



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE EXAME DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL DE MESTRADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ.

Aos dezenove dias do mês de dezembro de 2008, realizou-se a sessão pública de defesa de dissertação **"INFLAMAÇÃO E ATROSCLEROSE: AVALIAÇÃO DE ATROSCLEROSE SUB-CLÍNICA E DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE LDL MINIMAMENTE MODIFICADA EM PACIENTES COM ESPONDILITE ANQUILOSANTE"** apresentada por **FERNANDA TELES CECCON** para obtenção do título de mestre; Área de Concentração: Medicina e áreas afins.

A Banca Examinadora foi composta pelos seguintes membros:

MEMBROS DA BANCA	ASSINATURA
Prof. Dr. José Rocha Faria Neto PUCPR - Presidente	
Prof. Dr. Dalton Bertolim Précoma PUCPR	
Profª. Drª. Maria Cristina de Oliveira Izar UNIFESP	

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Prof. Dr. José Rocha Faria Neto

Conceito: Aprovado

Prof. Dr. Dalton Bertolim Précoma

Conceito: Aprovado

Profª. Drª. Maria Cristina de Oliveira Izar

Conceito: Aprovado

Conceito Final: Aprovado

Observações da Banca Examinadora:

Prof. Dr. José Rocha Faria Neto
Presidente da Banca Examinadora

Prof. Dr. Roberto Pecoits Filho
Coordenador do PPGCS PUCPR

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO, DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

FERNANDA TELES CECCON

**INFLAMAÇÃO E ATEROSCLEROSE:
AVALIAÇÃO DE ATEROSCLEROSE SUB-CLÍNICA E DOS NÍVEIS
PLASMÁTICOS DA LDL MINIMAMENTE MODIFICADA EM
PACIENTES COM ESPONDILITE ANQUILOSANTE**

CURITIBA

2008

FERNANDA TELES CECCON

**INFLAMAÇÃO E ATEROSCLEROSE:
AVALIAÇÃO DE ATEROSCLEROSE SUB-CLÍNICA E DOS NÍVEIS
PLASMÁTICOS DA LDL MINIMAMENTE MODIFICADA EM PACIENTES
COM ESPONDILITE ANQUILOSANTE**

Dissertação apresentada como requisito
para obtenção do grau de Mestre, ao
Curso de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde, da Pontifícia Universidade Católica
do Paraná.

**Orientador: Prof. Dr. José Rocha
Faria Neto**

CURITIBA

2008

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central

C387i
2008 Ceccon, Fernanda Teles
 Inflamação e aterosclerose : avaliação de aterosclerose sub-clínica e dos
 níveis plasmáticos da LDL minimamente modificada em pacientes com
 espondilite anquilosante / Fernanda Teles Ceccon ; orientador, José Rocha
 Faria Neto. -- 2008.
 54 f. ; il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná,
Curitiba, 2008
Bibliografia: f. 37-41

1. Aterosclerose. 2. Espondilite anquilosante - Pacientes. 3. Lúpus
eritematoso sistêmico. 4. Artrite reumatóide. I. Faria Neto, José Rocha.
II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD 20. ed. – 616.136

FERNANDA TELES CECCON

**INFLAMAÇÃO E ATEROSCLEROSE:
AVALIAÇÃO DE ATEROSCLEROSE SUB-CLÍNICA E DOS NÍVEIS
PLASMÁTICOS DA LDL MINIMAMENTE MODIFICADA EM PACIENTES
COM ESPONDILITE ANQUILOSANTE**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito à obtenção do título de Mestre.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. José Rocha Faria Neto
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Prof. Dr. Dalton Bertolin Précoma
Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Prof^a. Dr^a. Maria Cristina Izar
Universidade Federal de São Paulo

Curitiba, 19 de dezembro de 2008.

Dedico este trabalho à minha Família.

AGRADECIMENTOS

Ao estimado orientador Prof. Dr. José Rocha Faria Neto, pela oportunidade oferecida e pela dedicação.

A todos os voluntários que participaram deste estudo.

À PUC-PR por acreditar em pesquisa.

Assim mesmo

*Muitas vezes as pessoas são egocêntricas,
ilógicas e insensatas. Perdoe-as assim
mesmo.*

*Se você é gentil, as pessoas podem acusá-lo
de egoísta, interesseiro. Seja gentil assim
mesmo.*

*Se você é um vencedor, terá alguns falsos
amigos e alguns inimigos verdadeiros. Vença
assim mesmo.*

*Se você é honesto e franco, as pessoas
podem enganá-lo. Seja honesto e franco
assim mesmo.*

*O que você levou anos para construir, alguém
pode destruir de uma hora para outra.
Construa assim mesmo.*

*Se você tem paz e é feliz, as pessoas podem
sentir inveja. Seja feliz assim mesmo.*

*O bem que você faz hoje pode ser esquecido
amanhã. Faça o bem assim mesmo.*

*Dê ao mundo o melhor de você, mas isso
pode nunca ser o bastante. Dê o melhor de
você assim mesmo.*

*Veja você que no final das contas, é entre
você e Deus. Nunca foi entre você e as outras
pessoas.*

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

CECCON, F. T. **Inflamação e aterosclerose: avaliação de aterosclerose sub-clínica e dos níveis plasmáticos da LDL minimamente modificada em pacientes com espondilite anquilosante**. 2008. 54f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR, Curitiba, 2008.

Aterosclerose acelerada está presente em algumas doenças auto-imunes, principalmente em lúpus eritematoso sistêmico e artrite reumatóide. Apesar do uso de corticosteróides ser um fator de confusão por seus efeitos negativos em diversos fatores de risco cardiovascular, considera-se que a inflamação *per se* tenha um papel na aterogênese destes pacientes. Neste estudo, avaliamos a presença de aterosclerose sub-clínica e os níveis séricos de LDL eletronegativa, que representa a fração minimamente modificada desta lipoproteína (LDLmm), em um grupo de pacientes com espondilite anquilosante (EA). Quatorze pacientes que preencheram os critérios diagnósticos modificados de Nova Iorque para EA foram comparados com 13 controles pareados. A espessura da camada íntima-média (EIM) de carótidas foi avaliada por ultra-sonografia nas artérias carótidas comum, interna e na bifurcação, bilateralmente. Os grupos foram semelhantes em relação aos fatores de risco cardiovascular. Apenas dois pacientes do grupo de EA estavam sob o uso de corticosteróide. A presença de inflamação ativa foi demonstrada através dos níveis mais elevados de PCR nos pacientes do que nos controles (12,36 vs 3,45 mg/dl, $p=0,002$). Não houve diferença na EIM de carótidas entre os grupos, em nenhum ponto das artérias. A média da EIM (6 medidas, nos 3 pontos pré-especificados bilateralmente) foi $0,72 \pm 0,28$ no grupo EA e $0,70 \pm 0,45$ mm nos controles ($p=0,91$). O nível médio da LDLmm foi semelhante nos dois grupos ($14,03\text{U/L} \pm 17,40$ vs $13,21\text{U/L} \pm 10,21$; $p=0,88$). Concluindo, apesar da inflamação sistêmica ativa, os pacientes com EA não demonstraram maior EIM de carótidas do que os controles. Também não houve diferença entre os níveis séricos da LDL minimamente modificada em ambos os grupos.

ABSTRACT

CECCON, F. T. **Inflammation and atherosclerosis: evaluation of subclinical atherosclerosis and plasma levels of minimally modified LDL in patients with ankylosing spondylitis.** 2008. 54f. Health Science Post-Graduation Program (Master) - Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR, Curitiba, 2008.

Accelerated atherosclerosis has been described in some autoimmune diseases, mainly in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Although the high prevalence of corticosteroids use may be a confounding factor due to their detrimental effects on several atherosclerotic risk factors, systemic inflammation *per se* potentially plays an important role in atherogenesis in these group of patients. Thus, we evaluated subclinical atherosclerosis and plasma levels of circulating electronegative LDL, which represents the fraction of LDL that is minimally modified (mmLDL), in a group of patients with ankylosing spondylitis (AS). Fourteen patients who fulfilled the modified New York criteria for AS were compared with 13 paired controls. Carotid intima-media thickness (IMT) was assessed by ultrasonography bilaterally in common carotid artery, internal carotid artery and bifurcation. Groups were homogeneous regarding cardiovascular risk factors. Only two patients in the AS group were in use of corticosteroid. Patients presented higher CRP levels when compared to controls (12.36 vs. 3.45 mg/dL, $p=0.002$), demonstrating a status of inflammation in patients with AS. No difference was found in any site of carotid IMT between both groups. Mean IMT (6 measurements, at 3 pre-specified sites bilaterally) was 0.72 ± 0.28 in AS group and 0.70 ± 0.45 mm in controls ($p=0.91$). Minimally modified LDL did not differ significantly either between patients and controls ($14.03\text{U/L} \pm 17.40$ vs. $13.21\text{U/L} \pm 10.21$; $p=0.88$). In conclusion, despite of systemic inflammation patients with AS did not show increased carotid IMT in comparison to controls. Similarly, circulating plasma levels of mmLDL did not differ significantly in both groups.

LISTA DE TABELAS

Accelerated atherosclerosis has been described in some autoimmune diseases, mainly in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Although the high prevalence of corticosteroids use may be a confounding factor due to their detrimental effects on several atherosclerotic risk factors, systemic inflammation per se potentially plays an important role in atherogenesis in these group of patients. Thus, we evaluated subclinical atherosclerosis and plasma levels of circulating electronegative LDL, which represents the fraction of LDL that is minimally modified (mmLDL), in a group of patients with ankylosing spondylitis (AS). Fourteen patients who fulfilled the modified New York criteria for AS were compared with 13 paired controls. Carotid intima-media thickness (IMT) was assessed by ultrasonography bilaterally in common carotid artery, internal carotid artery and bifurcation. Groups were homogeneous regarding cardiovascular risk factors. Only two patients in the AS group were in use of corticosteroid. Patients presented higher CRP levels when compared to controls (12.36 vs. 3.45 mg/dL, $p=0.002$), demonstrating a status of inflammation in patients with AS. No difference was found in any site of carotid IMT between both groups. Mean IMT (6 measurements, at 3 pre-specified sites bilaterally) was 0.72 ± 0.28 in AS group and 0.70 ± 0.45 mm in controls ($p=0.91$). Minimally modified LDL did not differ significantly either between patients and controls ($14.03\text{U/L} \pm 17.40$ vs. $13.21\text{U/L} \pm 10.21$; $p=0.88$). In conclusion, despite of systemic inflammation patients with AS did not show increased carotid IMT in comparison to controls. Similarly, circulating plasma levels of mmLDL did not differ significantly in both groups.10

Accelerated atherosclerosis has been described in some autoimmune diseases, mainly in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis.

Although the high prevalence of corticosteroids use may be a confounding factor due to their detrimental effects on several atherosclerotic risk factors, systemic inflammation per se potentially plays an important role in atherogenesis in these group of patients. Thus, we evaluated subclinical atherosclerosis and plasma levels of circulating electronegative LDL, which represents the fraction of LDL that is minimally modified, in a group of patients with ankylosing spondylitis (AS). Fourteen patients who fulfilled the modified New York criteria for AS were compared with 13 paired controls. Carotid intima-media thickness (IMT) was assessed by ultrasonography bilaterally in common carotid artery, internal carotid artery and bifurcation. Groups were homogeneous regarding cardiovascular risk factors. Only two patients in the AS group were in use of corticosteroid. Patients presented higher CRP levels when compared to controls (12.36 vs. 3.45 mg/dL, $p=0.002$), demonstrating a status of inflammation in patients with AS. No difference was found in any site of carotid IMT between both groups. Mean IMT (6 measurements, at 3 pre-specified sites bilaterally) was 0.72 ± 0.28 in AS group and 0.70 ± 0.45 mm in controls ($p=0.91$). Minimally modified LDL did not differ significantly either between patients and controls ($14.03\text{U/L} \pm 17.40$ vs. $13.21\text{U/L} \pm 10.21$; $p=0.88$). In conclusion, although more inflamed, patients with AS did not show increased carotid IMT in comparison to controls. Similarly, circulating plasma levels of LDL(-) did not differ significantly in both groups.27

Biochemical parameters are presented in Table 2. Lipid profile was similar in both groups, with no difference regarding total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides and LDL cholesterol. As expected, most inflammatory markers were elevated in patients with AS in comparison to controls. Patients had higher levels of CRP (12.36 ± 7.99 vs. 3.44 ; $p=0.002$) and total leukocyte count (9550 ± 2256 vs. 6915 ± 1721 ; $p=0.003$). Unexpectedly, ESR did not differ significantly in both groups.

Platelet count was also higher in patients with AS (334.000 ± 106.000 vs. 252.000 ± 66.000 ; $p=0.028$), as previously demonstrated in other rheumatic diseases. Glucose level was higher in control than in AS patients (95.43 ± 10.53 vs. 109.1 ± 13.33 ; $p=0.009$). Minimally modified LDL did not differ significantly between patients with AS and controls ($14.03\text{U/L} \pm 17.40$ vs. $13.21\text{U/L} \pm 10.21$; $p=0.88$).....32

SUMÁRIO

Accelerated atherosclerosis has been described in some autoimmune diseases, mainly in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Although the high prevalence of corticosteroids use may be a confounding factor due to their detrimental effects on several atherosclerotic risk factors, systemic inflammation per se potentially plays an important role in atherogenesis in these group of patients. Thus, we evaluated subclinical atherosclerosis and plasma levels of circulating electronegative LDL, which represents the fraction of LDL that is minimally modified (mmLDL), in a group of patients with ankylosing spondylitis (AS). Fourteen patients who fulfilled the modified New York criteria for AS were compared with 13 paired controls. Carotid intima-media thickness (IMT) was assessed by ultrasonography bilaterally in common carotid artery, internal carotid artery and bifurcation. Groups were homogeneous regarding cardiovascular risk factors. Only two patients in the AS group were in use of corticosteroid. Patients presented higher CRP levels when compared to controls (12.36 vs. 3.45 mg/dL, $p=0.002$), demonstrating a status of inflammation in patients with AS. No difference was found in any site of carotid IMT between both groups. Mean IMT (6 measurements, at 3 pre-specified sites bilaterally) was 0.72 ± 0.28 in AS group and 0.70 ± 0.45 mm in controls ($p=0.91$). Minimally modified LDL did not differ significantly either between patients and controls ($14.03\text{U/L} \pm 17.40$ vs. $13.21\text{U/L} \pm 10.21$; $p=0.88$). In conclusion, despite of systemic inflammation patients with AS did not show increased carotid IMT in comparison to controls. Similarly, circulating plasma levels of mmLDL did not differ significantly in both groups.10

Accelerated atherosclerosis has been described in some autoimmune diseases, mainly in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis.

Although the high prevalence of corticosteroids use may be a confounding factor due to their detrimental effects on several atherosclerotic risk factors, systemic inflammation per se potentially plays an important role in atherogenesis in these group of patients. Thus, we evaluated subclinical atherosclerosis and plasma levels of circulating electronegative LDL, which represents the fraction of LDL that is minimally modified, in a group of patients with ankylosing spondylitis (AS). Fourteen patients who fulfilled the modified New York criteria for AS were compared with 13 paired controls. Carotid intima-media thickness (IMT) was assessed by ultrasonography bilaterally in common carotid artery, internal carotid artery and bifurcation. Groups were homogeneous regarding cardiovascular risk factors. Only two patients in the AS group were in use of corticosteroid. Patients presented higher CRP levels when compared to controls (12.36 vs. 3.45 mg/dL, $p=0.002$), demonstrating a status of inflammation in patients with AS. No difference was found in any site of carotid IMT between both groups. Mean IMT (6 measurements, at 3 pre-specified sites bilaterally) was 0.72 ± 0.28 in AS group and 0.70 ± 0.45 mm in controls ($p=0.91$). Minimally modified LDL did not differ significantly either between patients and controls ($14.03\text{U/L} \pm 17.40$ vs. $13.21\text{U/L} \pm 10.21$; $p=0.88$). In conclusion, although more inflamed, patients with AS did not show increased carotid IMT in comparison to controls. Similarly, circulating plasma levels of LDL(-) did not differ significantly in both groups.27

Biochemical parameters are presented in Table 2. Lipid profile was similar in both groups, with no difference regarding total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides and LDL cholesterol. As expected, most inflammatory markers were elevated in patients with AS in comparison to controls. Patients had higher levels of CRP (12.36 ± 7.99 vs. 3.44 ; $p=0.002$) and total leukocyte count (9550 ± 2256 vs. 6915 ± 1721 ; $p=0.003$). Unexpectedly, ESR did not differ significantly in both groups.

Platelet count was also higher in patients with AS (334.000 ± 106.000 vs. 252.000 ± 66.000 ; $p=0.028$), as previously demonstrated in other rheumatic diseases. Glucose level was higher in control than in AS patients (95.43 ± 10.53 vs. 109.1 ± 13.33 ; $p=0.009$). Minimally modified LDL did not differ significantly between patients with AS and controls ($14.03\text{U/L} \pm 17.40$ vs. $13.21\text{U/L} \pm 10.21$; $p=0.88$).....32

anEXOS.....	42
aNEXO	A
TERMO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISAS EM HUMANOS.....	43
ANEXO	B
FICHA CLÍNICA.....	45
ANEXO	C
MAPA DO AMBULATÓRIO.....	48
ANEXO	D
TERMO DE CONSENTIMENTO.....	49
ANEXO	E
TERMO DE CONSENTIMENTO.....	52

1 INTRODUÇÃO

A aterosclerose é uma doença de grande prevalência mundial. Tem como características o acúmulo de lipídeos, inflamação crônica, morte celular e trombose na parede do vaso arterial. É um processo dinâmico, evolutivo, de origem multifatorial. É a causa mais comum de morbimortalidade cardiovascular nos países ocidentais, sendo que 45% da população morre vítima de suas conseqüências, como infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral.

Incomum na antigüidade, apesar da sua descrição em múmias do antigo Egito, a aterosclerose tornou-se uma epidemia do mundo moderno. Para este fato contribuíram a maior perspectiva de vida das populações e as mudanças de hábito das sociedades, como o sedentarismo e o aumento do consumo de alimentos ricos em gorduras saturadas.

Estudos epidemiológicos demonstram que a doença aterosclerótica pode ser evitada e isto é de grande importância em perspectiva clínica. A aterosclerose, apesar de apresentar manifestações clínicas comumente após a quarta década de vida, instala-se muito precocemente no decorrer da vida. A formação das estrias gordurosas pode ser iniciada já na vida intra-uterina, afetando os fetos de mães com dislipidemia e *diabetes mellitus* (DM) tipo 1. Este processo progride já nos primeiros anos de vida, principalmente nas artérias carótidas e coronárias. Poucas doenças têm um período latente tão longo, uma vez que as suas manifestações clínicas aparecem somente após muitas décadas. Apesar de seu curso indolente, suas complicações são graves e aparecem com frequência de maneira súbita. Desta forma, é de extrema importância identificar os fatores relacionados à sua origem e ao seu desenvolvimento.

Dentre os fatores associados à formação da placa aterosclerótica, e ao aceleração deste processo, está a inflamação. Não se questiona mais a origem inflamatória da aterosclerose. Entretanto, ainda não está claro o papel da inflamação sistêmica, como presente nas doenças reumatológicas auto-imunes, na aterosclerose. Dados de pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico (LES) e artrite reumatóide (AR) mostram que possivelmente a

inflamação sistêmica seja um fator agravante predispondo a maior risco cardiovascular. Neste estudo, avaliamos a relação entre aterosclerose e inflamação em pacientes com espondilite anquilosante (EA), uma doença inflamatória do grupo das espondiloartropatias seronegativas que acomete predominantemente o esqueleto axial. Nesta doença, o uso de corticosteróides, um importante fator de confusão nos estudos envolvendo pacientes com LES e AR, não é rotina.

Para um maior entendimento do problema, revisaremos a seguir alguns conceitos sobre aterosclerose e sua correlação com doenças inflamatórias.

1.1 FATORES DE RISCO

As bases atuais sobre aterosclerose tiveram início com o conceito dos fatores de risco cardiovascular do Estudo de Framingham, na década de 60. Do ponto de vista epidemiológico, fator de risco (FR) é uma característica de um indivíduo ou de uma população presente precocemente e relacionada com o aumento do risco de desenvolver uma doença no futuro. Pode ser classificado em quatro categorias básicas: fatores predisponentes, modos de vida, fatores metabólicos e marcadores de doença. O FR pode ser um comportamento adquirido como o tabagismo, uma característica hereditária como hiperlipidemia familiar, ou uma medida laboratorial como a proteína C-reativa ultra-sensível (PCR). Muitos fatores, como a dislipidemia e a hipertensão arterial sistêmica (HAS), são modificáveis, e a redução destes fatores diminui o risco cardiovascular. A incidência de doenças cardiovasculares aumenta em proporção direta com a presença dos FR, mas o controle destes fatores pode alterar a progressão das doenças, devendo ser a base de políticas de saúde e tecnologia alimentar. Estão entre os FR cardiovasculares clássicos a HAS, DM, dislipidemia, tabagismo, obesidade, idade, sedentarismo e história familiar positiva para doença aterosclerótica.

É indiscutível a relação entre os níveis séricos de colesterol e doença cardiovascular. Níveis elevados de colesterol predizem o risco de eventos cardiovasculares futuros. Desde o século passado, estudos experimentais demonstram a importância dos lipídeos plasmáticos no desenvolvimento de aterosclerose em modelos animais. Estas observações, associadas à descrição

das lipoproteínas, promoveram o conceito da participação dos lipídeos na aterosclerose. Correlações clínicas foram feitas a partir da observação de populações com dietas ricas em colesterol e doença arterial coronariana. Posteriormente, na década de 90, demonstrou-se que o uso de inibidores da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, as estatinas, reduzem de forma substancial a morbimortalidade relacionada a eventos cardiovasculares.

Apesar de nocivos quando em níveis anormais, o organismo humano necessita dos ácidos graxos essenciais que não são fornecidos pela dieta. O colesterol é um componente essencial das membranas celulares e é a base dos hormônios esteróides e dos sais biliares. Os triglicerídeos são um depósito de energia formado por ácidos graxos.

O movimento dos lipídeos no plasma é realizado pelas lipoproteínas. Estas são formadas por uma fração protéica, as apolipoproteínas, que, em conjunto com fosfolípidos, envolvem um núcleo lipídico altamente hidrofóbico. Os principais lipídeos transportados são os triglicerídeos, o colesterol e os seus ésteres. A classificação das lipoproteínas é definida de acordo com a densidade no plasma. Moléculas maiores são menos densas.

O transporte das lipoproteínas tem dois objetivos. O primeiro é transportar de forma eficaz os lipídeos a partir do intestino e do fígado até os locais em que são utilizados, o tecido adiposo e os músculos. O segundo é o transporte do colesterol até os tecidos periféricos, para a síntese das membranas celulares e formação dos hormônios esteróides e sais biliares.

1.2 O PROCESSO DA ATEROGÊNESE

Classicamente a aterosclerose atinge as artérias de grande e médio porte difusamente. A localização preferencial dos sítios da placa aterosclerótica é a parte proximal das artérias após ramificações ou bifurcações. Artérias sem muitos ramos, como a mamária interna e a radial, tendem a não desenvolver aterosclerose; alterações locais de fluxo influenciam a predileção por alguns pontos. O fluxo laminar protege os vasos, pois tem a capacidade de aumentar a expressão de genes como os da enzima superóxido dismutase e óxido nítrico sintetase, que estão relacionadas com a produção de óxido nítrico (ON). O ON,

além de seu efeito vasodilatador já conhecido, auxilia a resistência do endotélio contra a ativação inflamatória, como a expressão da molécula de adesão celular vascular 1, a VCAM-1. Além disso, interfere com a transcrição do fator nuclear *kappa* B que regula a resposta inflamatória e o processo aterosclerótico.

Outro fator que pode influenciar a localização das placas ateroscleróticas é a diferente origem embriológica das células musculares lisas que formam os vasos. As artérias da parte superior do corpo recrutam células de músculo liso a partir da neuroderme, enquanto que as da parte inferior são derivadas principalmente da mesoderme. As células das coronárias têm sua origem do órgão pró-epicardio. Ainda é alvo de estudos o quanto a heterogeneidade celular das artérias pode afetar a aterogênese.

As artérias são formadas por tecido vivo e dinâmico, não sendo tubos inanimados. Há mais de 100 anos Virchow descreveu a participação de células na aterogênese, reconhecendo a aterosclerose como uma doença proliferativa. Fatores imunológicos estão relacionados com seu início e progressão. Participam da sua formação todos os elementos do sistema imunológico incluindo componentes celulares, auto-antígenos e auto-anticorpos.

As teorias para o desenvolvimento da aterosclerose envolvem inflamação e dano do endotélio. O evento patogênico primário que origina a aterosclerose ainda não é plenamente conhecido. Entretanto, segundo a teoria atualmente aceita da “resposta à injúria”, a aterogênese ocorre como resposta do endotélio lesado por vários FR, como HAS, DM e dislipidemia, que alteram a sua permeabilidade e promovem a adesão de leucócitos e plaquetas.

Com a agressão endotelial, iniciada pelos fatores de risco, ocorre na superfície do endotélio a expressão de moléculas de adesão leucocitária, como a VCAM-1 e a molécula 1 de adesão intercelular, a ICAM-1. A camada de células endoteliais normalmente não permite a adesão de leucócitos em sua superfície, mesmo na vigência de processos inflamatórios, onde isto ocorre em vênulas pós-capilares. Entretanto, com o endotélio disfuncionante, os leucócitos iniciam sua adesão e acúmulo na camada íntima. Para adentrar na parede endotelial os glóbulos brancos necessitam de um sinal que é modulado por moléculas protéicas como a proteína quimioatrativa de monócitos 1, a MCP-1, produzida pelo endotélio em resposta às agressões. Os monócitos

aderem-se ao endotélio e migram para o espaço subendotelial onde diferenciam-se em macrófagos. Neste espaço, formado por uma rede de microfibrilas, os macrófagos englobam moléculas oxidadas de LDL (LDLOx), e dão origem às células espumosas. O acúmulo de células espumosas determina a formação das estrias gordurosas, sendo estas a primeira manifestação macroscópica de aterosclerose. Estas lesões progridem e transformam-se em placas ateroscleróticas contendo componentes da matriz extracelular, células musculares lisas, macrófagos, tecido conjuntivo, linfócitos e uma capa fibrosa que envolve o conteúdo lipídico extracelular.

Este processo é perpetuado e amplificado por mediadores inflamatórios. A inflamação tem um papel essencial no início e na progressão das placas ateroscleróticas. O macrófago recrutado no início da formação do ateroma não é apenas um reservatório de lipídeos, mas uma fonte de moduladores pró-inflamatórios como o fator ativador de plaquetas e as citocinas. Estes moduladores promovem a inflamação da placa e contribuem para o progresso das lesões. As citocinas inflamatórias estimulam a produção de PCR, um marcador de inflamação, pelo fígado.

A LDLOx é uma partícula extremamente pró-aterogênica capaz de iniciar uma série de eventos como disfunção endotelial e ativação celular. A inflamação é um importante promotor da oxidação da LDL tanto *in vivo* como *in vitro*. Induz ainda redução da biodisponibilidade do ON, alteração do controle vasomotor, desenvolvimento de uma superfície pró-coagulante e crescimento celular anormal. A LDLOx promove a expressão de genes inflamatórios em células vasculares e induz a expressão dos receptores *scavenger* nos macrófagos que modulam a captação de lipídeos. A LDLOx, e não a LDL na sua forma nativa, promove a aterosclerose. A fagocitose da LDLOx pelos macrófagos via os receptores *scavenger* induz à formação de células espumosas, enquanto que a LDL não oxidada é incapaz de produzir este efeito. Além disto, a LDLOx contribui para a aterotrombose induzindo a apoptose das células endoteliais e estimulando a produção do fator tecidual pelas células musculares lisas.

O nível plasmático de LDLOx está correlacionado com o desenvolvimento e progressão de aterosclerose sub-clínica em homens saudáveis independentemente dos fatores de risco convencionais. Também já

foi demonstrada a relação da LDLOx com o processo aterosclerótico de carótidas, avaliado através da medida da espessura da camada íntima média (EIM), um marcador de risco da doença cardiovascular.

O papel da LDLOx interagindo com a formação de complexos com auto-anticorpos também já é conhecido, além da sua associação com o processo aterosclerótico. O nível de anticorpos anti-LDLOx está aumentado em pacientes com doença vascular periférica, aterosclerose acentuada de carótidas e doença arterial coronariana.

A geração de fosfolípidos oxidados, como a LDLOx, tanto na aterogênese quanto nos processos inflamatórios, sugere que a manutenção das funções que envolvem o controle destas moléculas esteja relacionada com a homeostase do organismo. Existem estudos que já demonstraram também a relação entre a LDLOx e infecções crônicas.

1.3 INFLAMAÇÃO SISTÊMICA E ATHEROSCLEROSE

A aterosclerose é uma doença de origem inflamatória. Inflamação crônica, mesmo de pequena intensidade, como indicada pelos níveis de PCR, está associada a um maior risco de complicações ateroscleróticas. Além disso, alguns tratamentos que reduzem o risco de doença coronariana também limitam a atividade inflamatória, como o uso das estatinas, sendo que seu efeito antiinflamatório não parece estar relacionado com a redução dos níveis de LDL. Ainda não é conhecido se a aterosclerose pode ser consequência da inflamação sistêmica, como nas doenças reumatológicas auto-imunes, ou se é apenas resultado da resposta inflamatória que ocorre na parede do vaso arterial. Os dados que sugerem um papel importante da inflamação sistêmica na aterogênese provêm não só de condições reumáticas, mas de outros estados patológicos como doença periodontal e renal terminal. Infecção localizada, como a que ocorre em doença periodontal, altera os níveis dos mediadores inflamatórios sistêmicos, promovendo assim aterosclerose. Também há descrição de que a inflamação presente em doença renal terminal contribui para a grande morbimortalidade cardiovascular nesta população e que em pacientes sob diálise peritoneal, a endotoxemia está relacionada com o grau de inflamação sistêmica e a aceleração do processo aterosclerótico.

Estudos associam, da mesma forma, a inflamação que ocorre em infecções por *Chlamydia pneumoniae*, *Cytomegalovirus* e *Helicobacter pylori* com aterogênese. Estes organismos possivelmente desencadeiam moduladores inflamatórios que promovem disfunção endotelial e progressão das placas ateroscleróticas.

A PCR é utilizada como um marcador de inflamação sistêmica. Entretanto, mais do que um simples marcador, a PCR influencia diretamente a vulnerabilidade vascular através de vários mecanismos, como a expressão de moléculas de adesão, redução da atividade do ON e influência sobre a captação de LDL pelos macrófagos. Evidências sugerem que a PCR tem papel no desenvolvimento e progressão da aterotrombose. A PCR tem a capacidade de unir-se às membranas celulares danificadas, ao complemento, e à LDL, principalmente na sua forma oxidada.

A LDLOx está diretamente associada à inflamação vascular. A LDLOx, por estar relacionada com a oxidação de moléculas, reflete a atividade do processo inflamatório, assim como a hipercolesterolemia promove ativação inflamatória. Existem relatos que a oxidação da LDL pode estar aumentada mesmo após um estímulo inflamatório discreto, como a vacinação para gripe.

1.4 DOENÇAS REUMATOLÓGICAS

Como citado anteriormente, doenças inflamatórias crônicas, como LES e AR, estão associadas com inflamação, aterosclerose acentuada e aumento da incidência de doença cardiovascular. Há evidências de que a oxidação das moléculas, inclusive dos lipídeos, esteja envolvida com uma série de doenças reumatológicas auto-imunes e, portanto, poderia ser um dos mecanismos pelo qual pacientes com LES e AR apresentam aterosclerose acentuada. Estudos demonstram maior prevalência das taxas de doença arterial coronariana, aterosclerose, doença vascular periférica, DM tipo 2, dislipidemia e HAS em pacientes com AR e artrite psoriásica. A AR está associada a um padrão anormal das lipoproteínas. Há evidências que o aumento do risco cardiovascular em pacientes com AR seja independente dos FR tradicionais. Estudos sobre AR associam a maior morbimortalidade cardiovascular a mecanismos inflamatórios, com marcadores imunológicos de inflamação como

a PCR, e outros fatores como aumento da homocisteína e níveis plasmáticos de lipoproteínas. Também sabe-se que a aterosclerose extensa que ocorre em pacientes com LES tem uma patogênese complexa, incluindo alteração dos lipídeos, inflamação e envolvimento do sistema imunológico. Além disto, com os avanços no tratamento e conseqüente maior expectativa de vida destes pacientes, a morbimortalidade por doenças ateroscleróticas como infarto do miocárdio está crescendo. Trabalhos relatam que a presença de uma doença inflamatória sistêmica crônica, como AR, parece representar um fator de risco importante e significativo de aterosclerose.

Assim como o LES e a AR, a EA é uma doença reumatológica auto-imune. É um distúrbio inflamatório crônico do grupo das espondiloartropatias seronegativas que também engloba a artrite psoriásica, a síndrome de Reiter e a artrite relacionada com doença inflamatória intestinal. A EA é o distúrbio inflamatório mais comum do esqueleto axial, tendo uma prevalência aproximada de 0,2% na população caucasiana. Os critérios diagnósticos para a EA são: dor lombar e rigidez por mais de 3 meses não aliviadas com o repouso, dor e rigidez na região torácica, mobilidade limitada da coluna lombar, expansão torácica limitada; história de irite; e evidência radiográfica de sacroilite bilateral. São necessários quatro dos primeiros critérios ou sacroilite mais um critério clínico.

Os indivíduos afetados têm sinais e sintomas geralmente antes dos 40 anos de idade, sendo na maioria homens, com uma relação homem/mulher estimada de 2,5 a 5 para 1. A doença é caracterizada por predisposição à artrite de coluna (espondilite) e das grandes articulações, como a sacro-ilíaca. Tem um forte padrão de herança familiar baseado na presença do antígeno HLA-B27 do complexo de histocompatibilidade maior da classe I. O HLA-B27 é encontrado em 90% dos pacientes caucasianos e em 50% dos negros. Entretanto, este antígeno está presente em 8% da população branca e em 4% dos negros saudáveis, não sendo um marcador específico. O verdadeiro risco de desenvolver EA em uma pessoa HLA-B27 positivo é ao redor de 1 a 2%.

As manifestações clínicas sistêmicas englobam alterações do trato gastrointestinal (com úlceras orais, inflamação intestinal), pele (ceratodermia blenorrágica, onicólise) e uveíte anterior. A alteração na raiz e na valva aórtica, com conseqüente insuficiência, também estão presentes. Apesar de já ser

conhecido o comprometimento cardíaco, a correlação entre aterosclerose e EA não tem sido muito explorada. Estudos recentes demonstraram que as complicações cardiovasculares também envolvem disfunção do endotélio e da microcirculação coronariana. O mecanismo proposto é o sinergismo da inflamação crônica com o aumento das citocinas e dos reagentes da fase aguda em conjunto com a alteração do perfil lipídico.

1.5 HIPÓTESE

Os dados de pacientes com algumas doenças reumatológicas de maior prevalência, como LES e AR, sugerem que a inflamação sistêmica *per se* pode acelerar o processo de aterosclerose e aumentar o risco cardiovascular, atuando como um fator de risco adicional. Um dos mecanismos postulados para tal efeito seria um aumento no estado pró-oxidativo, levando a uma maior oxidação das lipoproteínas. Caso isto seja fato, pacientes portadores de doenças que cronicamente ativem a resposta inflamatória independentemente de sua origem (doenças reumatológicas, infecciosas), estarão sob maior risco cardiovascular do que seus pares com perfil metabólico semelhante, porém sem inflamação ativa.

Em nosso estudo, a espondilite anquilosante será o modelo de doença inflamatória em avaliação. A menor presença de fatores de confusão, como uso crônico de corticosteróides, poderá propiciar uma melhor análise do papel da inflamação na aterogênese.

A hipótese do nosso estudo é de que pacientes com EA, uma vez demonstrado que se tratem realmente de pacientes em atividade inflamatória sistêmica, apresentarão níveis mais elevados de LDL modificada e maior espessura da camada íntima-média em carótidas, um método bem estabelecido de avaliação de aterosclerose sub-clínica.

Inflammation and atherosclerosis: evaluation of subclinical atherosclerosis and plasma levels of minimally modified LDL in patients with ankylosing spondylitis

Fernanda Teles Ceccon¹, Valderílio Feijó de Azevedo², Carlos A Engelhorn¹,
Dulcinéia S P Abdalla³, Tanize E S Faulin³, Roberto Pecoits-Filho¹, José Rocha
Faria Neto^{1,4}

¹ Pontifícia Universidade Católica do Paraná

² Hospital de Clínicas / Universidade Federal do Paraná

³ Faculdade de Ciências Farmacêuticas/ Universidade de São Paulo

⁴ Hospital Cardiológico Costantini

Abstract

Accelerated atherosclerosis has been described in some autoimmune diseases, mainly in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Although the high prevalence of corticosteroids use may be a confounding factor due to their detrimental effects on several atherosclerotic risk factors, systemic inflammation *per se* potentially plays an important role in atherogenesis in these group of patients. Thus, we evaluated subclinical atherosclerosis and plasma levels of circulating electronegative LDL, which represents the fraction of LDL that is minimally modified, in a group of patients with ankylosing spondylitis (AS). Fourteen patients who fulfilled the modified New York criteria for AS were compared with 13 paired controls. Carotid intima-media thickness (IMT) was assessed by ultrasonography bilaterally in common carotid artery, internal carotid artery and bifurcation. Groups were homogeneous regarding cardiovascular risk factors. Only two patients in the AS group were in use of corticosteroid. Patients presented higher CRP levels when compared to controls (12.36 vs. 3.45 mg/dL, $p=0.002$), demonstrating a status of inflammation in patients with AS. No difference was found in any site of carotid IMT between both groups. Mean IMT (6 measurements, at 3 pre-specified sites bilaterally) was 0.72 ± 0.28 in AS group and 0.70 ± 0.45 mm in controls ($p=0.91$). Minimally modified LDL did not differ significantly either between patients and controls ($14.03\text{U/L} \pm 17.40$ vs. $13.21\text{U/L} \pm 10.21$; $p=0.88$). In conclusion, although more inflamed, patients with AS did not show increased carotid IMT in comparison to controls. Similarly, circulating plasma levels of LDL(-) did not differ significantly in both groups.

Keywords

Atherosclerosis . Inflammation . Ankylosing spondylitis . Minimally modified LDL. Carotid intima-media thickness

Introduction

Atherosclerosis is a progressive disease of the large and medium size arteries characterized by inflammation, lipid accumulation, cell death, and thrombosis in vessel wall. The “response to injury hypothesis” postulates that long-term endothelial cell injury alters endothelial permeability to low density lipoproteins (LDL) and induces leukocyte adhesion and migration to the subendothelial space. Regardless of the risk factor inducing endothelial dysfunction, the resulting inflammation process in the arterial wall will promote plaque formation. The uptake of oxidized LDL (OxLDL), but not native LDL, by macrophages in vessel wall will induce the formation of foam cells, which are not only a reservoir of modified lipids, but also a source of proinflammatory mediators contributing to plaque progression. Therefore, proinflammatory OxLDL may represent a unifying link between lipid accumulation and inflammation. Although most of the oxidation of LDL occurs within the vessel wall, lipoproteins can be minimally modified in plasma becoming more prone to oxidation whenever located in the intima. A more electronegative subfraction of LDL, called LDL(-) has been isolated using high resolution ion exchange chromatography (IE-HPLC), and represents circulating minimally modified LDL (mmLDL) in plasma.

The recognition that inflammation is the main feature of atherosclerotic disease led to a series of studies reporting a high prevalence of atherosclerosis in chronic inflammatory diseases, such as rheumatoid arthritis (RA) and systemic lupus erythematosus (SLE). There is a twofold increased risk for myocardial infarction and stroke in patients with RA, which increases to nearly threefold in those who have had the disease for 10 years or more. This increased morbidity and mortality due to atherosclerosis depends not only on traditional risk factors (RF), that may be negatively affected by steroid use. Inflammatory mechanisms are associated with worse cardiovascular outcomes in this group of patients. Although some controversial results have been published, another plausible mechanism for accelerated atherosclerosis in these patients may be increased levels of OxLDL.

Ankylosing spondylitis (AS) is a chronic rheumatic disease that compromises mainly the spine and sacroiliac joints. Despite its inflammatory origin like AR and SLE, it's not clear if atherosclerosis accounts for higher mortality in these patients. As steroids are not commonly part of clinical treatment of these patients, AS may be a better model to evaluate the role of inflammation in atherosclerosis. We hypothesized that AS patients present more signs of systemic inflammation, higher levels of OxLDL and more evident subclinical atherosclerotic disease. Thus, we evaluated carotid intima-media thickness (IMT) and plasma levels of C-reactive protein and minimally modified LDL in patients with AS in comparison to controls.

Methods

Study population

In this cross-sectional study we enrolled 14 patients who fulfilled the modified New York criteria for AS and 13 controls matched for age and gender. Written informed consent was obtained from all subjects and the research protocol was approved by the Ethical Committee of our institution. Essentials of diagnosis of AS were chronic low backache in young adults, generally worst in the morning; progressive limitation of back motion and chest expansion; peripheral arthritis; anterior uveitis; diagnostic radiographic changes in sacroiliac joints and elevated erythrocyte sedimentation rate. Patients were recruited in the ADORE Association, which supports seronegative spondyloarthropathies patients. Controls were enrolled in a 1:1 ratio matched for age and gender. Subjects were questioned about lifestyle and clinical information. Age, gender, and BMI were recorded. Blood samples were collected for the biochemical measurements of complete lipid profile, fasting blood glucose, hematology evaluation, erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein (CRP) and minimally modified LDL. Samples were collected in the morning, after a fasting period of 10-12h; serum and plasma were separated and frozen at -22°C. Cholesterol and triglyceride levels were determined by fully enzymatic techniques. LDL cholesterol was calculated as described by

Friedwald formula. High sensitivity CRP was assessed by turbidimetry methodology.

Minimally modified LDL

The plasma LDL fraction is comprised of a heterogeneous population of particles that varies with respect to charge, density, size, antioxidant content, presence of apoproteins other than apoB and degree of oxidative modification. Concentrations of minimally modified LDL in blood plasma were determined by ELISA using two anti-LDL(-) human monoclonal antibodies (1A3H2 and 2C7D5F10 mAbs). Microplates (EIA/RIA, Costar, Corning Inc., NY, USA) were coated with 50µL of 1A3H2 mAb (0,5µg/well) in carbonate-bicarbonate buffer (pH 9.6, 0.05M) and incubated overnight at 4°C. Then, each microplate was washed 3 times with phosphate-buffered saline (PBS; Tris-HCl 50mM and NaCl 150mM, pH 7.4) containing Tween 20 (0.05%) and blocked with 2% nonfat dry milk for 1 1/2h at 37°C. The microplates were washed again and incubated with 50µl of plasma for 1 1/2h at 37°C. The plates were washed and incubated with biotinylated 2C7D5F10 anti-LDL(-) monoclonal antibody biotinylated for 1h at 37°C. After washing, the microplates were incubated with streptavidin-HRP (horseradish peroxidase) conjugate (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, USA) for 1h at 37°C. Then, the reactivity of peroxidase was measured on washed plates by incubating with 50µl of OPD (orto-phenylenediamine) at 37°C for 15 minutes. The reaction was stopped by adding 2M sulfuric acid, and the absorbance at 492nm was measured by spectrophotometry, using a microplate reader (Spectra Count Microplate Photometer, Packard Instruments Company, Downers Grove, IL, USA). The calibration curve was made with LDL(-) obtained from human plasma. All samples and standards were run in triplicate. The intraassay and interassay variations for this ELISA test were 10% and 15%, respectively.

Carotid intima-media thickness assessment

Carotid IMT is associated with the risk of coronary artery disease, stroke and myocardial infarction and predicts the progression of CVD. Measurement of IMT was performed at the common distal carotid (1-2cm proximal to carotid

bifurcation), bilaterally in the bifurcation and in the internal carotid, as well as at the origin of the right subclavian artery. During the analysis, the highest right and left carotid IMT values were considered, as well as the value measured at the beginning of the right subclavian artery. The right subclavian artery was easily evaluated, since it is more superficial than the contra-lateral subclavian artery; however, this does not denote advantages or technical limitations in relation to the carotid arteries. The measurement of the intima-media complex was performed with a Siemens Sonoline Elegra® vascular ultrasonography equipment. A 7.5 mHz linear transducer was used, with a frequency range of 7-9 mHz, longitudinal section and B-mode images. Thickness measurement was performed at the anterior or posterior artery wall, as the distance between two echogenic lines corresponding to the lumen-intima and media-adventitia interfaces of the artery wall.

Statistical analysis

All analyses were performed with GraphPad Prism (Version 3.02, GraphPad Software Incorporated). Continuous variables are presented as means $\pm$ standard deviation, and categorical variables as number and percentages. Comparison of the values in the two groups were performed using the Student *t*-test. Chi-square statistics were used to assess differences between categorical variables. Pearson's analysis was used to test univariate correlations. A *p* value of <0.05 was considered significant.

Results

Initially 33 subjects were recruited for the study. Twenty seven of those were eligible and signed an informed consent to participate. The baseline characteristics of patients and controls are presented in Table 1. Subjects were predominantly male, and mean age of the patients was 45.14 years $\pm$ 8.99, compared to 46.75 years $\pm$ 8.40 of the controls (*p*=ns). Systolic and diastolic blood pressure was similar in both groups. Body mass index (kg/m^2), was 25.60 $\pm$ 5.02 for AS group and 28.34 $\pm$ 4.09 for controls (*p*=0.139). The abdominal circumference in patients and controls, was respectively, 94.0 $\pm$ 14.3 cm vs.

93.8 ± 14.3 ($p=0.976$). Prevalence of hypertension and diabetes were similar in both groups. Mean time of diagnosis was 12 years for the patients with AS. Only two patients were taking corticosteroids.

Biochemical parameters are presented in Table 2. Lipid profile was similar in both groups, with no difference regarding total cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides and LDL cholesterol. As expected, most inflammatory markers were elevated in patients with AS in comparison to controls. Patients had higher levels of CRP (12.36 ± 7.99 vs. 3.44; $p=0.002$) and total leukocyte count (9550 ± 2256 vs. 6915 ± 1721; $p=0.003$). **Unexpectedly**, ESR did not differ significantly in both groups. Platelet count was also higher in patients with AS (334.000 ± 106.000 vs. 252.000 ± 66.000; $p=0.028$), as previously demonstrated in other rheumatic diseases. Glucose level was higher in control than in AS patients (95.43 ± 10.53 vs. 109.1 ± 13.33; $p=0.009$). Minimally modified LDL did not differ significantly between patients with AS and controls (14.03U/L ± 17.40 vs. 13.21U/L ± 10.21; $p=0.88$).

Data regarding carotid IMT is summarized in table 3. Regardless of the location (internal, bifurcation or common carotid) and side (left or right) of the artery where IMT was assessed, no difference was found between two groups. As previously described, there was also no significant difference in right subclavian artery.

Drugs that were used by patients and controls are described in table 4.

Discussion

Atherosclerosis is an inflammatory condition and the systemic inflammation that characterizes chronic rheumatic diseases may play a role in the acceleration of atherosclerosis in these clinical conditions. In this study, despite of active inflammation as demonstrated by high CRP levels, patients with AS did not present significant differences in signs of subclinical atherosclerosis, as demonstrated by carotid IMT. Similarly, circulating plasma levels of LDL(-), which represents the fraction of LDL that is minimally modified, did not differ significantly in both groups.

Our results are in accordance with a previous study that also demonstrated lack of correlation between AS and increased IMT. In that study,

the young age of patients (mean age 37 years old) and the short time of disease activity could justify, at least in part, the lack of differences between controls and AS patients. If systemic inflammation is causally involved in the mechanisms behind the vascular atherosclerotic changes, more time in contact with the inflammatory *milieu* would be necessary to induce thickening of the arteries. Accordingly, the same study demonstrated that AS patients presented an altered endothelial function, as demonstrated by impaired flow mediated dilation of brachial artery. This finding suggests that, if earlier vascular status (preceding the morphological changes in arterial wall) are evaluated, the differences between controls and AS patients can be observed. Considering patients with other rheumatologic conditions, not only IMT is already increased in fourth decade, but also the length of disease (mean time of diagnosis in our population was 12 years) is a determinant of thickening. Whether age (mean 45 years old) was a limiting factor in our study is not certain. In a recent publication in which IMT was also assessed in patients with AS, only a trend towards increased thickness was observed. Similarly to our study, patients in control group had a slight worse metabolic profile than patients in AS, particularly higher glucose levels. An interesting finding in that study was that arterial stiffness, another marker of subclinical atherosclerosis, was not modified by TNF- α inhibitors, suggesting that modulation of inflammatory response has no effect on arterial wall injury. More studies analyzing other early markers of the atherosclerotic process will be important to clarify this discussion.

This was the first study to evaluate plasma levels of modified LDL in patients with AS. Although elevated levels of oxidized LDL have been previously reported in patients with other autoimmune diseases, little has been published regarding minimally modified LDL in rheumatic diseases. These moieties are more prone to be oxidized when into the subendothelial space, where most of oxidation process occurs. Although not as pro-atherogenic as oxidized LDL, minimally modified LDL induces monocyte adhesion to endothelial cells and MCP-1 production, critical steps in early atherogenesis. The source of these minimally modified forms remains unclear; however, there are three possible sources: oxidation of LDL in the arterial wall followed by egress into the circulation, ingestion of oxidized fats and/or generation from postprandial lipoprotein remnants or direct oxidation in blood plasma.

Regardless of the source, our findings do not support any role of inflammation in this initial modification of LDL particle. Not only plasma levels were similar in AS and control group, but also no correlation was found between minimally modified LDL and CRP levels (data not shown). Whether the same concept can be applied to oxidized LDL levels in patients with AS remains to be exploited. In patients with SLE and RA, not only oxidized LDL, but also their autoantibodies are associated with atherosclerosis.

It's not clear why the results in patients with AS are consistently in the opposite direction of studies with SLE and RA regarding atherosclerosis. It's worth mentioning that corticosteroids treatment is always a confounding factor in those studies. While commonly prescribed in patients with RA and SLE, this is not a first line treatment in AS. In our study, two patients were using prednisone. Mainly when used in high doses, corticosteroids have an important detrimental effect on several cardiovascular risk factors. These effects can be in part responsible for the accelerated atherosclerosis observed in patients with SLE and RA. Further studies including higher number of patients with AS taking steroids could clarify this issue.

A potential limitation of our study is the fact that patients with more physical impairment, although invited during screening phase, were not enrolled in the protocol. Refusal was always justified by difficulties in transportation. This is a frequent bias, also reported in studies with RA and SLE. Once patients with worst clinical conditions were not included, we may have lost those with more complications, including atherosclerosis due to their inflammatory condition.

In conclusion, despite active inflammation, there is no difference regarding plasma levels of minimally modified LDL and carotid IMT assessed by ultrasonography between patients with AS and controls. These findings are in accordance with previous studies in AS but in the opposite direction of studies with other inflammatory diseases, namely SLE and RA. Further studies are necessary to explore the role of inflammation *per se* as an accelerating factor for atherosclerosis in patients with other rheumatologic conditions.

References

Table 1. Clinical characteristics

Characteristics	AS	Control group	<i>P</i>
Age (years)	45±9	46±8	0,64
Male(%)	78	77	ns
Body mass index (kg.m ⁻²)	26±5	28±4	0,14
Abdominal circumference (cm)	94±14	94±14	0,97
Systolic blood pressure (mmHg)	121±22	118±14	0,65
Diastolic blood pressure (mmHg)	79±12	77±7	0,55
Hypertension (%)	21	30	ns
DM (%)	7	7	ns
Hyperlipidemia (%)	21	30	ns

Table 2. Biochemical parameters

Biochemical measurement	AS	Control group	<i>P</i>
Cholesterol (mg/dl)	185,40±34,88	221,60±59,46	0,080
HDL (mg/dl)	46,79±10,64	44,25±11,11	0,559
Tryglicerides (mg/dl)	131,20±66,53	196,40±105,20	0,080
LDL (mg/dl)	112,10±29,10	140,70±47,80	0,099
LDLmm (U/L)	14,03±17,40	13,21±10,21	0,880
Glucose (mg/dl)	95,43±10,53	109,10±13,33	0,009
Leukocytes (/mm ³)	9550±2256	6915±1721	0,003
Platelets (x10 ³)	334±106	252±66	0,028
ESR (mm)	21,64±15,01	15,64±12,42	0,285
CRP (mg/l)	12,36±7,99	3,45±4,81	0,002

Table 3. Doppler ultrasonography assessment of intima-media thickness (IMT) of left (L) and right (R) carotid and right subclavian

Characteristics	AS	Control group	<i>P</i>
Left common carotid (mm)	0,58±0,13	0,69±0,53	ns

Left bifurcation (mm)	0,86±0,42	0,85±0,35	ns
Left internal carotid (mm)	0,74±0,54	0,67±0,15	ns
Right common carotid (mm)	0,55±0,16	0,55±0,12	ns
Right bifurcation (mm)	0,82±0,37	0,80±0,42	ns
Right internal carotid (mm)	0,79±0,53	0,70±0,45	ns
Right subclavian (mm)	1,16±0,62	0,95±0,30	ns

Table 4. Drugs

2 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde que foram vencidas as causas infecciosas de morte e doença, o processo aterosclerótico e as suas conseqüências tornaram-se os novos desafios para a Medicina e a Ciência. Atingindo clinicamente pessoas em idade produtiva, ao redor da 5ª década, as doenças como o acidente vascular cerebral, o infarto agudo do miocárdio e suas seqüelas trazem grande impacto tanto para o indivíduo quanto para a sociedade. Desta forma urge ações vigorosas não apenas no tratamento de suas complicações como também na sua profilaxia.

O conhecimento dos mecanismos da aterogênese é fundamental para a tomada de medidas cada vez mais precoces e eficazes. O primeiro passo foi a descoberta de que as artérias não são apenas tubos inanimados por onde flui o sangue, mas sim um complexo composto de diferentes tipos celulares que sofre a ação dos diversos sistemas do organismo. Após o grande salto dado com o reconhecimento dos fatores de risco cardiovascular clássicos, a partir do estudo de Framingham, surgiram descobertas apontando novas direções como o papel da inflamação na aterosclerose.

Já é fato bem estabelecido que a aterosclerose é uma doença de característica inflamatória local, entretanto ainda não é certo o papel da inflamação sistêmica na parede arterial. Estudos envolvendo pacientes com AR e LES apontam nesta direção, mas são muitos os pontos obscuros. O nosso trabalho teve como foco a avaliação da aterosclerose em pacientes sob inflamação sistêmica crônica, com EA.

O fato de nossos achados terem demonstrado que não houve aumento da aterosclerose sub-clínica neste grupo de pacientes, apesar da sua atividade inflamatória, não dita uma certeza absoluta, sendo apenas mais um estudo sobre as bases do processo aterosclerótico. Estamos fazendo parte das pesquisas, em busca do conhecimento para poder propiciar a todos, um dia, melhores condições de vida com o controle das doenças ateroscleróticas, assim como já foi feito com as doenças infecto-contagiosas.

3 REFERÊNCIAS

1. Berliner, J.A. and A.D. Watson, *A role for oxidized phospholipids in atherosclerosis*. N Engl J Med, 2005. **353**(1): p. 9-11.
2. Santos, R.D., *[III Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Guideline of Atherosclerosis Prevention from Atherosclerosis Department of Sociedade Brasileira de Cardiologia]*. Arq Bras Cardiol, 2001. **77 Suppl 3**: p. 1-48.
3. Nabel, E.G., *Cardiovascular disease*. N Engl J Med, 2003. **349**(1): p. 60-72.
4. Palinski, W. and C. Napoli, *The fetal origins of atherosclerosis: maternal hypercholesterolemia, and cholesterol-lowering or antioxidant treatment during pregnancy influence in utero programming and postnatal susceptibility to atherogenesis*. FASEB J, 2002. **16**(11): p. 1348-60.
5. Lindegaard, M.L., et al., *Increased LDL cholesterol and CRP in infants of mothers with type 1 diabetes*. Diabetes Metab Res Rev, 2008. **24**(6): p. 465-71.
6. dos Santos, M.G., et al., *Risk factors for the development of atherosclerosis in childhood and adolescence*. Arq Bras Cardiol, 2008. **90**(4): p. 276-283.
7. Polanczyk, C.A., *[Cardiovascular risk factors in Brazil: the next 50 years!]*. Arq Bras Cardiol, 2005. **84**(3): p. 199-201.
8. Zipes DP, L.P., Bonow RO, Braunwald E, *Braunwald's Heart Disease: a textbook of cardiovascular medicine*. 7 ed. 2005, Philadelphia: Elsevier's Health Sciences.
9. Ascherio, A., et al., *Dietary fat and risk of coronary heart disease in men: cohort follow up study in the United States*. BMJ, 1996. **313**(7049): p. 84-90.
10. Choy, P.C., et al., *Lipids and atherosclerosis*. Biochem Cell Biol, 2004. **82**(1): p. 212-24.
11. Libby, P., *Inflammation in atherosclerosis*. Nature, 2002. **420**(6917): p. 868-74.
12. Majesky, M.W., *Vascular smooth muscle diversity: insights from developmental biology*. Curr Atheroscler Rep, 2003. **5**(3): p. 208-13.
13. Shoenfeld, Y., et al., *Autoantibodies associated with atherosclerosis*. Ann Med, 2000. **32 Suppl 1**: p. 37-40.
14. Frostegard, J., *SLE, atherosclerosis and cardiovascular disease*. J Intern Med, 2005. **257**(6): p. 485-95.
15. Thiagarajan, P., *Atherosclerosis, autoimmunity, and systemic lupus*

erythematosus. *Circulation*, 2001. **104**(16): p. 1876-7.

16. Mertens, A. and P. Holvoet, *Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis*. *FASEB J*, 2001. **15**(12): p. 2073-84.

17. Ross, R., *Atherosclerosis--an inflammatory disease*. *N Engl J Med*, 1999. **340**(2): p. 115-26.

18. Pai, J.K., et al., *Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women*. *N Engl J Med*, 2004. **351**(25): p. 2599-610.

19. Gonzalez, M.A. and A.P. Selwyn, *Endothelial function, inflammation, and prognosis in cardiovascular disease*. *Am J Med*, 2003. **115 Suppl 8A**: p. 99S-106S.

20. Khovidhunkit, W., et al., *Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host*. *J Lipid Res*, 2004. **45**(7): p. 1169-96.

21. Adams, M.R., et al., *Atherogenic lipids and endothelial dysfunction: mechanisms in the genesis of ischemic syndromes*. *Annu Rev Med*, 2000. **51**: p. 149-67.

22. Chang, M.K., et al., *C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: Phosphorylcholine of oxidized phospholipids*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002. **99**(20): p. 13043-8.

23. Wu, J.T. and L.L. Wu, *Autoantibodies against oxidized LDL. A potential marker for atherosclerosis*. *Clin Lab Med*, 1997. **17**(3): p. 595-604.

24. Wallenfeldt, K., et al., *Oxidized low-density lipoprotein in plasma is a prognostic marker of subclinical atherosclerosis development in clinically healthy men*. *J Intern Med*, 2004. **256**(5): p. 413-20.

25. Liu, M.L., et al., *Circulating oxidized low-density lipoprotein and its association with carotid intima-media thickness in asymptomatic members of familial combined hyperlipidemia families*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004. **24**(8): p. 1492-7.

26. Liu, M.L., et al., *Association between carotid intima-media thickness and low-density lipoprotein size and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation in asymptomatic members of familial combined hyperlipidemia families*. *Stroke*, 2002. **33**(5): p. 1255-60.

27. Rossi, G.P., et al., *Antibodies to oxidized low-density lipoproteins and angiographically assessed coronary artery disease in white patients*. *Circulation*, 2003. **108**(20): p. 2467-72.

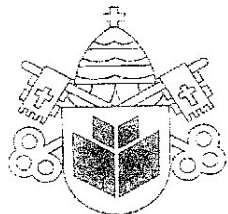
28. Tsimikas, S., et al., *Oxidized phospholipids, Lp(a) lipoprotein, and coronary artery disease*. *N Engl J Med*, 2005. **353**(1): p. 46-57.

29. Mayr, M., et al., *Oxidized low-density lipoprotein autoantibodies, chronic infections, and carotid atherosclerosis in a population-based study*. J Am Coll Cardiol, 2006. **47**(12): p. 2436-43.
30. Libby, P., P.M. Ridker, and A. Maseri, *Inflammation and atherosclerosis*. Circulation, 2002. **105**(9): p. 1135-43.
31. Glurich, I., et al., *Systemic inflammation in cardiovascular and periodontal disease: comparative study*. Clin Diagn Lab Immunol, 2002. **9**(2): p. 425-32.
32. Yao, Q., et al., *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma polymorphisms affect systemic inflammation and survival in end-stage renal disease patients starting renal replacement therapy*. Atherosclerosis, 2005. **182**(1): p. 105-11.
33. Szeto, C.C., et al., *Endotoxemia is related to systemic inflammation and atherosclerosis in peritoneal dialysis patients*. Clin J Am Soc Nephrol, 2008. **3**(2): p. 431-6.
34. Leowattana, W., *Chronic infections and atherosclerosis*. J Med Assoc Thai, 2001. **84 Suppl 3**: p. S650-7.
35. Spence, J.D. and J. Norris, *Infection, inflammation, and atherosclerosis*. Stroke, 2003. **34**(2): p. 333-4.
36. Carotti, M., et al., *[Atherosclerosis in rheumatoid arthritis: the role of high-resolution B mode ultrasound in the measurement of the arterial intima-media thickness]*. Reumatismo, 2007. **59**(1): p. 38-49.
37. Pasceri, V., J.T. Willerson, and E.T. Yeh, *Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells*. Circulation, 2000. **102**(18): p. 2165-8.
38. Teoh, H., et al., *Impaired endothelial function in C-reactive protein overexpressing mice*. Atherosclerosis, 2008.
39. Scirica, B.M. and D.A. Morrow, *Is C-reactive protein an innocent bystander or proatherogenic culprit? The verdict is still out*. Circulation, 2006. **113**(17): p. 2128-34; discussion 2151.
40. Zhao, J., et al., *Protective effects of aspirin against oxidized LDL-induced inflammatory protein expression in human endothelial cells*. J Cardiovasc Pharmacol, 2008. **51**(1): p. 32-7.
41. Nakase, T., et al., *The impact of inflammation on the pathogenesis and prognosis of ischemic stroke*. J Neurol Sci, 2008. **271**(1-2): p. 104-9.
42. Pirro, M., et al., *Low-grade systemic inflammation impairs arterial stiffness in newly diagnosed hypercholesterolaemia*. Eur J Clin Invest, 2004. **34**(5): p. 335-41.

43. Liuba, P., et al., *Residual adverse changes in arterial endothelial function and LDL oxidation after a mild systemic inflammation induced by influenza vaccination*. Ann Med, 2007. **39**(5): p. 392-9.
44. Paramo, J.A., J.A. Rodriguez, and J. Orbe, *[Atherosclerosis in inflammatory diseases]*. Med Clin (Barc), 2007. **128**(19): p. 749-56.
45. Han, C., et al., *Cardiovascular disease and risk factors in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis*. J Rheumatol, 2006. **33**(11): p. 2167-72.
46. Steiner, G. and M.B. Urowitz, *Lipid Profiles in Patients with Rheumatoid Arthritis: Mechanisms and the Impact of Treatment*. Semin Arthritis Rheum, 2008.
47. Troelsen, L.N. and S. Jacobsen, *[Chronic inflammation increases the risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis]*. Ugeskr Laeger, 2006. **168**(39): p. 3304-8.
48. Garcia Diaz Jde, D., et al., *[Determinants of carotid subclinical atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. A case-control study]*. Med Clin (Barc), 2008. **130**(6): p. 210-2.
49. Popkova, T.V., et al., *[Cardiovascular diseases in rheumatoid arthritis]*. Ter Arkh, 2007. **79**(5): p. 9-14.
50. Hahn, B.H. and M. McMahon, *Atherosclerosis and systemic lupus erythematosus: the role of altered lipids and of autoantibodies*. Lupus, 2008. **17**(5): p. 368-70.
51. Hahn, B.H., et al., *The pathogenesis of atherosclerosis in autoimmune rheumatic diseases: roles of inflammation and dyslipidemia*. J Autoimmun, 2007. **28**(2-3): p. 69-75.
52. Coaccioli, S., et al., *Intima-media thickness of common carotid as cardiovascular risk factor in rheumatoid arthritis and metabolic disorders*. Clin Ter, 2007. **158**(6): p. 505-8.
53. Goie The, H.S., et al., *Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis: a comparison of the Rome, New York and modified New York criteria in patients with a positive clinical history screening test for ankylosing spondylitis*. Br J Rheumatol, 1985. **24**(3): p. 242-9.
54. M., M.S.J.P.M.A.T.J.L., *Current Medical Diagnosis & Treatment*. 2007: The Mc Graw-Hill Companies.
55. Heeneman, S. and M.J. Daemen, *Cardiovascular risks in spondyloarthritides*. Curr Opin Rheumatol, 2007. **19**(4): p. 358-62.

ANEXOS

ANEXO A
TERMO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ
DE ÉTICA EM PESQUISAS EM HUMANOS



Curitiba, 18 de outubro de 2006.

Of. 615/06/CEP-PUCPR

Ref. "Avaliação da LDL oxidada em pacientes com espondilite anquilosante."

Prezado (a) Pesquisador (es),

Venho por meio deste informar a Vossa Senhoria que o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR, no dia 17 de outubro do corrente ano aprovou o Projeto Intitulado "Avaliação da LDL oxidada em pacientes com espondilite anquilosante.", pertencente ao Grupo III, sob o registro no CEP nº 1148, e será encaminhado a CONEP para o devido cadastro. Lembro ao senhor (a) pesquisador (a) que é obrigatório encaminhar relatório anual parcial e relatório final a este CEP.

Atenciosamente,

Profª M. Sc Ana Cristina Miguez Ribeiro
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa - PUCPR

Ilma Sra

Fernanda Teles Ceccon

ANEXO B

FICHA CLÍNICA

Ficha Clínica Projeto “Avaliação da LDL oxidada em pacientes com espondilite”
--

Nome

Endereço

Telefone

Celular

Data de nascimento

Idade

Est. Civil S C U V

Sexo ♂ ♀

Raça B N A I P

Estadiamento

Tempo Dx m

Tto. Atual sim não

Droga

Dose

Outras drogas

HAS sim não

PAS

PAD

DM sim não

DLP sim não

DAC sim não

Tabagismo	sim	não
------------------	-----	-----

Pctes/dia	tempo
------------------	-------

Etilismo	sim	não
-----------------	-----	-----

Qtde./dia	tempo
------------------	-------

Peso	kg
-------------	----

Altura	metro
---------------	-------

IMC	kg/cm ²
------------	--------------------

CA	cm
-----------	----

LAB data

VG

Hb

VCM

HCM

Leucócitos

Plaquetas

CT

LDL

LDL-Ox

HDL

Triglicerídeos

Glicemia

Uréia

Creatinina

VHS

PCR-Us

Outros

Legenda

S – solteiro

C – casado

U – união estável

V - viúvo

B – branco

N – negro

A – amarelo

I - índio

P - pardo

Dx – diagnóstico

Tto. – tratamento

DLP – dislipidemia

DAC – história mórbida de doença arterial coronariana

M - meses

Pctes/d – pacotes por dia

Qtde/d – quantidade por dia

CA – circunferência abdominal

CT – colesterol total

ANEXO C

MAPA DO AMBULATÓRIO

Ambulatório do Projeto “Avaliação da LDL Oxidada em Pacientes com Espondilite Anquilosante”

Hospital Nossa Senhora da Luz

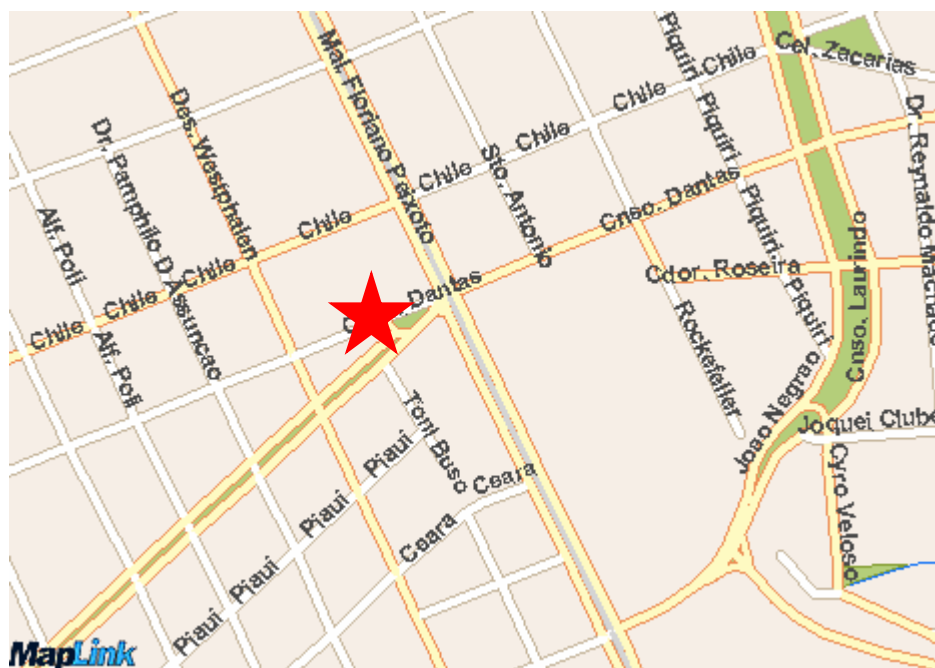
Av. Marechal Floriano Peixoto, 2509

Bairro Rebouças - Curitiba – Paraná

Telefone: 0 XX 41 3021 – 5709

Linhas de ônibus próximas (fonte URBS):

- Detran – Vicente Machado
- Itupava – Cohab – Praça Zacarias
- Interhospitais
- Curitiba – Campo Largo – Ligeirinho
- Interbairros I



ANEXO D
TERMO DE CONSENTIMENTO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Projeto de pesquisa:
AVALIAÇÃO DA LDL OXIDADA EM PACIENTES COM ESPONDILITE
ANQUILOSANTE

Instituição:

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Pesquisador Principal:

Dra. Fernanda Teles Ceccon – CRM 18388

Médica Cardiologista

Aluna do curso de Mestrado em Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

Orientador:

Prof. Dr. José Rocha Faria Neto.

Doutor em Cardiologia pela Faculdade de Medicina da USP

Pós-Doutor em Aterosclerose pelo Cedars Sinai Medical Center (UCLA)

Professor Adjunto de Cardiologia da PUCPR

Este documento é um termo de consentimento livre e esclarecido. Ele informa a você os objetivos, duração, procedimentos, riscos e benefícios sobre o estudo de pesquisa clínica no qual você está sendo convidado a participar. Você precisa ler, entender e assinar este termo de consentimento livre e esclarecido se concordar em participar deste estudo.

Você está sendo convidado a participar desta pesquisa por ser portador de Espondilite Anquilosante, uma doença reumatológica que afeta principalmente suas articulações da coluna. Diversos estudos têm demonstrado que portadores de algumas

doenças reumatológicas são mais susceptíveis a desenvolver aterosclerose, a doença que causa o “entupimento” das artérias do coração por placas de gordura. Uma das hipóteses para que isto ocorra é que a própria inflamação da doença poderia tornar a molécula de colesterol ruim (LDL-colesterol) mais agressiva, facilitando o seu acúmulo nas artérias. Isto ocorreria por uma modificação na estrutura da molécula do colesterol ruim, em um processo conhecido como oxidação. Nós não sabemos se isto ocorre nos portadores de Espondilite Anquilosante.

Neste estudo, avaliaremos os seus níveis de LDL oxidada em amostra de sangue, e para avaliar se há algum grau de comprometimento de suas artérias, realizaremos um estudo das artérias carótidas (no pescoço) por ultra-sonografia, um método não invasivo e indolor, que consiste em passar um gel na pele possibilitando que os vasos aonde o sangue circula apareçam em uma tela. Serão feitos também exames de sangue para avaliação de perfil lipídico (“gordura do sangue”), glicemia (“açúcar do sangue”), provas de atividade inflamatória (para medir o “grau de inflamação”) entre outros. Os riscos referentes aos procedimentos do estudo são mínimos. Como realizaremos a dosagem em amostra de sangue, existe a possibilidade de formação de hematomas no local da punção venosa e desconforto. Serão feitos todos os esforços para que tudo seja realizado com o menor desconforto possível. Equipamento necessário e pessoal treinado estarão à disposição.

É uma decisão sua participar deste estudo. Você pode decidir parar a qualquer momento, sem ocorrência de danos ou perda de benefícios aos quais você tenha direito. A participação neste estudo será sem custos para você. Caso você decida não participar deste estudo, continuará a receber o atendimento padrão que qualquer paciente na sua condição receberia. Sua decisão de não participar ou retirar-se do estudo não envolverá nenhuma penalidade ou perda dos benefícios aos quais você tem direito, e não afetarão seu acesso ao atendimento médico.

Você tem direito de fazer perguntas relacionadas a este estudo a qualquer momento. Quaisquer dúvidas decorrentes da metodologia, questionário, realização do exame, entrar em contato com a Dra. Fernanda Ceccon, pelo telefone (41) 9975-3100. Os registros do estudo que o identificam serão mantidos confidenciais conforme exigido por lei. Você deve estar ciente e concordar que, conservando o anonimato de cada indivíduo, os resultados dos exames poderão ser publicados e/ou apresentados em revistas, palestras e congressos.

Compreendo a finalidade deste estudo. Foi permitido que eu fizesse perguntas e minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente. Fui informado sobre quem contatar se tiver perguntas adicionais. Li este consentimento e concordo em estar neste estudo, com o entendimento que posso me retirar a qualquer momento. Fui informado de que receberei uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

Data: _____

Nome do participante em letra de forma:

Assinatura do participante e RG:

Nome do profissional obtendo o consentimento em letra de forma:

Assinatura do profissional obtendo o consentimento:

ANEXO E
TERMO DE CONSENTIMENTO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Projeto de pesquisa:
AVALIAÇÃO DA LDL OXIDADA EM PACIENTES COM ESPONDILITE
ANQUILOSANTE

Instituição:

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Pesquisador Principal:

Dra. Fernanda Teles Ceccon – CRM 18388

Médica Cardiologista

Aluna do curso de Mestrado em Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)

Orientador:

Prof. Dr. José Rocha Faria Neto.

Doutor em Cardiologia pela Faculdade de Medicina da USP

Pós-Doutor em Aterosclerose pelo Cedars Sinai Medical Center (UCLA)

Professor Adjunto de Cardiologia da PUCPR

Este documento é um termo de consentimento livre e esclarecido. Ele informa a você os objetivos, duração, procedimentos, riscos e benefícios sobre o estudo de pesquisa clínica no qual você está sendo convidado a participar. Você precisa ler, entender e assinar este termo de consentimento livre e esclarecido se concordar em participar deste estudo.

Esta será realizada em portadores de Espondilite Anquilosante, uma doença reumatológica que afeta principalmente suas articulações da coluna. Diversos estudos

têm demonstrado que portadores de algumas doenças reumatológicas são mais susceptíveis a desenvolver aterosclerose, a doença que causa o “entupimento” das artérias do coração por placas de gordura. Uma das hipóteses para que isto ocorra é que a própria inflamação da doença poderia tornar a molécula de colesterol ruim (LDL-colesterol) mais agressiva, facilitando o seu acúmulo nas artérias. Isto ocorreria por uma modificação na estrutura da molécula do colesterol ruim, em um processo conhecido como oxidação. Nós não sabemos se isto ocorre nos portadores de Espondilite Anquilosante.

Você está sendo convidado a participar desta pesquisa para fazer parte do grupo controle. Isto é necessário, pois os resultados que vão ser obtidos dos pacientes com Espondilite Anquilosante devem ser comparados com os resultados de pessoas que não tenham esta doença. Desta forma, o grupo controle é formado por pessoas que não têm Espondilite Anquilosante.

Este estudo será realizado em duas etapas. Na primeira será realizada uma avaliação clínica e na segunda alguns pacientes serão submetidos à coleta de sangue (exames de sangue) para avaliarmos os níveis de LDL oxidada, o perfil lipídico (“gordura do sangue”), glicemia (“açúcar do sangue”), provas de atividade inflamatória (para medir o “grau de inflamação”) entre outros. Os riscos referentes aos procedimentos do estudo são mínimos. Como realizaremos a dosagem em amostra de sangue, existe a possibilidade de formação de hematomas no local da punção venosa e desconforto. Serão feitos todos os esforços para que tudo seja realizado com o menor desconforto possível. Equipamento necessário e pessoal treinado estarão à disposição.

É uma decisão sua participar deste estudo. Você pode decidir parar a qualquer momento, sem ocorrência de danos ou perda de benefícios aos quais você tenha direito. A participação neste estudo será sem custos para você. Sua decisão de não participar ou retirar-se do estudo não envolverá nenhuma penalidade ou perda dos benefícios aos quais você tem direito, e não afetarão seu acesso ao atendimento médico.

Você tem direito de fazer perguntas relacionadas a este estudo a qualquer momento. Quaisquer dúvidas decorrentes da metodologia, questionário, realização do exame, entrar em contato com a Dra. Fernanda Ceccon, pelo telefone (41) 9975-3100. Os registros do estudo que o identificam serão mantidos confidenciais conforme exigido por lei. Você deve estar ciente e concordar que, conservando o anonimato de cada indivíduo, os resultados dos exames poderão ser publicados e/ou apresentados em

revistas, palestras e congressos.

Compreendo a finalidade deste estudo. Foi permitido que eu fizesse perguntas e minhas perguntas foram respondidas satisfatoriamente. Fui informado sobre quem contatar se tiver perguntas adicionais. Li este consentimento e concordo em estar neste estudo, com o entendimento que posso me retirar a qualquer momento. Fui informado de que receberei uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

Data: _____

Nome do participante em letra de forma:

Assinatura do participante e RG:

Nome do profissional obtendo o consentimento em letra de forma:

Assinatura do profissional obtendo o consentimento:
