colesterol e fibras foi semelhante entre os grupos. Dentre os micronutrientes analisados, somente a ingestão de cálcio foi menor no grupo AZA+ASA (Tabela 8).

Tabela 8: Ingestão média de macro e micronutrientes pelo grupo controle saudável e pelas pacientes com RCU em remissão clínica em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos

Nutrientes	Controle	RCU – AZA+ASA	p
Carboidrato (g)^a	235,1 ± 22,1	213,4 ± 7,4	0,04
Carboidrato (g/kg/dia)^b	4,4 ± 0,4	2,60 ± 0,4	0,003
Proteínas (g)^b	72,8 ± 4,8	71,3 ± 8,4	0,83
Proteínas (g/kg/dia)^b	1,3 ± 0,1	0,95 ± 0,2	0,16
Lipídios (g)^b	58,5 ± 6,4	40,4 ± 5,5	0,06
Gordura saturada (g)^b	19,1 ± 1,8	14,6 ± 3,3	0,27
Colesterol (mg)^b	252,4 ± 19,7	228,6 ± 35,7	0,55
Fibras (g)^b	21,3 ± 2,4	20,7 ± 1,4	0,38
Cálcio (mg)^b	766,3 ± 86,1	374,6 ± 58,1	0,007
Ferro (mg)^a	9,5 ± 0,9	7,0 ± 1,1	0,55
Sódio (mg)^b	2394,0 ± 161,2	2786,0 ± 359,7	0,70
Potássio (mg)^b	2107,0 ± 360,3	2094,0 ± 213,7	0,81
Zinco (mg)^b	7,6 ± 0,7	9,2 ± 2,2	0,36
Vitamina C (mg)^a	138,4 ± 12,0	104,1 ± 37,8	0,58
Vitamina A (µg)^a	463,5 ± 80,1	244,9 ± 364,6	0,69

AZA+ASA: grupo com RCU em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos para manutenção da remissão clínica. ^aTeste de Wilcoxon; ^bTeste T pareado;

6.3 Comparação entre pacientes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos ou com azatioprina e aminossalicilatos

Neste estudo, a idade média e o tempo de doença do grupo ASA foi de 37,8 ± 2,2 anos e 9,5 ± 1,7 anos respectivamente, enquanto no grupo AZA+ASA foi de 37,8 ± 3,4 anos e 6,4 ± 1,6 anos respectivamente (Tabela 9). Peso, IMC, circunferência de cintura, percentual de gordura corporal e pressão arterial sistólica e diastólica foram semelhantes entre os grupos (Tabela 9). Porém, quando ajustada conforme o peso, a massa livre de gordura (massa muscular, massa óssea e água) foi maior no grupo AZA+ASA (Tabela 9).

A concentração de proteínas totais circulantes e de globulinas foi menor no grupo AZA+ASA, enquanto a albumina foi semelhante (Tabela 9). PCR e

fibrinogênio foram semelhantes entre os grupos, enquanto VHS foi menor no grupo RCU usando azatioprina (Tabela 9). A avaliação do leucograma mostrou que a contagem total de leucócitos foi semelhante entre os grupos. Na contagem diferencial, somente os linfócitos circulantes foram menores no grupo AZA+ASA (Tabela 9). Na avaliação do estresse oxidativo, o óxido nítrico e a concentração de anticorpos anti-LDL oxidada foram semelhantes entre os grupos (Tabela 9).

Tabela 9: Dados gerais, antropometria e perfil sérico das participantes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminossalicilatos ou com azatioprina e aminossalicilatos

Parâmetros	Grupo RCU	Grupo RCU	p
	ASA	AZA+ASA	
Número de pacientes	12	9	-
Idade (anos) ^a	37,8 ± 2,2	37,8 ± 3,4	0,98
Tempo da doença (anos) ^a	9,5 ± 1,7	6,4 ± 1,6	0,24
História de DCV na família (%)	8 (66,7%)	4 (44,4%)	0,20
Peso (kg) ^a	60,2 ± 3,7	72,1 ± 6,7	0,11
IMC (kg/m ²) ^b	23,4 ± 1,8	26,5 ± 2,1	0,16
Circunferência da cintura (cm) ^a	80,0 ± 3,8	89,1 ± 5,9	0,19
Gordura corporal (%) ^a	37,2 ± 2,7	36,9 ± 2,8	0,94
Massa livre de gordura (kg) ^a	36,9 ± 1,2	41,6 ± 2,0	0,04
PAS (mmHg) ^a	113,2 ± 3,9	116,5 ± 7,6	0,68
PAD (mmHg) ^a	76,5 ± 3,1	76,6 ± 6,2	0,98
Proteínas totais (g/dL) ^b	7,4 ± 0,6	6,7 ± 0,2	0,02
Globulina (g/dL) ^b	4,1 ± 0,6	3,0 ± 0,2	0,009
Albumina (g/dL) ^a	3,5 ± 0,2	3,6 ± 0,2	0,54
PCR (g/dL) ^a	2,6 ± 0,5	2,3 ± 0,3	0,83
Fibrinogênio (mg/dL) ^a	324,2 ± 6,3	314,5 ± 7,2	0,22
VHS (mm/H) ^a	26,3 ± 4,0	18,0 ± 2,8	0,04
Óxido nítrico (mM) ^a	2,7 ± 0,3	2,1 ± 0,3	0,14
Anticorpo antiLDL _{ox} (ua) ^a	0,41 ± 0,02	0,436 ± 0,04	0,60
Leucócitos totais (cel/μL) ^a	5977,0 ± 847,8	5025,0 ± 950,2	0,39
Neutrófilos (cel/μL) ^a	3328,0 ± 703,9	3143,0 ± 551,6	0,85
Eosinófilos (cel/μL) ^b	57,5 ± 19,8	53,5 ± 63,1	0,97
Linfócitos (cel/μL) ^b	1743,0 ± 217,0	1484,0 ± 227,0	0,02
Monócitos (cel/μL) ^b	243,8 ± 44,9	194,3 ± 60,7	0,97

ASA: grupo em uso de aminossalicilatos para manutenção da remissão clínica. AZA+ASA: grupo em uso de azatioprina e aminossalicilatos para manutenção da remissão clínica. ^aTeste T Student; ^bTeste Mann Whitney; DCV: doença cardiovascular; kg: quilograma; m: metros; cm: centímetros; mmHg: milímetros de mercúrio; g: gramas; dL: decilitro; H: hora; mM: milimolar; ua: unidades arbitrárias.

Perfil lipídico, glicemia e hemoglobina foram semelhantes entre os grupos com RCU (Tabela 10).

Tabela 10: Perfil lipídico, glicemia e hemoglobina das participantes com RCU em remissão clínica em tratamento com aminosalicilatos ou com azatioprina e aminosalicilatos

Parâmetro	Grupo RCU	Grupo RCU	P
	ASA	AZA+ASA	
Triglicérides (mg/dL) ^b	84,4 ± 15,3	84,3 ± 14,0	0,64
Colesterol total (mg/dL) ^a	190,2 ± 6,8	185,5 ± 13,5	0,77
HDL-c (mg/dL) ^b	46,2 ± 3,2	39,6 ± 6,1	0,24
LDL-c (mg/dL) ^a	130,2 ± 7,2	134,8 ± 13,3	0,81
VLDL-c (mg/dL) ^b	16,9 ± 2,9	17,7 ± 2,7	0,80
Glicose (mg/dL) ^a	75,5 ± 3,2	81,6 ± 3,2	0,20
Hemoglobina (g/dL) ^a	12,8 ± 0,8	14,4 ± 1,3	0,28

ASA: grupo com RCU em uso de aminosalicilatos para manutenção da remissão clínica. AZA+ASA: grupo em uso de azatioprina e aminosalicilatos para manutenção da remissão clínica. RCU: retocolite ulcerativa; HDLc: colesterol em lipoproteína de alta densidade; LDLc: colesterol em lipoproteína de baixa densidade; VLDLc: colesterol em lipoproteína de muito baixa intensidade.

Avaliando o perfil de citocinas, pacientes do grupo AZA+ASA apresentaram maiores níveis de TNF, IL-6, IL-10 e TGF- β comparados ao grupo ASA. Níveis de IL-1 β e MCP-1 foram semelhantes entre os grupos (Figura 8).

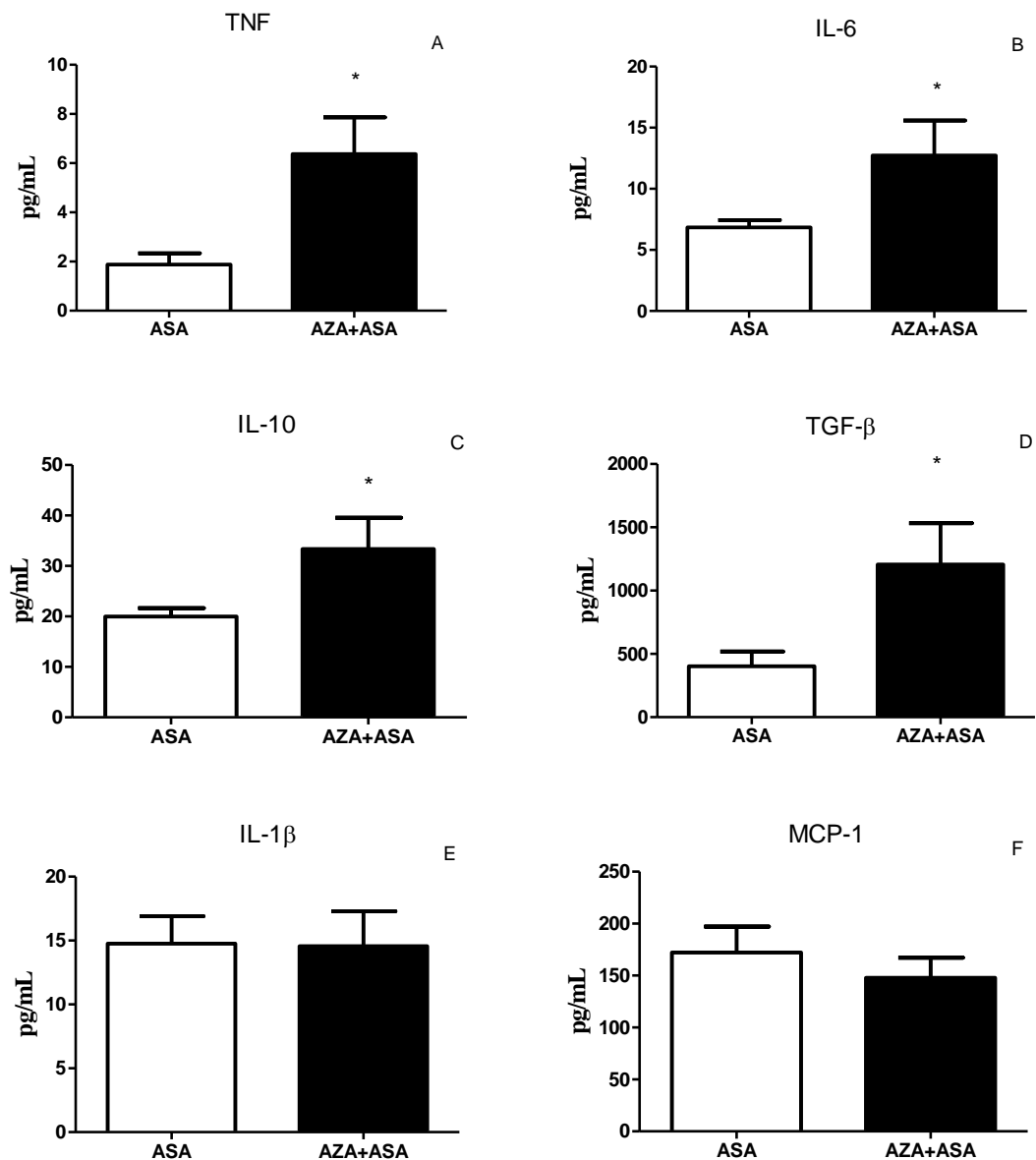


Figura 8: Níveis séricos de citocinas em mulheres com RCU em remissão clínica, em uso de aminossalicilatos ou azatioprina e aminossalicilatos. (A) TNF ($p=0,004$)^a, (B) IL-6 ($p=0,03$)^a, (C) IL-10 ($p=0,03$)^a e (D) TGF-β ($0,01$)^b foram maiores no grupo RCU em uso de azatioprina. (E) IL-1β ($0,95$)^a e (F) MCP-1 ($0,48$)^a foram semelhantes entre os grupos. ^aTeste t Student; ^bTeste Mann Whitney.

O escore de risco de Framingham mostrou que o risco de doenças cardiovasculares em 10 e 30 anos, considerando perfil lipídico ou IMC também não diferiu entre os grupos (Figura 9).

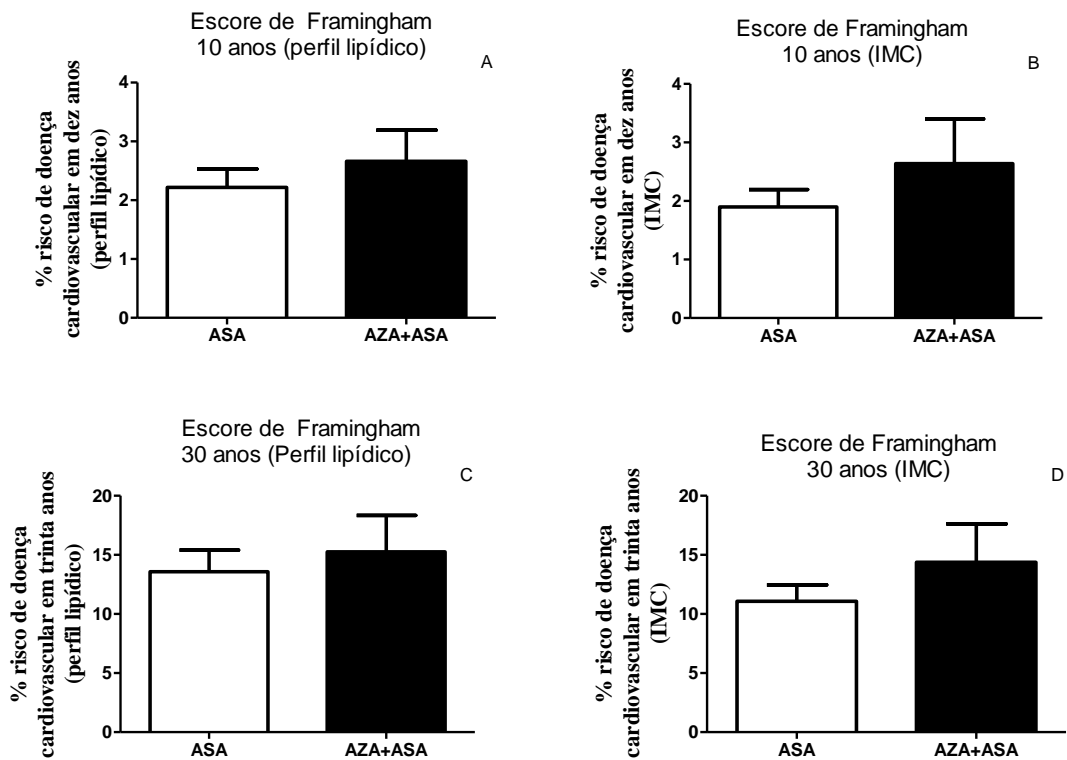


Figura 9: Risco relativo de doença cardiovascular em mulheres com RCU em remissão clínica, em uso de aminossalicilatos comparadas àquelas em uso de azatioprina e aminossalicilatos. (A) Escore de risco de Reynolds - $p=0,75^a$; (B) Risco relativo de DCV em dez anos considerando o perfil lipídico - $p=0,44^a$; (C) Risco relativo de DCV em dez anos considerando o IMC - $p=0,31^b$; (D) Risco relativo de DCV em trinta anos considerando o perfil lipídico - $p=0,62^b$; (E) Risco relativo de DCV em trinta anos considerando o IMC - $p=0,30^b$. ^aTeste de Wilcoxon; ^bTeste T Student pareado.

Comparando a ingestão alimentar entre as pacientes com RCU em remissão clínica, somente o consumo de lipídios e gordura saturada foi diferente entre os grupos, sendo maior naquele que faz uso exclusivo de aminossalicilatos para manutenção da remissão clínica. O consumo dos demais nutrientes foi semelhante entre os grupos (Tabela 11).

Tabela 11: Ingestão média de macro e micronutrientes pelo grupo com RCU em remissão clínica em uso de aminossalicilatos e pelo grupo com RCU em remissão clínica em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos

Nutrientes	RCU – ASA	RCU – AZA+ASA	p
Carboidrato (g)^a	202,1 ± 9,7	213,4 ± 7,4	0,91
Carboidrato (g/kg/dia)^b	3,5 ± 0,2	2,6 ± 0,4	0,15
Proteínas (g)^b	70,2 ± 5,5	71,3 ± 8,4	0,91
Proteínas (g/kg/dia)^b	1,2 ± 0,1	0,95 ± 0,2	0,27
Lipídios (g)^b	59,1 ± 4,6	40,4 ± 5,5	0,02
Gordura saturada (g)^b	20,9 ± 1,7	14,6 ± 3,3	0,004
Colesterol (mg)^b	250,9 ± 18,9	228,6 ± 35,7	0,55
Fibras (g)^b	16,6 ± 0,9	20,7 ± 1,4	0,09
Cálcio (mg)^a	421,3 ± 58,7	374,6 ± 58,1	0,13
Ferro (mg)^a	7,5 ± 0,5	7,0 ± 1,1	0,97
Sódio (mg)^b	2364,0 ± 303,0	2786,0 ± 359,7	0,55
Potássio (mg)^b	1904,0 ± 157,7	2094,0 ± 213,7	0,47
Zinco (mg)^b	9,4 ± 0,8	9,2 ± 2,2	0,95
Vitamina C (mg)^a	94,5 ± 35,4	104,1 ± 37,8	0,64
Vitamina A (µg)^b	261,3 ± 55,1	244,9 ± 364,6	0,14

ASA: grupo com RCU em tratamento com aminossalicilatos para manutenção da remissão clínica. AZA+ASA: grupo com RCU em tratamento com azatioprina e aminossalicilatos para manutenção da remissão clínica. ^aTeste de Mann Whitney; ^bTeste *T de Student*.

7. DISCUSSÃO

Este é o primeiro trabalho que avalia o risco de DCV em mulheres com RCU, na fase de remissão e associa o tratamento medicamentoso da doença com o risco de DCV.

As participantes com RCU estavam em remissão clínica, confirmada pelos níveis de PCR e VHS; ausência de leucocitose, febre, sangramento e muco nas fezes; pulso e temperatura normais, hábito intestinal normal e tratamento medicamentoso para manutenção da remissão da doença. Esses parâmetros não se enquadram nos critérios propostos por Truelove e Witts (1955)²⁹ o qual classifica o grau de atividade da doença, reforçando que as pacientes estão em remissão clínica da doença.

Na população com RCU atendida no Ambulatório de Intestino do Instituto Alfa de Gastroenterologia do HC/UFMG observou-se maior prevalência da doença em mulheres (64,6%), condição que vem sendo observada em outros estudos^{15; 17; 116}. Além disso, é possível observar a elevada prevalência de outras doenças além da RCU, tanto nas mulheres (24,7%) como nos homens (27,4%), fator que impossibilitou o recrutamento desses indivíduos para o presente estudo. Dentre as doenças concomitantes a RCU, a prevalência de foi de HAS, DM, dislipidemia e doenças coronarianas (dados não mostrados), evidenciando que esses pacientes têm maior risco de DCV por já estarem expostos a um fator desencadeante da DCV.

A idade média das mulheres com RCU foi $37,8 \pm 2,4$ anos para o grupo ASA e $37,8 \pm 3,4$ anos para o grupo AZA+ASA e ambos os grupos foram pareados por idade a um grupo controle saudável, com o intuito de comparar grupos com características gerais e faixa etária homogêneas.

A duração da doença foi semelhante entre os grupos RCU. A duração da doença é um dado importante, pois quanto maior o tempo de doença, maior a exposição a agentes inflamatórios e o grau de inflamação⁸³, sugerindo maior risco de desenvolvimento de aterosclerose precoce, considerando a importante relação entre inflamação e aterosclerose.

Considerando os hábitos de vida, nenhuma participante relatou o uso de tabaco, um importante fator de risco para DCV. Ao avaliar o consumo de bebidas alcoólicas observou-se que grande parte das participantes do grupo controle saudável consumia bebida alcoólica, hábito pouco relatado pelas participantes com

RCU. A ingestão de bebida alcóolica no grupo controle saudável foi limitada a uma frequência de 1 a 2 vezes por semana, sendo representado por cervejas e bebidas destiladas (vinhos). Por sua vez os grupos RCU não consomem bebida alcóolica em sua rotina, provavelmente devido aos efeitos agressivos do álcool sobre a mucosa inflamada bem como em decorrência do uso contínuo de medicamentos por esse grupo. Essa prática contribui para melhor preservação da mucosa intestinal neste grupo e reduz um pouco a exposição a fatores que contribuem para o desenvolvimento das DCV.

Com relação a atividade física ambos os grupos com RCU são sedentários. A inatividade física é um fator de risco para DCV e contribui para mudanças na composição corporal refletindo em aumento do tecido adiposo, redução das massas muscular e óssea e aumento da secreção de mediadores inflamatórios, decorrente da expansão do tecido adiposo. A prática regular de atividade física pode exercer efeitos antiinflamatórios, reduzindo o tecido adiposo visceral e a inflamação sistêmica. O exercício físico é capaz de estimular a produção de miocinas, moléculas capazes de reagir com citocinas e quimiocinas, reduzindo o processo inflamatório⁶.

O uso do inibidor da bomba de prótons, Omeprazol, foi observado somente nos grupos com RCU e sua prescrição é decorrente dos efeitos colaterais provocados pelos medicamentos utilizados na manutenção da remissão da doença. A suplementação com vitaminas e minerais também foi observada nesse grupo e pode ser decorrente da baixa ingestão de vegetais e frutas pelas pacientes, os quais são importantes fontes de vitaminas, especialmente do complexo B bem como de minerais.

O peso corporal foi semelhante entre os grupos RCU e seus respectivos controles pareados, mantendo esse perfil quando os grupos RCU foram comparados entre si. Esse resultado era esperado considerando que as pacientes estão em fase de remissão, com ausência de diarreia e de má-absorção intestinal, condições que podem ser vistas durante a atividade da doença e que afetam diversos parâmetros antropométricos, dentre eles o peso corporal. Embora o peso e a estatura tenham sido semelhantes entre os grupos, somente o grupo AZA+ASA apresentou IMC maior que o grupo controle. No estudo de Rocha et al (2009)⁴⁸ os pacientes com RCU em remissão apresentaram IMC dentro dos parâmetros de normalidade e semelhante ao grupo controle, provavelmente em decorrência da fase da doença. A

circunferência da cintura também foi maior no grupo AZA+ASA comparado ao controle evidenciando a presença de um importante fator de risco para DCV nesse grupo¹¹⁷.

A avaliação da composição corporal é fundamental uma vez que o IMC pode apresentar conclusões imprecisas, não refletindo a real quantidade de gordura corporal e massa livre de gordura^{44; 49}. O percentual de gordura corporal foi maior nos grupos RCU comparados aos seus controles saudáveis, sugerindo uma expansão do tecido adiposo nesses grupos. O aumento do tecido adiposo pode ser decorrente: (1) do uso pregresso e/ou prolongado de glicocorticoides, para indução da remissão da doença, considerando que segundo os registros no prontuário das pacientes, todas as participantes, em algum momento de sua história clínica, fizeram uso desses medicamentos para tratamento da RCU. Os corticoides são capazes de promover alterações sobre a resposta lipolítica, promovendo alterações na quantidade e na distribuição da gordura corporal^{11; 36; 37; 38}; (2) da inatividade física^{6; 44; 118}; (3) de hábitos alimentares especialmente antes do diagnóstico de RCU e no decorrer do tratamento da doença. Muitas vezes, os pacientes com RCU optam por dietas de alta densidade calórica, ricas em carboidratos, lipídios e proteínas, reduzindo ou até mesmo evitando o consumo de alimentos fontes fibras, como as frutas e vegetais, alimentos de baixa densidade calórica e alto valor nutritivo. Essas modificações nos hábitos alimentares também podem contribuir para a expansão do tecido adiposo. A interação entre esses fatores potencializa ainda mais o aumento do tecido adiposo e a redução da massa livre de gordura. Rodrigues et al (2012)⁴⁹ observaram que em DC, ocorre uma hipertrofia do tecido adiposo, independente da atividade da doença e das medicações em uso, com aumento do infiltrado de células mononucleares, especialmente monócitos/macrófagos no tecido adiposo além do aumento do número de adipócitos com o diâmetro anormalmente reduzido. No entanto, os autores não sugerem possíveis mecanismos para essa expansão do tecido adiposo vista em DC.

O aumento da gordura corporal está associado com maior risco para DCV e parece contribuir para induzir a agudização da DII, devido à maior liberação de mediadores inflamatórios^{44; 49; 50; 117}. A expansão do tecido adiposo por si só estimula o recrutamento de leucócitos levando ao aumento do infiltrado inflamatório nesse tecido, especialmente de macrófagos, resultando na maior secreção de mediadores

pró-inflamatórios como IL-6, TNF, leptina e MCP-1^{6; 23; 50; 66}, podendo favorecer a agudização da DII.

Assim como Rocha et al (2009)⁴⁸ que avaliou a composição corporal em DII, nesse estudo, também foi observada a redução da massa livre de gordura em ambos os grupos com RCU, comparados ao seu controle pareado, sugerindo modificações nas massas muscular e óssea e também no estado de hidratação. O uso pregresso de glicocorticoides pode desencadear efeitos a longo prazo e de grande repercussão, incluindo a inibição da síntese proteica, aumento do catabolismo do músculo esquelético e redução da atividade de osteoblastos com aumento da ação dos osteoclastos^{11; 36; 37; 38; 44; 47; 119}. Níveis elevados de IL-6 também parecem estimular o desenvolvimento de osteoclastos e inibir os osteoblastos⁴⁷, reduzindo a massa óssea, a qual, também pode ser afetada pela baixa ingestão de cálcio. O aumento dos níveis de citocinas circulantes contribui para o desvio dos aminoácidos para produção de mediadores inflamatórios, levando à diminuição da síntese proteica e da massa muscular, processos que também podem ser agravados pela ingestão insuficiente de proteínas, resultando em redução da massa muscular, fraqueza, fadiga, diminuição dos níveis de albumina e desnutrição^{27; 44; 48}. Assim, uma avaliação nutricional detalhada de pacientes com RCU na fase de remissão é fundamental para caracterizar seu estado nutricional e promover a adequada intervenção nutricional para restabelecer o estado nutricional e assegurar saúde e melhor qualidade de vida para os pacientes.

Quando o grupo tratado com ASA foi comparado ao grupo tratado com AZA+ASA, o teor de massa livre de gordura neste último foi maior, evidenciando melhor estado nutricional. Embora também seja um grupo sedentário, a melhor regulação da doença promovida pela azatioprina e evidenciada pela melhora de marcadores inflamatórios parece contribuir para melhor preservação da massa magra, especialmente da massa muscular, visto que não há necessidade de desvio de proteínas para produção de mediadores de inflamação.

Quando avaliamos a concentração de proteínas totais observa-se que o grupo tratado com ASA apresenta aumento desse marcador comparado tanto ao grupo controle quanto ao grupo AZA+ASA. Isso é decorrente do aumento da globulina também observado nesse grupo, refletindo assim, o estado inflamatório desses pacientes. Quando comparamos o grupo AZA+ASA ao seu controle, observa-se que os níveis de proteínas totais e suas frações são semelhantes entre os grupos,

sugerindo que a adição de azatioprina ao tratamento da RCU é capaz de promover melhor regulação do processo inflamatório, resultando em menor produção de imunoglobulinas em geral e conseqüentemente, manutenção dos níveis normais de proteínas totais circulantes. Quando os dois grupos com RCU são comparados, observa-se que o grupo tratado somente com o aminossalicilato apresenta níveis maiores de proteínas totais, especificamente de sua fração globulina, sugerindo novamente que a adição de azatioprina ao tratamento da RCU promove melhor regulação da inflamação, reduzindo a produção de imunoglobulinas, importante marcador inflamatório. Por sua vez, o aumento dos níveis de globulinas infere maior produção de anticorpos pelas células B ou plasmócitos, especialmente de anticorpos anticitocinas, numa tentativa de reduzir o teor de citocinas circulantes e reduzir a inflamação.

Os níveis de albumina apresentaram-se reduzidos somente no grupo ASA comparado ao seu controle. A albumina é um marcador de desnutrição e pacientes com doenças crônicas como a RCU podem sofrer frequentes reduções nos níveis de albumina, possivelmente em decorrência do estado catabólico, baixa ingestão proteica, redução da síntese hepática de albumina, desvio de aminoácidos para produção de outras proteínas de maior prioridade e relevância em processos inflamatórios crônicos tais como citocinas e quimiocinas e para produção de novas células¹²⁰.

O aumento da pressão arterial é um fator de risco para DCV¹¹ e no presente estudo, embora dentro dos parâmetros de normalidade propostos pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (2010), a pressão arterial foi maior nos grupos com RCU comparados a seus controles. Alterações na pressão arterial podem ser um reflexo do uso pregresso de corticoides. No entanto, citocinas como a IL-6 e TNF parecem contribuir para a ativação do sistema renina-angiotensina resultando em aumento dos níveis pressóricos. A baixa ingestão de cálcio dietético também pode refletir em aumento da pressão arterial, uma vez que a baixa ingestão de cálcio parece estar envolvida em alterações nos níveis pressóricos enquanto o consumo adequado de cálcio e a manutenção dos seus níveis normais no organismo contribuem para a regulação da pressão arterial^{59; 121; 122}. Em DII o aumento dos níveis tensoriais vem sendo relatado, especialmente quando esse grupo é comparado ao um grupo controle, sem a doença^{82; 123}. Segundo Gandhi et al (2012)¹¹ o aumento da pressão

arterial reflete em maior risco para o desenvolvimento de DCV, especialmente na população com DII.

No presente trabalho não foram observadas alterações no perfil lipídico entre os grupos em estudo, provavelmente devido à ingestão semelhante de colesterol e gorduras saturadas. Estudos têm relatado que em DII não há alterações consideráveis no perfil de lipoproteínas, evidenciando que o risco de DCV nesses pacientes não é decorrente de alterações nesse fator de risco tradicional para DCV⁸³. No entanto, embora não haja diferença no perfil lipídico, alterações na permeabilidade vascular desencadeadas por citocinas pró-inflamatórias, ON e PCR, podem favorecer a maior migração da LDL para a íntima da artéria e sua oxidação e conseqüentemente aumento da diapedese de leucócitos, especialmente de monócitos, guiados pela maior secreção de MCP-1, contribuindo para a formação da placa de aterosclerose e o estabelecimento de DCV.

A glicemia também foi semelhante entre os grupos nesse estudo, resultado também encontrado por Zanolli et al (2012)⁸³. De acordo com esse autor, a prevalência de fatores de risco tradicionais para DCV como dislipidemia e diabetes, em pacientes com DII, é baixa. De modo geral, esses pacientes apresentam baixos níveis de lipídios séricos, glicemia normal, em geral não são tabagistas e etilistas (visto os impactos do tabaco e do álcool na DII) e podem apresentar IMC dentro do faixa de normalidade ou discretamente alterado, sugerindo que o risco aumentando para DCV relatado em outros trabalhos está relacionado com a inflamação crônica, não com os fatores de risco tradicionais^{33; 74; 84}.

A hemoglobina também foi avaliada nesse estudo devido a sua relação com o desenvolvimento de eventos isquêmicos em pacientes com DII, previamente relatado por Yarur et al (2011)⁸⁴. As pacientes com RCU apresentaram níveis semelhantes de hemoglobina comparadas ao grupo controle. A ingestão semelhante de ferro entre os grupos RCU e seus controles contribui para a manutenção dos níveis normais de hemoglobina. Além disso, as pacientes com RCU estão remissão clínica e não apresentam perda visível de sangue nas fezes, o que contribui para boa manutenção dos níveis desse marcador no sangue. Em processos inflamatórios crônicos, níveis elevados de citocinas também podem influenciar a síntese da hemoglobina e conseqüentemente reduzir sua produção⁴³, contribuindo para o desenvolvimento de eventos isquêmicos.

A contagem total de leucócitos foi semelhante entre todos os grupos em estudo. A contagem diferencial de leucócitos também foi semelhante, exceto a contagem de linfócitos no grupo AZA+ASA que foi menor comparado ao grupo tratado somente com ASA.

Embora os níveis circulantes de monócitos estejam semelhantes entre os grupos em estudo, o aumento da secreção de MCP-1, cuja produção pode ser proveniente do tecido adiposo, da mucosa do cólon e/ou do endotélio vascular pode contribuir para migração dos monócitos para esses diferentes sítios e suas diferenciação em macrófagos. Macrófagos exercem funções importantes na DII, na DCV e na expansão do tecido adiposo. A expansão do tecido adiposo e aumento do infiltrado inflamatório de macrófagos nesse tecido contribuem para maior secreção de citocinas inflamatórias como IL-6, TNF e da quimiocina MCP-1, os quais podem exercer ações locais ou atingir a corrente sanguínea desenvolvendo ações sistêmicas^{6; 52}. Em DII os macrófagos derivados de monócitos circulantes e as células TCD4+ atuam na manutenção do processo inflamatório, secretando IL-6, TNF e IL-1 β que aumentam o recrutamento dos leucócitos para a lesão da mucosa e perpetuação da inflamação, mesmo durante a fase de remissão^{7; 19}. Em DCV, os monócitos/macrófagos desempenham papel primordial na iniciação da formação das estrias gordurosas e no desenvolvimento da placa de aterosclerose. O macrófago é o principal responsável pela captação da LDLox e formação das células espumosas, componente fundamental do ateroma. Esse macrófago é capaz de produzir e secretar citocinas que alteram a permeabilidade vascular, aumentam a expressão de moléculas de adesão e recrutam novos leucócitos para a área da lesão aterosclerótica contribuindo para sua expansão⁷⁰. Essas citocinas também podem atingir a circulação sistêmica desencadeando sua ação em outras partes do organismo.

A redução da contagem de linfócitos no grupo AZA+ASA pode ser em decorrência do efeito imunossupressor da azatioprina proveniente de sua capacidade de induzir apoptose nas células⁴¹. Nossa hipótese é que a azatioprina age preferencialmente sobre linfócitos, em especial, sobre as células TCD4+ e TCD8+, sugerindo que essa droga possa exercer um “mecanismo de seleção entre os linfócitos”, preservando as células T regulatórias e células B, importantes produtoras de IL-10 e TGF- β , mediadores antiinflamatórios que estão elevados somente no grupo tratado com azatioprina.

Os níveis de PCR e VHS, marcadores de inflamação e preditores da atividade da RCU^{11; 117} estavam aumentados no grupo ASA comparado ao seu controle. As pacientes do grupo AZA+ASA também apresentaram aumento dos níveis de PCR comparado ao controle e quando os grupos com RCU foram comparados, os níveis de PCR foram semelhantes. De acordo com Kayahan et al (2012)², pacientes com RCU, independente do estágio da doença, apresentam níveis aumentados desses marcadores de inflamação comparados a indivíduos sem a doença, em decorrência da presença de uma inflamação crônica. A PCR é uma proteína de fase aguda cuja produção hepática é estimulada por citocinas inflamatórias, especialmente IL-6 e TNF¹¹⁷, o que justifica seu aumento nos grupos ASA e AZA+ASA comparados aos seus respectivos controles. A PCR está relacionada com o aumento da expressão de moléculas de adesão e consequente migração de leucócitos para a íntima da artéria bem como para outros tecidos, estimula a captação de LDL por macrófagos e a secreção de citocinas pró-inflamatórias, contribuindo para o desenvolvimento da aterosclerose^{6; 50; 60; 86} evidenciando que o aumento dos níveis de PCR nos grupos com RCU é um importante preditor do risco de DCV nesses grupos, independente do tratamento medicamentoso. Ainda nesse sentido, a PCR também induz alterações no endotélio vascular intestinal, contribuindo para maior migração de leucócitos e produção de citocinas pró-inflamatórias, mantendo a inflamação na DII e aumentando o risco de DCV nesse grupo¹¹. Quando os grupos com RCU foram comparados entre si, os níveis de PCR foram são semelhantes, no entanto, ambos os grupos têm elevados níveis séricos de citocinas inflamatórias, especialmente de IL6, que estimula a produção da PCR.

Quando avaliamos os níveis de VHS, ou seja, a velocidade na qual o sangue sedimenta, intimamente relacionada com o teor de fibrinogênio sérico (importante marcador de doença cardiovascular), observa-se que mesmo havendo níveis semelhantes de fibrinogênio entre todos os grupos estudados, o grupo tratado com ASA apresentou níveis elevados de VHS comparado ao seu controle, no entanto, o grupo AZA+ASA apresentou níveis semelhantes ao seu controle, sugerindo que o tratamento com azatioprina melhora o perfil de VHS, provavelmente devido ao melhor controle do processo inflamatório promovido pelo medicamento. O mesmo é encontrado quando os grupos com RCU são comparados, onde o grupo AZA+ASA apresenta níveis de VHS menores que o grupo ASA, sugerindo uma importante participação da azatioprina nesse processo de regulação.

Os níveis de ON circulantes foram maiores nos grupos RCU comparados a seus controles pareados. O aumento de citocinas inflamatórias induz maior expressão de iNOS no intestino inflamado, no tecido adiposo⁶⁷ e em monócitos circulantes⁹⁹, resultando em maior produção e liberação de ON e consequente formação de radicais livres como peroxinitrito. Assim, o ON pode induzir alterações na integridade do endotélio e na pressão arterial, aumento da adesão de leucócitos e produção de células musculares lisas além de estimular a secreção de citocinas inflamatórias em um ciclo vicioso, elevando o estresse oxidativo e contribuindo para o desenvolvimento da aterosclerose^{36; 97; 100; 101}.

Níveis elevados de anticorpos IgG anti-LDLox foram encontrados nas mulheres com RCU quando comparadas ao controle. A oxidação da LDL gera epitopos antigênicos que estimulam a produção e secreção de anticorpos anti LDLox, refletindo indiretamente no aumento da fração de globulinas e sugerindo maior oxidação de LDL no organismo, consequentemente, maior risco de aterosclerose neste grupo^{60; 72}. A oxidação da LDL é o evento chave no desenvolvimento da placa aterosclerótica e a produção de anticorpos IgG anti-LDLox tem forte relação com aterogênese⁷². O aumento do estresse oxidativo, evidenciado por maiores níveis de ON circulantes contribui para liberação de mediadores inflamatórios, oxidação da LDL e alterações na pressão arterial, favorecendo o desenvolvimento de aterosclerose e DCV.

Níveis de citocinas designadas inflamatórias e anti-inflamatórias foram avaliados nesse estudo, apresentando alterações em sua concentração sérica. No grupo com RCU tratado com aminossalicilatos observou-se o aumento de IL-6 e MCP-1, comparado ao grupo controle. Quando avaliamos o perfil de citocinas do grupo AZA+ASA comparado ao seu controle é possível observar o aumento de IL-6, TNF e MCP-1 marcadores de inflamação, bem como de IL-10 e TGF- β , mediadores com propriedades anti-inflamatórias, os quais buscam atingir a homeostase, compensando o aumento dos marcadores de inflamação²⁰. Isso sugere que a terapia combinada de azatioprina e aminossalicilatos é capaz de controlar mais efetivamente o processo inflamatório nesse grupo como uma tentativa de regulação da inflamação. Quando os dois grupos com RCU foram comparados entre si, observou-se que o grupo tratado com azatioprina (AZA+ASA) apresentou aumento de IL-6 e TNF bem como de IL-10 e TGF- β evidenciando, novamente, o papel da azatioprina no tratamento da doença e na regulação do processo inflamatório.

Assim, sugere-se que pacientes tratados com azatioprina, apresentam melhor regulação da inflamação, aumento de marcadores anti-inflamatórios e menor risco de desenvolver aterosclerose e DCV comparados aos indivíduos com RCU tratados exclusivamente com aminossalicilatos, considerando a importância da inflamação no desenvolvimento dessas doenças.

A produção aumentada de citocinas pró e anti-inflamatórias pode ser proveniente dos adipócitos e macrófagos do tecido adiposo, de células circulantes, da mucosa intestinal inflamada bem como do endotélio vascular e até mesmo da placa de aterosclerose que pode estar sendo desenvolvida. Segundo Ponemone et al (2010)²³ indivíduos com DII apresentam um tecido adiposo mesentérico inflamado com maior secreção de citocinas inflamatórias. Em DC já é bem descrito que células mononucleares circulantes, células endoteliais e fibroblastos contribuem para o aumento de citocinas no sangue^{20; 56; 57}.

IL-6 e MCP-1 são importantes marcadores de desenvolvimento de DCV. A IL-6 é uma citocina produzida por extenso número de células do sistema imune, adipócitos, fibroblastos e células endoteliais, sendo que o tecido adiposo é capaz de contribuir com cerca de 30% da concentração de IL-6 circulante^{56; 57}. Níveis elevados de IL-6 aumentam a expressão de moléculas de adesão e a permeabilidade vascular, contribuindo para o desenvolvimento da aterosclerose, além de refletirem uma inflamação crônica sistêmica característica da DII e importante no processo de aterogênese^{18; 57; 59; 124}. A IL-6 também é capaz de induzir maior expressão de receptores scavenger CD36 e SR-A1, maior captação de LDLox e formação de células espumosas além de aumentar a proliferação de células musculares lisas, contribuindo claramente para o desenvolvimento e expansão da placa de aterosclerose^{18; 57; 93; 94; 124}. Outra ação pró-aterogênica da IL-6 envolve sua interação com o receptor solúvel para IL-6, mecanismo que altera a função endotelial e contribui para o enrijecimento da artéria, reforçando seu papel no desenvolvimento e progressão da aterosclerose¹²⁴.

O aumento dos níveis de IL-6 circulantes influencia na DII, visto que essa citocina exerce um papel chave na manutenção da DII. A IL-6 ativa a via de sinalização de STAT3 por dois mecanismos diferentes resultando no aumento da expressão dos genes anti-apoptóticos Bcl-2 e Bcl-xl, reduzindo a apoptose de células T na lâmina própria e aumentando sua concentração na mucosa intestinal, mecanismo chave para manutenção da inflamação crônica em DII. Isso resulta em

maior liberação de mediadores inflamatórios na mucosa e recrutamento de leucócitos para esse sítio, amplificando o processo inflamatório^{18; 19; 20; 23; 24}. Em aterosclerose, questiona-se se a IL-6 poderia desencadear um mecanismo semelhante, contribuindo para a expansão da lesão aterosclerótica.

Os níveis de TNF foram aumentados no grupo AZA+ASA quando comparado ao seu controle pareado e ao grupo ASA. Essa citocina exerce efeitos pró-inflamatórios sendo secretada por macrófagos e linfócitos e em menores quantidades pelos adipócitos. O TNF participa do processo inflamatório através do recrutamento e ativação de células inflamatórias perpetuando a inflamação, além de interagir com outras citocinas induzindo maior produção de proteínas de fase aguda como a PCR e aumentar o catabolismo. Diversos trabalhos relatam que o TNF tem ação fundamental no desenvolvimento da aterosclerose, uma vez que ele induz a produção de ON via iNOS e a expressão de moléculas de adesão, resultando em maior migração de leucócitos para a íntima da artéria, gerando disfunção endotelial; aumenta o estresse oxidativo e a oxidação da LDL além de induzir a produção de outras citocinas inflamatórias como a IL-1 β e quimiocinas^{20; 57; 61; 62; 63; 94; 125}.

A quimiocina MCP-1 tem como função principal promover o recrutamento de monócitos da circulação para os diversos sítios onde ocorre a inflamação, especialmente para a íntima da artéria, contribuindo para aterosclerose⁶⁰ mas também pode estimular a migração dos monócitos para o tecido adiposo, contribuindo para sua expansão e para mucosa gastrointestinal afetada pela RCU, intensificando a inflamação nesses tecidos.

A IL-10 é uma citocina produzida por macrófagos, células Th2, células T reguladoras e células B. Exerce papel inibidor sobre a ação de citocinas pró-inflamatórias especialmente TNF, IL-1 β e IL-6²⁰, em busca da homeostase. A IL-10 interfere na interação célula-célula e conseqüentemente na liberação de mediadores inflamatórios (citocinas e quimiocinas), reduzindo a ativação de células imunes. Ela também é capaz de induzir a produção de anticorpos anti-citocinas, contribuindo para redução dos níveis de mediadores inflamatórios circulantes^{126; 127}. Assim, a IL-10 busca promover a homeostase e parece proteger ou retardar o desenvolvimento da aterosclerose além de contribuir para a homeostase intestinal e manutenção do quadro de remissão em DII.

O aumento dos níveis de TGF- β visto no grupo AZA+ASA comparado ao seu controle e ao grupo ASA também sugere um efeito imunomodulador da azatioprina,

na tentativa de regular o processo inflamatório e alcançar a homeostase intestinal. O TGF- β tem importante papel em DII pois contribui para a cicatrização da mucosa ulcerada e preserva a integridade da mucosa intestinal. Além disso, o TGF- β modula a ativação de células endoteliais e musculares lisas e a função de células Th1, reduzindo a inflamação. Em aterosclerose, estudos realizados com animais mostram que o TGF- β reduz o infiltrado de células T na lesão aterosclerótica e induz a produção de colágeno, contribuindo para maior estabilidade da placa, exercendo assim efeitos anti-aterogênicos e cardioprotetores^{60; 128; 129}.

Ambos os grupos com RCU apresentaram baixa ingestão de carboidratos enquanto somente o grupo AZA+ASA ingeriu menor teor de gorduras. Quando os grupos com RCU foram comparados entre si observou-se maior ingestão de lipídios totais na dieta, especialmente de ácidos graxos saturados no grupo ASA. A baixa ingestão de alguns nutrientes pelas pacientes com RCU pode ser decorrente da eliminação de diversos alimentos da dieta devido ao medo de se alimentar, presença de dor abdominal, irritação gástrica ou devido ao tratamento medicamentoso realizado e seus efeitos colaterais (náuseas, anorexia) ou mesmo em decorrência do aumento de mediadores inflamatórios circulantes, que desencadeiam anorexia^{6; 11; 120}. A ingestão elevada de gordura saturada pode ser prejudicial em RCU. Segundo Leone et al³ uma dieta rica em gordura saturada e carboidratos simples parece contribuir para o desenvolvimento da DII e manutenção do processo inflamatório na doença já instalada, uma vez que esses nutrientes parecem contribuir para mudanças na composição da microbiota intestinal, tanto em sua taxonomia como em sua função, criando um ambiente propício para a inflamação, intensificando o processo inflamatório.

O consumo de cálcio foi menor em ambos os grupos com RCU comparados ao seus controles. Essa redução pode estar relacionada ao medo de ingerir leite e seus derivados e ao desenvolvimento parcial de intolerância à lactose em algumas pacientes. A baixa ingestão de cálcio contribui para a redução da massa óssea e desenvolvimento de osteopenia/osteoporose além de contribuir para alterações na pressão arterial, uma vez que a baixa ingestão de cálcio proveniente da dieta está associada com aumento da pressão arterial e maior risco de desenvolvimento de HAS¹²².

O consumo reduzido de fibras foi observado somente no grupo ASA. As fibras são essenciais na regulação da absorção de colesterol, gorduras saturadas e outros

nutrientes bem como na reabsorção de ésteres de colesterol, contribuindo assim para a manutenção do perfil lipídico e prevenção a DCV. A ingestão deficiente desse nutriente pode deixar as pacientes mais propensas ainda às DCV. A melhor regulação do processo inflamatório visto no grupo AZA+ASA pode ter sido favorecido ainda pelos hábitos alimentares, incluindo baixo consumo de macronutrientes relacionados com a inflamação (gordura saturada) e consumo de fibras semelhante ao grupo controle.

O escore de risco de Framingham permite avaliar o risco para desenvolvimento de DCV em 10 e 30 anos, correlacionando diversos fatores de risco para DCV. A análise do escore de risco de Framingham incluiu variáveis como sexo, idade e fatores de risco tradicionais para DCV e foi determinado para um período de 10 e 30 anos. Mesmo com ausência de pacientes com diagnóstico de DM e HAS ou em tratamento para essas doenças, nosso estudo mostrou que o risco de DCV foi maior nos grupos com RCU, quando comparados a seus pares, sugerindo maior risco de desenvolvimento de DCV em um período de 10 a 30 anos e essa condição pode ter sido favorecida pelo aumento dos níveis pressóricos, mesmo dentro dos parâmetros de normalidade preconizados para a população brasileira (pressão arterial <140/90mmHg). Embora somente o grupo AZA+ASA tenha apresentado aumento do IMC, ambos os grupos apresentaram maior risco relativo de DCV em 10 e 30 anos considerando esse parâmetro, destacando a importância da interação dos fatores de risco para DCV no desenvolvimento dessas doenças.

O uso de aminossalicilatos foi relatado em ambos os grupos com RCU neste estudo, sendo administrado isoladamente ou combinado ao imunossupressor azatioprina. De acordo com Rungoe et al (2013)³³, os aminossalicilatos são capazes de reduzir o risco de doença arterial isquêmica em decorrência de suas propriedades anti-inflamatórias e, quando associado a outros medicamentos como a azatioprina, o risco de doença arterial é menor ainda. No entanto, em nosso estudo, embora as pacientes estejam em remissão clínica e façam uso isolado de aminossalicilatos ou combinado ao imunossupressor, não há evidências de redução do risco de DCV nesses grupos, comparados ao controle saudável, uma vez que eles apresentam aumento de diversos marcadores de inflamação tais como citocinas, ON e PCR, além da expansão do tecido adiposo e aumento dos escores de risco de Framingham. Porém, semelhante ao relatado por Rungoe et al (2013)³³

nosso estudo evidenciou que a adição de azatioprina ao tratamento de manutenção da remissão clínica em RCU, reduz o risco de DCV no grupo AZA+ASA, visto que a azatioprina reduziu marcadores de inflamação e aumentou citocinas anti-inflamatórias, sugerindo maior proteção ao desenvolvimento de DCV neste grupo, quanto comparado ao grupo ASA. Nossa hipótese é que a associação da azatioprina ao tratamento com aminossalicilatos promoveu alterações no perfil inflamatório das pacientes com RCU provavelmente pelas drogas agirem em vias inflamatórias diferentes, resultando em bloqueio dessas vias de inflamação e regulação da cascata imuno-inflamatória. No entanto, não é possível conhecer se o uso isolado de azatioprina na manutenção da remissão em RCU produziria o mesmo efeito imunoregulador observado nesse estudo.

Diante dos dados obtidos neste trabalho, nós propusemos um mecanismo que visa explicar a relação entre DCV e RCU e o papel do tratamento medicamentoso nesse processo. Assim, pacientes com RCU que fizeram uso prévio de glicocorticoides, associado ao sedentarismo e hábitos dietéticos inadequados, em conjunto, favorecem a expansão do tecido adiposo. O aumento do tecido adiposo, associado a inflamação crônica na mucosa do cólon e a presença de células inflamatórias circulantes contribuem para o aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias e do estresse oxidativo, resultando em mudanças na permeabilidade vascular incluindo maior expressão de moléculas de adesão e disfunção endotelial. Esse quadro favorece ainda o desenvolvimento de complicações como o aumento da pressão arterial e maior migração de monócitos e outros leucócitos da circulação para a íntima da artéria. O aumento de citocinas inflamatórias, PCR e ON também contribuem para a oxidação da LDL, evento chave na formação do ateroma, a qual, por sua vez, induz a produção de anticorpos anti-LDL oxidada, refletindo indiretamente no aumento da concentração de globulinas. Em conjunto, esse perfil inflamatório favorece o desenvolvimento da placa de aterosclerose resultando em maior risco de DCV nas mulheres com RCU, mesmo em remissão clínica. Em contrapartida, a adição de azatioprina ao tratamento de manutenção da remissão feito com aminossalicilatos reduz linfócitos e marcadores de inflamação e aumenta marcadores anti-inflamatórios, reduzindo o risco de DCV neste grupo (Figura 10).

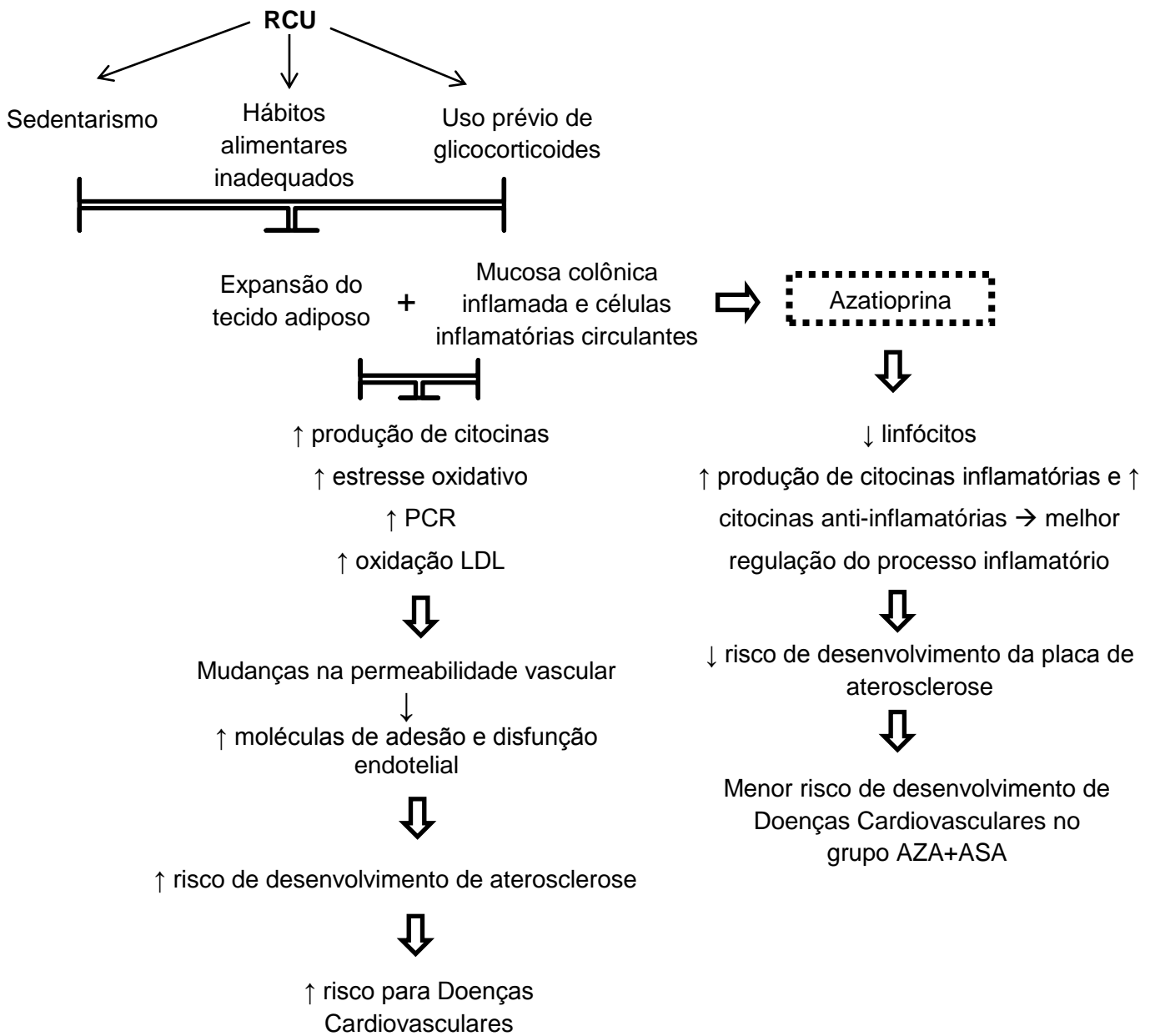


Figura 10: Mecanismo proposto para o aumento do risco de DCV em mulheres com RCU em remissão clínica tratadas com aminossalicilatos ou com azatioprina e aminossalicilatos. Mulheres com RCU apresentam sedentarismo, hábitos dietéticos inadequados e uso pregresso de glicocorticoides, fatores que levam ao aumento do tecido adiposo. A expansão do tecido adiposo e o processo inflamatório crônico no cólon levam ao aumento da produção de citocinas, PCR, estresse oxidativo e oxidação da LDL, causando alterações na permeabilidade vascular como aumento da expressão de moléculas de adesão e disfunção endotelial. Em conjunto estes fatores favorecem o desenvolvimento da aterosclerose e consequentemente maior risco para doenças cardiovasculares. Em contrapartida, mulheres tratadas com azatioprina associada aos aminossalicilatos apresentaram diminuição de linfócitos circulantes e aumento da produção de citocinas, inclusive anti-inflamatórias, evidenciando um mecanismo de regulação do processo inflamatório e redução do risco de desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares.

8 CONCLUSÃO

Em conclusão, as mulheres com RCU em remissão clínica apresentam pior perfil inflamatório e maior risco relativo de desenvolvimento de DCV em dez e trinta anos comparadas ao seu respectivo grupo controle saudável, sugerindo maior risco de desenvolvimento de aterosclerose e DCV nesses grupos. Por sua vez, mulheres tratadas com a azatioprina e aminossalicilatos apresentam melhor regulação do processo inflamatório e aumento dos níveis de citocinas anti-inflamatórias, reduzindo assim o risco de DCV nesse grupo comparado àquele tratado somente com aminossalicilatos.

REFERÊNCIAS

- 1 Aloji, M. et al. Premature subclinical atherosclerosis in pediatric inflammatory bowel disease. **J Pediatr**, v. 161, n. 4, p. 589-94.e1, Oct 2012. ISSN 1097-6833. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22579000> >.
- 2 Kayahan, H. et al. Evaluation of early atherosclerosis in patients with inflammatory bowel disease. **Dig Dis Sci**, v. 57, n. 8, p. 2137-43, Aug 2012. ISSN 1573-2568. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22466100> >.
- 3 Leone, V.; Chang, E. B.; Devkota, S. Diet, microbes, and host genetics: the perfect storm in inflammatory bowel diseases. **J Gastroenterol**, v. 48, n. 3, p. 315-21, Mar 2013. ISSN 1435-5922. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23475322> >.
- 4 Safarpour, A. R.; Hosseini, S. V.; Mehrabani, D. Epidemiology of Inflammatory Bowel Diseases in Iran and Asia; A Mini Review. **Iran J Med Sci**, v. 38, n. 2 Suppl, p. 140-149, Jun 2013. ISSN 0253-0716. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24031103> >.
- 5 Williams, H. R. et al. Serum metabolic profiling in inflammatory bowel disease. **Dig Dis Sci**, v. 57, n. 8, p. 2157-65, Aug 2012. ISSN 1573-2568. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22488632> >.
- 6 Bilski, J. et al. The impact of physical activity and nutrition on inflammatory bowel disease: the potential role of cross talk between adipose tissue and skeletal muscle. **J Physiol Pharmacol**, v. 64, n. 2, p. 143-55, Apr 2013. ISSN 1899-1505. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23756389> >.
- 7 Leal, R. F. et al. Toll-like receptor 4, F4/80 and pro-inflammatory cytokines in intestinal and mesenteric fat tissue of Crohn's disease. **Int J Clin Exp Med**, v. 6, n. 2, p. 98-104, 2013. ISSN 1940-5901. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23386912> >.
- 8 Oliveira, F. M.; Emerick, A. P.; Soares, E. G. [Epidemiology aspects of inflammatory bowel disease in the east region of Minas Gerais State]. **Cien Saude Colet**, v. 15 Suppl 1, p. 1031-7, Jun 2010. ISSN 1678-4561. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20640259> >.
- 9 Victoria, C. R.; Sassak, L. Y.; Nunes, H. R. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in midwestern of São Paulo State, Brazil. **Arq Gastroenterol**, v. 46, n. 1, p. 20-5, 2009 Jan-Mar 2009. ISSN 1678-4219. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19466305> >.
- 10 Diseases, B. S. G. o. I. B. Consensus guidelines for the management of inflammatory bowel disease. **Arq Gastroenterol**, v. 47, n. 3, p. 313-25, 2010 Jul-Sep 2010. ISSN 1678-4219. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21140096> >.
- 11 Gandhi, S. et al. Are patients with inflammatory bowel disease at increased risk of coronary artery disease? **Am J Med**, v. 125, n. 10, p. 956-62, Oct 2012. ISSN 1555-7162. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22840916> >.

- 12 Kaser, A.; Zeissig, S.; Blumberg, R. S. Inflammatory bowel disease. **Annu Rev Immunol**, v. 28, p. 573-621, 2010. ISSN 1545-3278. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20192811> >.
- 13 Innis, S. M.; Jacobson, K. Dietary lipids in early development and intestinal inflammatory disease. **Nutr Rev**, v. 65, n. 12 Pt 2, p. S188-93, Dec 2007. ISSN 0029-6643. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18240547> >.
- 14 Magee, E. A. et al. Associations between diet and disease activity in ulcerative colitis patients using a novel method of data analysis. **Nutr J**, v. 4, p. 7, 2005. ISSN 1475-2891. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15705205> >.
- 15 Oliveira, F. M.; Emerick, A. P. d. C.; Guimarães, E. **Aspectos epidemiológicos das doenças inflamatórias intestinais na macrorregião de saúde leste do estado de Minas Gerais.**
- 16 Salviano, F. N. S.; Burgos, M. G. P. d. A.; Santos, E. C. **Perfil socioeconômico e nutricional de pacientes com doença inflamatória intestinal internados em um hospital universitário.** Arq de Gastroenterol. 44 2007.
- 17 Cohen, D.; Bin, C. M.; Fayh, A. P. Assessment of quality of life of patients with inflammatory bowel disease residing in Southern Brazil. **Arq Gastroenterol**, v. 47, n. 3, p. 285-9, 2010 Jul-Sep 2010. ISSN 1678-4219. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21140091> >.
- 18 Danese, S. et al. Biological agents for ulcerative colitis: hypes and hopes. **Med Res Rev**, v. 28, n. 2, p. 201-18, Mar 2008. ISSN 0198-6325. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17464967> >.
- 19 Atreya, R.; Neurath, M. F. Signaling molecules: the pathogenic role of the IL-6/STAT-3 trans signaling pathway in intestinal inflammation and in colonic cancer. **Curr Drug Targets**, v. 9, n. 5, p. 369-74, May 2008. ISSN 1873-5592. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18473764> >.
- 20 Klampfer, L. Cytokines, inflammation and colon cancer. **Curr Cancer Drug Targets**, v. 11, n. 4, p. 451-64, May 2011. ISSN 1873-5576. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21247378> >.
- 21 Strober, W.; Fuss, I. J. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. **Gastroenterology**, v. 140, n. 6, p. 1756-67, May 2011. ISSN 1528-0012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21530742> >.
- 22 Heimerl, S. et al. Alterations in intestinal fatty acid metabolism in inflammatory bowel disease. **Biochim Biophys Acta**, v. 1762, n. 3, p. 341-50, Mar 2006. ISSN 0006-3002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16439103> >.
- 23 Ponemone, V. et al. Apoptosis and inflammation: role of adipokines in inflammatory bowel disease. **Clin Transl Gastroenterol**, v. 1, p. e1, 2010. ISSN 2155-384X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23238652> >.

- 24 Mudter, J.; Neurath, M. F. Il-6 signaling in inflammatory bowel disease: pathophysiological role and clinical relevance. **Inflamm Bowel Dis**, v. 13, n. 8, p. 1016-23, Aug 2007. ISSN 1078-0998. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17476678> >.
- 25 Monajemi, H. et al. Inflammatory bowel disease is associated with increased mucosal levels of bactericidal/permeability-increasing protein. **Gastroenterology**, v. 110, n. 3, p. 733-9, Mar 1996. ISSN 0016-5085. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8608882> >.
- 26 Romanato, G. et al. Plasma lipids and inflammation in active inflammatory bowel diseases. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 29, n. 3, p. 298-307, Feb 2009. ISSN 1365-2036. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19035968> >.
- 27 Vilela, E. G. et al. Evaluation of inflammatory activity in Crohn's disease and ulcerative colitis. **World J Gastroenterol**, v. 18, n. 9, p. 872-81, Mar 2012. ISSN 1007-9327. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22408345> >.
- 28 Cardozo, W. S.; Sobrado, C. W. **Doença Inflamatória Intestinal**. 1. Barueri, SP: 2012.
- 29 TRUELOVE, S. C.; WITTS, L. J. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. **Br Med J**, v. 2, n. 4947, p. 1041-8, Oct 1955. ISSN 0007-1447. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13260656> >.
- 30 Kristensen, S. L. et al. Disease activity in inflammatory bowel disease is associated with increased risk of myocardial infarction, stroke and cardiovascular death--a Danish nationwide cohort study. **PLoS One**, v. 8, n. 2, p. e56944, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23457642> >.
- 31 Kristensen, S. L. et al. Increased risk of atrial fibrillation and stroke during active stages of inflammatory bowel disease: a nationwide study. **Europace**, v. 16, n. 4, p. 477-84, Apr 2014. ISSN 1532-2092. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24108228> >.
- 32 Kristensen, S. L. et al. Inflammatory Bowel Disease Is Associated With an Increased Risk of Hospitalization for Heart Failure: A Danish Nationwide Cohort Study. **Circ Heart Fail**, Jul 2014. ISSN 1941-3297. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25052190> >.
- 33 Rungoe, C. et al. Risk of ischaemic heart disease in patients with inflammatory bowel disease: a nationwide Danish cohort study. **Gut**, v. 62, n. 5, p. 689-94, May 2013. ISSN 1468-3288. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22961677> >.
- 34 Pariente, B.; Laharie, D. Review article: why, when and how to de-escalate therapy in inflammatory bowel diseases. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 40, n. 4, p. 338-53, Aug 2014. ISSN 1365-2036. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24957164> >.
- 35 Rang, H. et al. **Farmacologia**. 7. 2012. ISBN 9788535241723.
- 36 Perner, A.; Rask-Madsen, J. Review article: the potential role of nitric oxide in chronic inflammatory bowel disorders. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 13, n. 2, p. 135-44, Feb 1999. ISSN 0269-2813. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10102942> >.

- 37 Curkovic, I.; Egbring, M.; Kullak-Ublick, G. A. Risks of inflammatory bowel disease treatment with glucocorticosteroids and aminosalicylates. **Dig Dis**, v. 31, n. 3-4, p. 368-73, 2013. ISSN 1421-9875. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24246990> >.
- 38 Ma, K. et al. Glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy is associated with upregulation of myostatin gene expression. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 285, n. 2, p. E363-71, Aug 2003. ISSN 0193-1849. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12721153> >.
- 39 Martins, C.; Moreira, S.; Pierosan, S. **Interações droga-nutriente**. 2. 2003. ISBN 9788589654012.
- 40 Scheffert, J. L.; Raza, K. Immunosuppression in lung transplantation. **J Thorac Dis**, v. 6, n. 8, p. 1039-53, Aug 2014. ISSN 2072-1439. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25132971> >.
- 41 Thomas, A.; Lodhia, N. Advanced therapy for inflammatory bowel disease: a guide for the primary care physician. **J Am Board Fam Med**, v. 27, n. 3, p. 411-20, 2014 May-Jun 2014. ISSN 1557-2625. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24808120> >.
- 42 Konidari, A.; Matary, W. E. Use of thiopurines in inflammatory bowel disease: Safety issues. **World J Gastrointest Pharmacol Ther**, v. 5, n. 2, p. 63-76, May 2014. ISSN 2150-5349. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24868487> >.
- 43 Cury, D. B.; Moss, A. C. **Doenças Inflamatórias Intestinais: retocolite ulcerativa e doença de Crohn**. 1. Rio de Janeiro: 2011.
- 44 Bryant, R. V. et al. Systematic review: body composition in adults with inflammatory bowel disease. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 38, n. 3, p. 213-25, Aug 2013. ISSN 1365-2036. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23763279> >.
- 45 James, P. T. Obesity: the worldwide epidemic. **Clin Dermatol**, v. 22, n. 4, p. 276-80, 2004 Jul-Aug 2004. ISSN 0738-081X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15475226> >.
- 46 Karmiris, K.; Koutroubakis, I. E.; Kouroumalis, E. A. Leptin, adiponectin, resistin, and ghrelin--implications for inflammatory bowel disease. **Mol Nutr Food Res**, v. 52, n. 8, p. 855-66, Aug 2008. ISSN 1613-4133. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18383234> >.
- 47 Lora, F. L. et al. [Bone mineral density evaluation in inflammatory bowel disease patients]. **Arq Gastroenterol**, v. 42, n. 4, p. 201-5, 2005 Oct-Dec 2005. ISSN 0004-2803. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16444373> >.
- 48 Rocha, R. et al. Analysis of fat and muscle mass in patients with inflammatory bowel disease during remission and active phase. **Br J Nutr**, v. 101, n. 5, p. 676-9, Mar 2009. ISSN 1475-2662. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18631418> >.
- 49 Rodrigues, V. S. et al. Serum levels and mesenteric fat tissue expression of adiponectin and leptin in patients with Crohn's disease. **Clin Exp Immunol**, v. 170, n. 3, p. 358-64, Dec 2012. ISSN 1365-2249. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23121676> >.

- 50 Berg, A. H.; Scherer, P. E. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. **Circ Res**, v. 96, n. 9, p. 939-49, May 2005. ISSN 1524-4571. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15890981> >.
- 51 Fonseca-Alaniz, M. H. et al. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. **J Pediatr (Rio J)**, v. 83, n. 5 Suppl, p. S192-203, Nov 2007. ISSN 0021-7557. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17989837> >.
- 52 Gandhi, H.; Upaganlawar, A.; Balaraman, R. Adipocytokines: The pied pipers. **J Pharmacol Pharmacother**, v. 1, n. 1, p. 9-17, Jan 2010. ISSN 0976-5018. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21808585> >.
- 53 Ibrahim, M. M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. **Obes Rev**, v. 11, n. 1, p. 11-8, Jan 2010. ISSN 1467-789X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19656312> >.
- 54 Libby, P. et al. Inflammation in atherosclerosis: transition from theory to practice. **Circ J**, v. 74, n. 2, p. 213-20, Feb 2010. ISSN 1347-4820. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20065609> >.
- 55 Wajchenberg, B. L. et al. Adipose tissue at the crossroads in the development of the metabolic syndrome, inflammation and atherosclerosis. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, v. 53, n. 2, p. 145-50, Mar 2009. ISSN 1677-9487. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19466206> >.
- 56 Mahida, Y. R. et al. High circulating concentrations of interleukin-6 in active Crohn's disease but not ulcerative colitis. **Gut**, v. 32, n. 12, p. 1531-4, Dec 1991. ISSN 0017-5749. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1773961> >.
- 57 Olszanecka-Glinianowicz, M. et al. Adipokines in the pathogenesis of idiopathic inflammatory bowel disease. **Endokrynol Pol**, v. 64, n. 3, p. 226-31, 2013. ISSN 0423-104X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23873428> >.
- 58 Trayhurn, P.; Wood, I. S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. **Br J Nutr**, v. 92, n. 3, p. 347-55, Sep 2004. ISSN 0007-1145. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15469638> >.
- 59 Raghupathy, R. Cytokines as key players in the pathophysiology of preeclampsia. **Med Princ Pract**, v. 22 Suppl 1, p. 8-19, 2013. ISSN 1423-0151. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23949305> >.
- 60 Galkina, E.; Ley, K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis (*). **Annu Rev Immunol**, v. 27, p. 165-97, 2009. ISSN 0732-0582. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19302038> >.
- 61 Lona, J. M. F. **El factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) en las enfermedades cardiovasculares:biología molecular y genética** Mónica Sierra Martínez, G. V. A., Angélica Barrios Rodas, Julián Ramírez Bello. Gaceta Médica de México. 149: 521-530 p. 2013.

- 62 Ntaios, G. et al. Adipokines as mediators of endothelial function and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 227, n. 2, p. 216-21, Apr 2013. ISSN 1879-1484. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23332774> >.
- 63 Murdaca, G. et al. Free radicals and endothelial dysfunction: potential positive effects of TNF- α inhibitors. **Redox Rep**, v. 18, n. 3, p. 95-9, 2013. ISSN 1743-2928. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23676793> >.
- 64 de Carvalho, J. F. et al. Anti-lipoprotein lipase antibodies: a new player in the complex atherosclerotic process in systemic lupus erythematosus? **Arthritis Rheum**, v. 50, n. 11, p. 3610-5, Nov 2004. ISSN 0004-3591. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15529371> >.
- 65 Sappati Biyyani, R. S. et al. Inflammatory bowel disease and coronary artery disease. **Indian J Gastroenterol**, v. 28, n. 1, p. 28-30, 2009 Jan-Feb 2009. ISSN 0975-0711. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19529899> >.
- 66 Olivier, I. et al. Is Crohn's creeping fat an adipose tissue? **Inflamm Bowel Dis**, v. 17, n. 3, p. 747-57, Mar 2011. ISSN 1536-4844. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20684014> >.
- 67 McCann, S. M. et al. The nitric oxide theory of aging revisited. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1057, p. 64-84, Dec 2005. ISSN 0077-8923. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16399888> >.
- 68 Kahlenberg, J. M.; Kaplan, M. J. Mechanisms of premature atherosclerosis in rheumatoid arthritis and lupus. **Annu Rev Med**, v. 64, p. 249-63, 2013. ISSN 1545-326X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23020882> >.
- 69 Hollan, I. et al. Cardiovascular disease in autoimmune rheumatic diseases. **Autoimmun Rev**, v. 12, n. 10, p. 1004-15, Aug 2013. ISSN 1873-0183. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23541482> >.
- 70 Kazemi-Bajestani, S. M.; Ghayour-Mobarhan, M. Concept of Atherosclerosis Velocity: Is It a Better Measure of Cardiovascular Risk? **Iran J Med Sci**, v. 38, n. 3, p. 210-220, Sep 2013. ISSN 0253-0716. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24174691> >.
- 71 Sappati Biyyani, R. S.; Putka, B. S.; Mullen, K. D. Dyslipidemia and lipoprotein profiles in patients with inflammatory bowel disease. **J Clin Lipidol**, v. 4, n. 6, p. 478-82, 2010 Nov-Dec 2010. ISSN 1933-2874. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21122694> >.
- 72 Garrido-Sánchez, L. et al. Anti-oxidized LDL antibody levels are reduced in women with hypertension. **Eur J Clin Invest**, v. 39, n. 9, p. 800-6, Sep 2009. ISSN 1365-2362. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19674079> >.
- 73 Cecelja, M.; Chowienczyk, P. Role of arterial stiffness in cardiovascular disease. **JRSM Cardiovasc Dis**, v. 1, n. 4, 2012. ISSN 2048-0040. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24175067> >.

- 74 Theocharidou, E. et al. Is There an Association Between Inflammatory Bowel Diseases and Carotid Intima-media Thickness? Preliminary Data. **Angiology**, Jun 2013. ISSN 1940-1574. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23748978> >.
- 75 Hansson, G. K.; Libby, P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. **Nat Rev Immunol**, v. 6, n. 7, p. 508-19, Jul 2006. ISSN 1474-1733. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16778830> >.
- 76 Insull, W. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. **Am J Med**, v. 122, n. 1 Suppl, p. S3-S14, Jan 2009. ISSN 1555-7162. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19110086> >.
- 77 Mawhorter, S. D.; Lauer, M. A. Is atherosclerosis an infectious disease? **Cleve Clin J Med**, v. 68, n. 5, p. 449-58, May 2001. ISSN 0891-1150. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11352325> >.
- 78 Rogacev, K. S. et al. Monocyte heterogeneity in obesity and subclinical atherosclerosis. **Eur Heart J**, v. 31, n. 3, p. 369-76, Feb 2010. ISSN 1522-9645. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19687164> >.
- 79 Libby, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 868-74, 2002 Dec 19-26 2002. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12490960> >.
- 80 Lusis, A. J. Atherosclerosis. **Nature**, v. 407, n. 6801, p. 233-41, Sep 2000. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11001066> >.
- 81 Hansson, G. K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. **N Engl J Med**, v. 352, n. 16, p. 1685-95, Apr 2005. ISSN 1533-4406. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15843671> >.
- 82 Osterman, M. T. et al. No increased risk of myocardial infarction among patients with ulcerative colitis or Crohn's disease. **Clin Gastroenterol Hepatol**, v. 9, n. 10, p. 875-80, Oct 2011. ISSN 1542-7714. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21749853> >.
- 83 Zanolli, L. et al. Arterial stiffness is increased in patients with inflammatory bowel disease. **J Hypertens**, v. 30, n. 9, p. 1775-81, Sep 2012. ISSN 1473-5598. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22796713> >.
- 84 Yarur, A. J. et al. Inflammatory bowel disease is associated with an increased incidence of cardiovascular events. **Am J Gastroenterol**, v. 106, n. 4, p. 741-7, Apr 2011. ISSN 1572-0241. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21386828> >.
- 85 Folsom, A. R. Classical and novel biomarkers for cardiovascular risk prediction in the United States. **J Epidemiol**, v. 23, n. 3, p. 158-62, 2013. ISSN 1349-9092. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23604062> >.
- 86 Montgomery, J. E.; Brown, J. R. Metabolic biomarkers for predicting cardiovascular disease. **Vasc Health Risk Manag**, v. 9, p. 37-45, 2013. ISSN 1178-2048. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23386789> >.

- 87 Organization, W. H. **Prevention of Cardiovascular Disease: Guidelines for assessment and management of cardiovascular risk** 2007.
- 88 Messner, B.; Bernhard, D. Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 34, n. 3, p. 509-15, Mar 2014. ISSN 1524-4636. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24554606> >.
- 89 Gupta, S. et al. Emerging risk factors for cardiovascular diseases: Indian context. **Indian J Endocrinol Metab**, v. 17, n. 5, p. 806-14, Sep 2013. ISSN 2230-8210. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24083161> >.
- 90 Morrell, C. N. et al. Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells. **Blood**, Feb 2014. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24585776> >.
- 91 Williams, M. S. Platelets and depression in cardiovascular disease: A brief review of the current literature. **World J Psychiatry**, v. 2, n. 6, p. 114-123, Dec 2012. ISSN 2220-3206. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24175177> >.
- 92 Woollard, K. J. Immunological aspects of atherosclerosis. **Clin Sci (Lond)**, v. 125, n. 5, p. 221-35, Sep 2013. ISSN 1470-8736. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23668229> >.
- 93 Abeywardena, M. Y. et al. Cardiovascular biology of interleukin-6. **Curr Pharm Des**, v. 15, n. 15, p. 1809-21, 2009. ISSN 1873-4286. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19442192> >.
- 94 Schuett, H. et al. How much is too much? Interleukin-6 and its signalling in atherosclerosis. **Thromb Haemost**, v. 102, n. 2, p. 215-22, Aug 2009. ISSN 0340-6245. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19652871> >.
- 95 Zwaka, T. P.; Hombach, V.; Torzewski, J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. **Circulation**, v. 103, n. 9, p. 1194-7, Mar 2001. ISSN 1524-4539. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11238260> >.
- 96 Kaptoge, S. et al. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. **Lancet**, v. 375, n. 9709, p. 132-40, Jan 2010. ISSN 1474-547X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20031199> >.
- 97 Cross, R. K.; Wilson, K. T. Nitric oxide in inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis**, v. 9, n. 3, p. 179-89, May 2003. ISSN 1078-0998. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12792224> >.
- 98 Tsutsui, M. et al. Pathophysiological relevance of NO signaling in the cardiovascular system: novel insight from mice lacking all NO synthases. **Pharmacol Ther**, v. 128, n. 3, p. 499-508, Dec 2010. ISSN 1879-016X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20826180> >.

- 99 Tsutsui, M. et al. Nitric oxide synthases and cardiovascular diseases: insights from genetically modified mice. **Circ J**, v. 73, n. 6, p. 986-93, Jun 2009. ISSN 1346-9843. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19430166> >.
- 100 Naseem, K. M. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. **Mol Aspects Med**, v. 26, n. 1-2, p. 33-65, 2005 Feb-Apr 2005. ISSN 0098-2997. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15722114> >.
- 101 Dusting, G. J. Nitric oxide in coronary artery disease: roles in atherosclerosis, myocardial reperfusion and heart failure. **EXS**, v. 76, p. 33-55, 1996. ISSN 1023-294X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8805787> >.
- 102 Dijkstra, G. et al. Increased expression of inducible nitric oxide synthase in circulating monocytes from patients with active inflammatory bowel disease. **Scand J Gastroenterol**, v. 37, n. 5, p. 546-54, May 2002. ISSN 0036-5521. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12059056> >.
- 103 Dorn, S. D.; Sandler, R. S. Inflammatory bowel disease is not a risk factor for cardiovascular disease mortality: results from a systematic review and meta-analysis. **Am J Gastroenterol**, v. 102, n. 3, p. 662-7, Mar 2007. ISSN 0002-9270. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17156143> >.
- 104 Maharshak, N. et al. Inflammatory bowel disease is not associated with increased intimal media thickening. **Am J Gastroenterol**, v. 102, n. 5, p. 1050-5, May 2007. ISSN 0002-9270. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17313498> >.
- 105 Papa, A. et al. Increased carotid intima-media thickness in patients with inflammatory bowel disease. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 22, n. 9, p. 839-46, Nov 2005. ISSN 0269-2813. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16225493> >.
- 106 Lund Kristensen, S. et al. [Increased risk of venous thromboembolism and arterial cardiovascular events in patients with inflammatory bowel disease]. **Ugeskr Laeger**, v. 174, n. 48, p. 3003-6, Nov 2012. ISSN 1603-6824. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23195352> >.
- 107 Principi, M. et al. Endothelial function and cardiovascular risk in active inflammatory bowel diseases. **J Crohns Colitis**, v. 7, n. 10, p. e427-33, Nov 2013. ISSN 1876-4479. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23473915> >.
- 108 Akdoğan, R. A. et al. Increased pulse wave velocity and carotid intima-media thickness in patients with ulcerative colitis. **Dig Dis Sci**, v. 58, n. 8, p. 2293-300, Aug 2013. ISSN 1573-2568. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23508984> >.
- 109 Singh, S. et al. Risk of Cerebrovascular Accidents and Ischemic Heart Disease in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. **Clin Gastroenterol Hepatol**, v. 12, n. 3, p. 382-393.e1, Mar 2014. ISSN 1542-7714. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23978350> >.
- 110 Zanolli, L. et al. Increased arterial stiffness in inflammatory bowel diseases is dependent upon inflammation and reduced by immunomodulatory drugs. **Atherosclerosis**, v. 234, n. 2, p. 346-

- 351, Mar 2014. ISSN 1879-1484. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24732573> >.
- 111 Duarte, A.; Castellani, F. **Semiologia nutricional**. 1. 2002. 155
- 112 Rosenfeld, G. **Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancrômicos e estudo de diversos fatores**. Memórias do Instituto Butantan. 20 1947.
- 113 Chung, B. H. et al. Single vertical spin density gradient ultracentrifugation. **Methods Enzymol**, v. 128, p. 181-209, 1986. ISSN 0076-6879. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3724502> >.
- 114 Lee, T. S. et al. The role of interleukin 12 in the development of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 19, n. 3, p. 734-42, Mar 1999. ISSN 1079-5642. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10073981> >.
- 115 LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J Biol Chem**, v. 193, n. 1, p. 265-75, Nov 1951. ISSN 0021-9258. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14907713> >.
- 116 Elia, P. P. et al. **Análise descritiva dos perfis social, clínico, laboratorial e antropométrico de pacientes com doenças inflamatórias intestinais internados no Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Rio de Janeiro**. Arq Gastroenterol. 44 2007.
- 117 Yorulmaz, E. et al. Metabolic syndrome frequency in inflammatory bowel diseases. **Saudi J Gastroenterol**, v. 17, n. 6, p. 376-82, 2011 Nov-Dec 2011. ISSN 1998-4049. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22064334> >.
- 118 Cosnes, J. Smoking, physical activity, nutrition and lifestyle: environmental factors and their impact on IBD. **Dig Dis**, v. 28, n. 3, p. 411-7, 2010. ISSN 1421-9875. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20926865> >.
- 119 Lopes, L. H. et al. Risk factors for low bone mineral density in children and adolescents with inflammatory bowel disease. **Dig Dis Sci**, v. 53, n. 10, p. 2746-53, Oct 2008. ISSN 0163-2116. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18351466> >.
- 120 Campos, F. G. et al. Inflammatory bowel diseases: principles of nutritional therapy. **Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo**, v. 57, n. 4, p. 187-98, 2002 Jul-Aug 2002. ISSN 0041-8781. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12244339> >.
- 121 Peterlik, M.; Kállay, E.; Cross, H. S. Calcium nutrition and extracellular calcium sensing: relevance for the pathogenesis of osteoporosis, cancer and cardiovascular diseases. **Nutrients**, v. 5, n. 1, p. 302-27, Jan 2013. ISSN 2072-6643. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23340319> >.
- 122 Torres, M. R.; Sanjuliani, A. F. Does calcium intake affect cardiovascular risk factors and/or events? **Clinics (Sao Paulo)**, v. 67, n. 7, p. 839-44, Jul 2012. ISSN 1980-5322. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22892932> >.

- 123 Ha, C. et al. Risk of arterial thrombotic events in inflammatory bowel disease. **Am J Gastroenterol**, v. 104, n. 6, p. 1445-51, Jun 2009. ISSN 1572-0241. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19491858> >.
- 124 Weiss, T. W.; Arnesen, H.; Seljeflot, I. Components of the interleukin-6 transsignalling system are associated with the metabolic syndrome, endothelial dysfunction and arterial stiffness. **Metabolism**, v. 62, n. 7, p. 1008-13, Jul 2013. ISSN 1532-8600. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23428306> >.
- 125 Sanchez-Munoz, F.; Dominguez-Lopez, A.; Yamamoto-Furusho, J. K. Role of cytokines in inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol**, v. 14, n. 27, p. 4280-8, Jul 2008. ISSN 1007-9327. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18666314> >.
- 126 Marlow, G. J.; van Gent, D.; Ferguson, L. R. Why interleukin-10 supplementation does not work in Crohn's disease patients. **World J Gastroenterol**, v. 19, n. 25, p. 3931-41, Jul 2013. ISSN 2219-2840. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23840137> >.
- 127 Melgar, S. et al. Over-expression of interleukin 10 in mucosal T cells of patients with active ulcerative colitis. **Clin Exp Immunol**, v. 134, n. 1, p. 127-37, Oct 2003. ISSN 0009-9104. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12974765> >.
- 128 Gisterå, A. et al. Transforming growth factor- β signaling in T cells promotes stabilization of atherosclerotic plaques through an interleukin-17-dependent pathway. **Sci Transl Med**, v. 5, n. 196, p. 196ra100, Jul 2013. ISSN 1946-6242. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23903754> >.
- 129 Stadnicki, A. et al. Transforming growth factor-beta1 and its receptors in patients with ulcerative colitis. **Int Immunopharmacol**, v. 9, n. 6, p. 761-6, Jun 2009. ISSN 1878-1705. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19285572> >.

ANEXOS

Anexo A: Aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 0342.0.203.000-11

Interessado(a): Profa. Jacqueline Isaura Alvarez Leite
Departamento de Bioquímica e Imunologia
Instituto de Ciências Biológicas - UFMG


DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 06 de setembro de 2011, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado “Estudo dos fatores de risco para doença cardiovascular em pacientes portadores de colite ulcerativa” bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

**Anexo B: Aprovação do projeto de pesquisa pelo Departamento de Ensino,
Pesquisa e Extensão do Hospital das Clínicas da UFMG**

**Universidade Federal de Minas Gerais**
Hospital das Clínicas
Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão

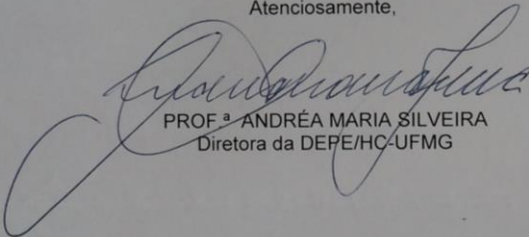
Belo Horizonte, 08 de fevereiro de 2012.

**PROCESSO: Nº 104/11 "ESTUDO DOS FATORES DE RISCO PARA DOENÇA
CARDIOVASCULAR EM PACIENTES PORTADORES DE COLITE
ULCERATIVA"**

SR(A) PESQUISADOR(A):

Reportando-nos ao projeto de pesquisa acima referenciado, considerando sua concordância com o parecer da Comissão de Avaliação Econômico-financeira de Projetos de Pesquisa do HC e a aprovação pelo COEP/UFMG em 06/09/2011, esta Diretoria aprova seu desenvolvimento no âmbito institucional. Solicitamos enviar à DEPE **relatório** parcial ou final, após um ano.

Atenciosamente,


PROF.ª ANDRÉA MARIA SILVEIRA
Diretora da DEPE/HC-UFMG

À Sr.ª.
Prof.ª Jacqueline Isaura Alvarez Leite
Dpto. Bioquímica e Imunologia
Instituto de Ciência Biológicas- UFMG

CGC: 17.217.985/0034-72 - Av. Prof. Alfredo Balena, 110 - 1º andar
Bairro Santa Efigênia - CEP 30130-100 - Belo Horizonte - MG
Telefone: (31) 3409-9379 - 3409-9375 - FAX: (31) 3409-9380 - depe@hc.ufmg.br

APÊNDICES

Apêndice A: Termo de consentimento livre e esclarecido (grupo RCU)**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA**

Nome: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ CEP: _____ Telefone : _____ E-mail: _____

Prezado(a) Senhor(a):

Você foi selecionado para participar de uma pesquisa cujo título é: **Estudo dos fatores de risco para doença cardiovascular em pacientes com retocolite ulcerativa.**

O objetivo deste estudo é avaliar os fatores de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular, em indivíduos portadores de colite ulcerativa, comparados a indivíduos saudáveis.

Ao participar deste estudo, o paciente será submetido a uma avaliação nutricional, para obtenção de dados como peso, altura, circunferência da cintura, composição corporal e verificar ainda os níveis de pressão arterial. Em um segundo momento, será realizada uma coleta de sangue por um médico para avaliar os níveis de triglicérides, colesterol total e suas frações, glicose, proteína C reativa, fibrinogênio, contagem total e diferencial de leucócitos, dosagem de citocinas inflamatórias e isolamento de células mononucleares. Após as avaliações, iremos relacionar os dados obtidos com o risco para desenvolvimento de doença cardiovascular, comparando com os mesmos parâmetros analisados em uma população saudável, ou seja, não portadora da colite ulcerativa.

Caso você concorde em participar desta pesquisa precisaremos realizar a avaliação nutricional mencionada acima, durante uma consulta no ambulatório do Intestino do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG. A coleta de sangue será feita no mesmo local, em um segundo momento, após jejum de 10h e o volume total a ser obtido são 40 mL. Os procedimentos não oferecem riscos adicionais para você, uma vez que a avaliação nutricional é realizada como rotina pelo profissional de Nutrição e a coleta de sangue é um procedimento simples, feita com materiais estéreis e descartáveis, pelo profissional de medicina.

Todos os dados coletados são sigilosos. Você poderá tirar as dúvidas a respeito deste estudo ou desistir de participar em qualquer momento da pesquisa. Caso você queira, informaremos para você ao final do estudo todos os seus resultados e, caso haja alguma alteração, esta será ressaltada e anexaremos um encaminhamento aos profissionais competentes.

VOCÊ NÃO É OBRIGADO (A) A PARTICIPAR DESTA PESQUISA E SUA RECUSA EM NADA IRÁ INFLUENCIAR EM SEU ATENDIMENTO E TRATAMENTO DA RETOCOLITE ULCERATIVA. Mesmo que aceite participar da pesquisa, você está livre para desistir de sua participação a qualquer momento e todos os seus dados já colhidos serão imediatamente eliminados do trabalho.

Os pesquisadores responderão a quaisquer perguntas ou esclarecimentos que você tenha ou possa ter quanto aos objetivos, procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com pesquisa. Para mais esclarecimentos, por favor, entre em contato com a Nutricionista Lana Claudinez dos Santos pelo telefone (031) 3409-2629 ou com Dra. Jacqueline Alvarez Leite pelo telefone (031) 3409-2652. Caso tenha dúvidas sobre o aspecto ético ou o andamento da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em pesquisa da UFMG que a aprovou no endereço: Avenida Antônio Carlos, nº6627, Unidade administrativa II, 2º andar, sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte/MG, telefone (31) 34094592.

Eu, _____, concordo em participar do estudo.

_____ Data ____/____/____

Assinatura do voluntário

Pesquisadora Lana Claudinez dos Santos_____
Pesquisadora Jacqueline I. Alvarez Leite

Apêndice B: Termo de consentimento livre e esclarecido (grupo controle saudável)**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA**

Nome: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ CEP: _____ Telefone : _____ E-mail: _____

Prezado(a) Senhor(a):

Você foi selecionado para participar de uma pesquisa cujo título é: **Estudo dos fatores de risco para doença cardiovascular em pacientes com retocolite ulcerativa.**

O objetivo deste estudo é avaliar os fatores de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular, em indivíduos portadores de colite ulcerativa, comparados a indivíduos saudáveis.

Ao participar deste estudo, o paciente será submetido a uma avaliação nutricional, para obtenção de dados como peso, altura, circunferência da cintura, composição corporal e verificar ainda os níveis de pressão arterial. Em um segundo momento, será realizada uma coleta de sangue por um médico para avaliar os níveis de triglicérides, colesterol total e suas frações, glicose, proteína C reativa, fibrinogênio, contagem total e diferencial de leucócitos, dosagem de citocinas inflamatórias e isolamento de células mononucleares. Após as avaliações, iremos relacionar os dados obtidos com o risco para desenvolvimento de doença cardiovascular, comparando com os mesmos parâmetros analisados em uma população saudável, ou seja, não portadora da colite ulcerativa.

Caso você concorde em participar desta pesquisa precisaremos realizar a avaliação nutricional mencionada acima, durante uma consulta no ambulatório do Intestino do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG. A coleta de sangue será feita no mesmo local, em um segundo momento, após jejum de 10h e o volume total a ser obtido são 40 mL. Os procedimentos não oferecem riscos adicionais para você, uma vez que a avaliação nutricional é realizada como rotina pelo profissional de Nutrição e a coleta de sangue é um procedimento simples, feita com materiais estéreis e descartáveis, pelo profissional de medicina.

Todos os dados coletados são sigilosos. Você poderá tirar as dúvidas a respeito deste estudo ou desistir de participar em qualquer momento da pesquisa. Caso você queira, informaremos para você ao final do estudo todos os seus resultados e, caso haja alguma alteração, esta será ressaltada e anexaremos um encaminhamento aos profissionais competentes.

VOCÊ NÃO É OBRIGADO (A) A PARTICIPAR DESTA PESQUISA. Mesmo que aceite participar da pesquisa, you está livre para desistir de sua participação a qualquer momento e todos os seus dados já colhidos serão imediatamente eliminados do trabalho.

Os pesquisadores responderão a quaisquer perguntas ou esclarecimentos que você tenha ou possa ter quanto aos objetivos, procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com pesquisa. Para mais esclarecimentos, por favor, entre em contato com a Nutricionista Lana Claudinez dos Santos pelo telefone (031) 3409-2629 ou com Dra. Jacqueline Alvarez Leite pelo telefone (031) 3409-2652. Caso tenha dúvidas sobre o aspecto ético ou o andamento da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em pesquisa da UFMG que a aprovou no endereço: Avenida Antônio Carlos, nº6627, Unidade administrativa II, 2º andar, sala 2005, Campus Pampulha, Belo Horizonte/MG, telefone (31) 34094592.

Eu, _____, concordo em participar do estudo.

_____ Data ____/____/____

Assinatura do voluntário

Pesquisadora Lana Claudinez dos Santos

Pesquisadora Jacqueline I. Alvarez Leite

Apêndice C: Ficha de avaliação nutricional**FICHA DE AVALIAÇÃO NUTRICIONAL**

Data da avaliação: ____/____/____

Avaliador: _____

1 Dados pessoais:

Nome: _____ Código: _____

Sexo: () F () M Data de nascimento: ____/____/____ Idade: _____

Naturalidade: _____ Raça: _____

Endereço: _____

Cidade: _____ Cep: _____

Telefone: _____ E-mail: _____

Estado civil: _____

Escolaridade: (1) nunca frequentou	(2) fundamental incompleto
(3) fundamental completo	(4) ensino médio incompleto
(5) ensino médio completo	(6) superior incompleto
(7) superior completo	(8) mestrado/doutorado

2 Dados sócio-econômicos

Profissão: _____

Jornada de trabalho: _____

Renda familiar: (1) de 1 a 2 salários mínimos	(2) de 3 a 4 salários mínimos
(3) de 5 a 6 salários mínimos	(4) mais de 6 salários mínimos

Número de integrantes na família: _____

Tabagismo: (1) Não (2) Sim (3) Ex-tabagista

Em caso afirmativo, número de cigarros/dia: _____ Tempo de uso: _____

Etilismo: (1) Não (2) Sim (3) Ex-etilista

Em caso afirmativo, qtde ingerida na semana: _____
tipo de bebida: _____**3 História clínica do paciente**

Tempo de diagnóstico da RCU: _____

Tempo de acompanhamento no ambulatório: _____

Médico responsável: _____

Sintomas gastrintestinais atualmente? () Não () Sim: () distensão abdominal () dor abdominal () náuseas () vômitos () sangramento anal () outros

Hábito intestinal:

(1) Normal (2) Constipação _____ ou Diarréia _____ ou Alternado _____

Internações: (1) Não (2) Sim Tempo de internação? _____

Número de internações? _____ De quanto tempo para cá vem ocorrendo essas internações? _____

Cirurgias prévias: _____

Gestação? (1) Não (2) Sim Quantas? _____

4. Doenças Associadas:

Doença	1 Ausência (Não)	2 Presença (Sim)
Anemia		
Artrite/Artrose		
Diabetes Mellitus tipo 1		
Diabetes Mellitus tipo 2		
Doença hepática		
Doença renal		
Doença cardiovascular		
Edema		
Hipercolesterolemia		
Hiperglicemia		
Hipertensão		
Hipertrigliceridemia		
Infarto		
Obesidade		
Trombose		
Outra (s): Qual (is)? _____		

4 História familiar (considerar pai, mãe, irmãos e irmãs)

Doença	1 Ausência (Não)	2 Presença (Sim)
Artrite/Artrose		
AVC		
Diabetes Mellitus tipo 1		
Diabetes Mellitus tipo 2		
Doença cardiovascular		
Doença hepática		
Doença renal		
Hipercolesterolemia		
Hiperglicemia		
Hipertensão		
Hipertrigliceridemia		
Infarto		
Morte súbita		
Obesidade		
Trombose		
Outra (s): Qual (is)? _____		

5 – Medicamentos

(1) Não (2) Sim qual/dose?

6 Atividade Física

(1) Não (2) Sim Qual? _____
 Frequência? _____ Desde quando pratica? _____

7 Avaliação antropométrica

PARÂMETRO	DATA:
Peso habitual (kg)	
Peso atual (kg)	
Estatura (cm)	
IMC (kg/m ²)	

Estado nutricional segundo IMC	
Circunferência da cintura (cm)	
BIA:	
Massa gorda (kg)	
% massa gorda	
Massa magra (kg)	
% massa magra	
Pressão arterial:	1. _____ 2. _____ 3. _____ 4. _____ Média das aferições: _____

8 Avaliação dietética

Já recebeu orientações nutricionais de profissionais da área? (1) Não (2) Sim

Número de refeições que realiza ao dia: _____

Onde realiza suas refeições? _____

Quem prepara as refeições? _____

Consumo diário de água: () < 1 litro () 1 – 2 litros () > 2 litros

Intolerância alimentar? (1) Não (2) Sim quais alimentos? _____

9 Registro alimentar

Apêndice D: Registro alimentar de três dias**REGISTRO ALIMENTAR DE TRÊS DIAS**

Nome: _____

Endereço: _____

____ Telefone: _____ Data de nascimento: ____/____/____

Você deverá preencher tudo o que foi consumido durante dois dias da semana e um dia de domingo. É necessário que você informe tudo aquilo que comer e beber durante o dia todo (desde a hora em que acordar até a hora de deitar). Lembre-se de anotar tudo, inclusive aquilo que for consumido fora de casa, mesmo balas, lanches, café, refrigerantes etc. Escreva detalhadamente as medidas e suas quantidades (peso, colher, copo, prato...).

Dia da semana: _____

Data	Hora	Alimento (Descrição - MARCA, aditivos, ingredientes etc)	Quantidade consumida	Local