

CARLOS JOSÉ DORNAS GONÇALVES BARBOSA

Mecanismos envolvidos no aumento do risco de sangramento em pacientes com acidente vascular cerebral ou ataque isquêmico transitório prévios em uso de antiagregante plaquetário

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Nicolau

SÃO PAULO

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Barbosa, Carlos José Dornas Gonçalves
Mecanismos envolvidos no aumento do risco de
sangramento em pacientes com acidente vascular
cerebral ou ataque isquêmico transitório prévios em
uso de antiagregante plaquetário / Carlos José
Dornas Gonçalves Barbosa. -- São Paulo, 2017.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.
Orientador: José Carlos Nicolau.

Descritores: 1.Testes de função plaquetária
2.Hemorragia 3.Doença da artéria coronariana
4.Síndrome coronariana aguda 5.Acidente vascular
cerebral 6.Ataque isquêmico transitório

USP/FM/DBD-447/17

"Aos elogios do mundo, prefiro os aplausos da minha consciência"...

Ruy Barbosa

A minha mãe Lúcia, que sempre acreditou que a educação e o exemplo são a maior herança que um filho pode receber.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, por se dedicarem para que tivesse uma boa educação e apoiarem meus sonhos, mesmo que para isso tivessem que abrir mão da minha presença.

À minha esposa Gabriela, pelo companheirismo, pela compreensão e por sempre trazer serenidade aos meus momentos de apreensão.

À minha irmã Anna, pelo amor incondicional, pelo sorriso nas minhas conquistas e incentivos nas minhas derrotas.

Ao meu primo/irmão Mauro, por estar ao meu lado e sempre acreditar no meu potencial.

Aos amigos/irmãos Bernardo, Hudson, Leandro e Maxwell, pelas inúmeras risadas que atenuaram os percalços desse trabalho.

Aos professores da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Dr. Alúcio Prata (*in memoriam*), Dr. Dalmo Correia Filho e Dr. Mário Leon da Silva-Vergara, por me introduzirem o amor pela ciência.

Aos chefes do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, por me guiarem durante os primeiros passos da pesquisa em cardiologia.

À amiga Renata de Sousa Barreiros, pela generosidade em me ceder o trabalho que havia iniciado e torcer para que eu o concluísse com êxito.

Aos amigos da unidade coronária do InCor, André Franci, Flávia Bittar e Fernando Menezes, pelos diversos momentos de parceria que possibilitaram o bom andamento desse projeto.

Às queridas secretarias, “Claudinha” e “Francis”, por sempre estarem com um sorriso no rosto e prontas a ajudar.

Aos chefes da Unidade Clínica de Coronariopatia Aguda do InCor, Dr Luciano Baracioli, Dr. Roberto Rocha Giraldez, Dr. Fernando Ganem, Dr. Marcelo Franken, Dr. Felipe Galego e Dr. Remo de Mendonça Filho, pelos ensinamentos de vida e em Coronariopatia aguda, fundamentais para a realização desse trabalho.

Aos amigos do Hospital do Coração do Brasil (em Brasília), principalmente ao Dr. Paulo Cardoso e a Dra. Maria Fernanda Garcia, por me ajudarem, nas diversas oportunidades que precisei deixar Brasília no transcorrer dessa tese.

Aos funcionários do laboratório de análises clínicas do InCor, em nome da Dra. Célia Strunz, pela realização de diversos testes descritos nos resultados do presente estudo.

Aos funcionários do laboratório de Hemostasia do Hospital das Clínicas da USP, em nome da Dra. Tânia Rocha, pelos exames realizados que muito contribuíram para o resultado dessa pesquisa.

Aos funcionários do laboratório de Genética, em nome do Dr. Alexandre Pereira, Dr Paulo Caleb Santos e da Sra. Noeli Ferreira, pelos ensinamentos básicos em bancada, por possibilitarem armazenamento de amostras e realização de testes genéticos que permitirão a continuidade da linha de pesquisa com os pacientes desse projeto.

Aos funcionários do laboratório de Metabolismo de Lípedes, em nome do Prof. Dr. Raul Maranhão e Sra. Fátima Freitas, pela realização dos testes de transferência de lípedes para o HDL, que propiciaram resultados muito relevantes para o presente estudo.

Aos pacientes participantes do estudo, pela confiança em mim depositada que permitiu a realização desse trabalho.

Por fim ao meu orientador, Professor José Carlos Nicolau, pelo exemplo de dedicação e organização com o trabalho, pelos conselhos e cobranças que me permitiram evoluir como médico e pesquisador durante o transcorrer dessa tese. Sempre serei grato por ter me aberto as portas da UCO durante minha especialização, posteriormente como plantonista e finalmente como pós-graduando. Obrigado pela oportunidade de convívio como orientador e amigo, e por ter me ensinado muito mais do que as páginas dessa tese podem demonstrar.

Trabalho realizado na Unidade Clínica de Coronariopatia Aguda do Instituto do Coração (Incor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Patrocinado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Registro no Clinical Trials: NCT02316119.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação.
Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	A importância das doenças cardiovasculares	2
1.2	Eventos cardiovasculares em pacientes com AVCI prévio:.....	4
1.2.1	Desfechos cardiovasculares em pacientes com AVCI/AIT prévio e doença isquêmica cardíaca	5
1.3	Antiagregantes plaquetários e eventos cardiovasculares.....	7
1.3.1	Antiagregantes plaquetários nas SIMI.....	7
1.3.2	Antiagregantes plaquetários no AVCI/AIT	8
1.4	Sangramentos em pacientes com SIMI.....	11
1.5	Eventos hemorrágicos em pacientes com antecedente de AVCI/AIT	12
1.6	Fisiopatologia do aumento de sangramentos em indivíduos com AVCI/AIT prévio.....	15
2	OBJETIVOS	18
2.1	Objetivo primário	19
2.2	Objetivos secundários	19
3	MÉTODOS	21
3.1	Casuística.....	22
3.2	Métodos.....	22
3.2.1	Critérios de inclusão.....	22
3.2.2	Critérios de exclusão.....	23
3.2.3	Variáveis de pareamento	23
3.3	Seleção de pacientes	24
3.3.1	Avaliação médica	24
3.3.2	Coleta de sangue	25
3.4	Descrição sucinta dos principais testes laboratoriais utilizados	25
3.5	Análise estatística.....	30
4	RESULTADOS.....	33
4.1	Seleção de pacientes	34
4.2	Variáveis de pareamento.....	35
4.3	Características basais	36
4.3.1	Medicações de uso prévio.....	38
4.4	Análise do objetivo primário	39

4.5	Análises de objetivos secundários.....	41
4.5.1	Testes de agregabilidade plaquetária	41
4.5.2	Variáveis hematimétricas e metabólicas	43
4.5.3	Variáveis inflamatórias	44
4.5.4	Coagulação e fibrinólise	45
4.5.5	Transferência de lípidos para o HDL colesterol	46
4.5.6	Análise de subgrupos.....	47
5	DISCUSSÃO	48
5.1	Fatores de risco cardiovascular, doença cardiovascular estabelecida e risco de sangramento em pacientes com AVCI/AIT prévio	49
5.2	Medicações e risco de sangramento	51
5.3	Agregabilidade plaquetária e risco de sangramento.....	52
5.3.1	VerifyNow Aspirin®	52
5.3.2	VerifyNow P2Y12®	54
5.4	Variáveis hematimétricas/metabólicas e risco de sangramentos	56
5.5	Variáveis inflamatórias e eventos hemorrágicos	57
5.6	Marcadores de coagulação/fibrinólise e eventos hemorrágicos	59
5.7	Transferência de lipídios para o HDL e eventos hemorrágicos	60
5.8	Limitações	62
6	CONCLUSÕES	63
7	ANEXO	65
8	REFERÊNCIAS.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	- Ácido acetil salicílico
ACO	- Anticoagulação oral
ADAPT-DES	- <i>Assessment of Dual AntiPlatelet Therapy with Drug-Eluting Stents</i>
ADP	- Difosfato de adenosina
AI	- Angina instável
AINE	- Anti-inflamatório não esteroide
AIT	- Acidente isquêmico transitório
ARPR	- Alta reatividade plaquetária residual
AVC	- Acidente vascular cerebral
AVCH	- Acidente vascular cerebral hemorrágico
AVCI	- Acidente vascular cerebral isquêmico
BRA	- Bloqueador de receptor da angiotensina
BRPR	- Baixa reatividade plaquetária residual
CHAMPION-PHOENIX	- <i>Cangrelor versus Standard Therapy to Achieve Optimal Management of Platelet Inhibition</i>
CLARITY-TIMI 28	- <i>Addition of Clopidogrel to Aspirin and Fibrinolytic Therapy for Myocardial Infarction with ST-segment Elevation</i>
CICr	- Taxa de filtração glomerular
COMMIT	- <i>Clopidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial</i>
COX- 1	- Cicloxigenase-1
CPTP	- Ciclopentiltriazolopirimidínicos
Cr	- Creatinina
CRM	- Cirurgia de revascularização miocárdica
CRUSADE	- <i>Can Rapid risk stratification of Unstable angina patients Suppress ADverse outcomes with Early implementation of the ACC/AHA guidelines</i>
CURE	- <i>The Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events</i>
DAOP	- Doença arterial obstrutiva periférica
DCV	- Doença cardiovascular
DIC	- Doença Isquêmica cardíaca
DLP	- Dislipidemia
DM	- Diabetes melitus

EUA	- Estados Unidos da América
FA	- Fibrilação atrial
FC	- Frequência cardíaca
GJ	- Glicemia de jejum
GRACE	- <i>Global Registry of Acute Coronary Events</i>
GUSTO	- <i>Global Utilization of Streptokinase and Tissue Plasminogen Activator for Occluded Coronary Arteries</i>
HAS	- Hipertensão arterial sistêmica
Hb	- Valor de hemoglobina
Hb1Ac	- Hemoglobina glicosilada
Ht	- Hematócrito
IAM	- Infarto agudo do miocárdio
IAMCST	- Infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST
IAMSST	- Infarto agudo do miocárdio sem supradesnível do segmento ST
IBP	- Inibidores de bomba de prótons
ICC	- Insuficiência cardíaca congestiva
ICP	- Intervenção coronária percutânea
IECA	- Inibidor da enzima conversora da angiotensina
IL-6	- Interleucina - 6
IMC	- Índice de massa corpórea
InCor-HCFMUSP	- Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IRC	- Insuficiência renal crônica
IRS	- Inibidor de recaptação da serotonina
ISIS-2	- <i>International Study of Infarct Survival</i>
Lc	- Leucometria
LPa	- Lipoproteína A
MATCH	- <i>Management of Atherothrombosis with Clopidogrel in High-risk patients</i>
PAD	- Pressão arterial diastólica
PAI-1	- Inibidor do Plasminogênio Ativado -1
PAR-1	- Antagonistas do Receptor de Protease Ativada-1
PAS	- Pressão arterial sistólica
PCRus	- Proteína C reativa ultrasensível
PGH ₂	- Prostaglandina H ₂
PLATO	- <i>Study of Platelet Inhibition and Patient Outcomes</i>
PLT	- Plaquetometria

PRU	- Unidades de Reação ao P2Y ₁₂
REACH	- <i>Reduction of Atherothrombosis for Continued Health</i>
SIMI	- Síndrome isquêmica miocárdica instável
SIMICST	- Síndrome isquêmica miocárdica instável com supradesnível do segmento ST
SIMISST	- Síndromes isquêmicas miocárdicas instáveis sem supradesnível do segmento ST
TCLE	- Termo de consentimento livre e esclarecido
TIMI	- <i>Thrombolysis in Myocardial Infarction</i>
TP	- Tempo de protrombina
TRA-2P	- <i>Thrombin Receptor Antagonist in Secondary Prevention of Atherothrombotic Ischemic Events</i>
TRACER	- <i>Thrombin Receptor Antagonist for Clinical Event Reduction in Acute Coronary Syndrome</i>
TRILOGY- ACS	- <i>Targeted Platelet Inhibition to Clarify the Optimal Strategy</i>
TRITON-TIMI 38	- <i>Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel - Thrombolysis in Myocardial Infarction</i>
TT	- Tempo de trombina
TTPA	- Tempo de tromboplastina parcial ativada
TXA ₂	- Tromboxane A ₂
U	- Ureia
URA	- Unidades de reação à aspirina

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Gráfico demonstrando a evolução anual do risco cardiovascular após AVCI/AIT	5
Figura 2 - Gráfico demonstrando os desfechos cardiovasculares em quatro anos nos pacientes com AVCI/AIT prévio.....	6
Figura 3 - Gráfico demonstrando a curva de Kaplan-Meier com estimativa da ocorrência de morte cardiovascular, IAM e AVC	8
Figura 4 - Gráfico demonstrando Kaplan-Meier com estimativa da ocorrência de morte cardiovascular, IAM e AVCI e internação cardiovascular	10
Figura 5 - Relação de mortalidade precoce e tardia com ocorrência de um sangramento maior durante internação por SCA.....	11
Figura 6 - Gráfico demonstrando o impacto do antecedente de AIT e AVCI na ocorrência de AVCH em quatro anos	13
Figura 7 - Gráfico demonstrando a incidência de sangramentos clinicamente relevantes pelo critério TIMI.....	15
Figura 8 - Leucoaríose e angiopatia amiloide cerebral.....	16
Figura 9 - Correlação da agregabilidade plaquetária com eventos isquêmico e hemorrágicos	17
Figura 10 - Desenho do estudo	24
Figura 11 - Fluxograma de seleção dos pacientes.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Variáveis de pareamento	36
Tabela 2 - Características basais da população	37
Tabela 3 - Medicções de uso prévio na população	39
Tabela 4 - Testes de agregabilidade plaquetária	43
Tabela 5 - Variáveis hematimétricas metabólicas	44
Tabela 6 - Variáveis inflamatórias	45
Tabela 7 - Variáveis de coagulação e fibrinólise	46
Tabela 8 - Transferência de lípidos para o HDL colesterol	47

RESUMO

Introdução: O antecedente de AVCI e/ou AIT está presente em 5% dos pacientes com coronariopatia aguda e em até 17% dos pacientes com coronariopatia crônica. Esta população apresenta elevado risco para eventos cardiovasculares, assim como para desfechos hemorrágicos maiores (principalmente quando em uso de tratamento antitrombótico). A agregabilidade plaquetária apresenta papel fundamental no balanço isquêmico/hemorrágico; entretanto, esse mecanismo é pouco estudado em pacientes com evento cérebro vascular isquêmico prévio. O principal objetivo desse estudo é avaliar se pacientes com DAC e AVCI/ AIT prévio exibem alterações na agregabilidade plaquetária que justifiquem o risco aumentado para sangramento nesses indivíduos. **Casística e Métodos:** Entre janeiro de 2013 e abril de 2015, 140 pacientes foram selecionados nos bancos de dados da unidade coronária e do serviço de cirurgia cardíaca do InCor-HCFMUSP. Critérios de inclusão: coronariopatia aguda prévia (há mais de 12 meses), antecedente de AVCI/AIT (anterior ao episódio de coronariopatia aguda), uso crônico de AAS e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Critérios de exclusão: AVCH prévio, uso de antiagregação plaquetária dupla ou anti-inflamatórios não esteroidais, trombofilia ou coagulopatia conhecida, trombocitopenia ou trombocitose, angioplastia ou cirurgia cardíaca nos últimos 6 meses, disfunção renal grave ou qualquer doença terminal. Desenho do estudo: Estudo de caso e controle (1:1), com os grupos caso (AVCI/AIT prévio) e controle (sem AVCI/AIT prévio) pareados por sexo, idade, tipo de coronariopatia aguda e tempo entre a coronariopatia aguda e a inclusão no estudo. A agregabilidade plaquetária foi mensurada pelo VerifyNow Aspirin[®], VerifyNow P2Y12[®], Agregometria óptica com agonista ADP, Agregometria óptica com agonista adrenalina e tromboelastografia (Reorox[®]). **Resultados:** Os grupos controle (n=70) e caso (n=70), estavam bem pareados em relação à maioria das variáveis

analisadas. A idade média da população global foi de 66 anos, 73% apresentavam IAM prévio, e o tempo médio entre o episódio de coronariopatia aguda e a inclusão no presente estudo foi de 5,31 anos. No momento da avaliação os pacientes do grupo caso apresentavam valores mais elevados de pressão arterial sistólica ($135,84 \pm 16,09$ vs $123,68 \pm 16,11$ mmHg, $p < 0,001$), embora esse grupo utilizasse maior número de anti-hipertensivos ($2,37 \pm 1,09$ vs $3,0 \pm 1,23$, $p = 0,006$). Em relação a variáveis metabólicas, o perfil lipídico não apresentou diferença significativa entre os grupos, entretanto o grupo caso apresentou maiores valores de creatinina ($1,24 \pm 0,35$ vs $1,11 \pm 0,27$ mg/dL, $p = 0,037$) e também de glicemia de jejum ($116,16 \pm 32,03$ vs $134,88 \pm 57,58$ mg/dL, $p = 0,031$). No que se refere à meta principal do estudo, a agregabilidade plaquetária foi similar nos dois grupos por todos os métodos utilizados: VerifyNow Aspirin® ($525,00 \pm 79,78$ vs $530,35 \pm 83,81$ ARU nos grupos caso e controle, respectivamente, $p = 0,7$), VerifyNow P2Y12® ($262,14 \pm 43,03$ vs $251,74 \pm 43,72$ PRU, $p = 0,21$), Agregometria óptica com agonista ADP ($78,34 \pm 9,02$ vs $77,55 \pm 9,70\%$, $p = 0,82$), Agregometria óptica com agonista adrenalina ($49,01 \pm 23,93\%$ vs $49,34 \pm 21,7$, $p = 0,77$), e tromboelastografia (Firmeza máxima do coágulo: $2,136,00 \pm 569,97$ vs $2.001,27 \pm 635,68$ Pa, $p = 0,19$). **Conclusão:** Em pacientes com doença arterial coronária crônica a agregabilidade plaquetária foi similar nos indivíduos com ou sem AVCI/AIT. Esses resultados apontam para que outros mecanismos sejam responsáveis pelo elevado risco hemorrágico dessa população.

Descritores: testes de função plaquetária; hemorragia; doença da artéria coronariana; síndrome coronariana aguda; acidente vascular cerebral; ataque isquêmico transitório

ABSTRACT

Background: Ischemic stroke (IS) or transient ischemic attack (TIA) history is present in 5% of patients with acute coronary syndrome (ACS) and in 17% of patients with stable atherosclerotic disease (CAD). This population has a higher risk for major cardiovascular events and an increased incidence of major hemorrhagic outcomes when subjected to modern antithrombotic regimens, Platelet aggregability have key role in "ischemic-hemorrhagic" balance, however, these factors are little known in the population with prior cerebrovascular event. The aim of this study is to evaluate whether patients with coronary artery disease and previous IS/ TIA exhibit alterations in platelet aggregation, justifying the increased bleeding risk of these individuals. **Methods:** Between January 2013 and April 2015, 140 participants were selected in the coronary care unit and cardiac surgery service databank. Inclusion criteria: prior ACS (over 12 months), history of IS/ TIA previous to ACS, chronic use of aspirin since ACS and agreement to the consent form. Exclusion criteria: prior hemorrhagic stroke, current dual antiplatelet therapy or anti-inflammatory non-steroidal, any thrombophilia or coagulopathy, thrombocytopenia, thrombocytosis, PCI or CABG in the last 6 months, severe renal impairment and any terminal illness. Study design: Case-control study (1:1), case group (previous IS/TIA) and control group (without previous IS/TIA) matched for sex, age, type of previous ACS, time between ACS and inclusion in the study. Platelet aggregation was assessed by VerifyNow Aspirin[®], VerifyNow P2Y12[®], Light transmission aggregometry agonist with agonists adrenaline, Light transmission aggregometry agonist with ADP, and thromboelastography (Reorox[®]). **Results:** The control group (n=70) and case group (n=70), were well matched. The mean age was 63 years, about 73% presented previous AMI and the index ACS occurred 5,31 years before study inclusion. At the evaluation day patients in the case group presented higher SBP levels (135.84 ± 16.09 vs 123.68 ± 16.11 mmHg,

p<0,001), although this group were using more antihypertensive medications (2.37 ± 1.09 vs 3.0 ± 1.23 , p=0,006). In relation to metabolic profile, lipid profile did not presented differences, however, case group presented higher values for creatinine (1.24 ± 0.35 vs 1.11 ± 0.27 mg/dL, p=0.037) and also presented higher values for fasting glucose. (116.16 ± 32.03 vs 134.88 ± 57.58 mg/dL, p=0.031) Platelet aggregation was statistically similar in both groups: VerifyNow Aspirin® (525.00 ± 79.78 vs 530.35 ± 83.81 ARU, p=0.7), VerifyNow P2Y12® (262.14 ± 43.03 vs 251.74 ± 43.72 PRU, p=0.21), Light transmission aggregometry agonist with agonists ADP ($78,34 \pm 9,02$ vs $77,55 \pm 9,70\%$, p=0,82), Light transmission aggregometry agonist with adrenaline ($49,01 \pm 23,93\%$ vs $49,34 \pm 21,7$, p=0,77) and thromboelastography (maximum clot firmness: $2.136,00 \pm 569,97$ vs $2.001,27 \pm 635,68$ Pa, p=0,19). **Conclusion:** Platelet aggregability is similar in CAD patients with or without previous IS/TIA and this results point at other reasons to justify the high risk for bleeding in this patients.

Descriptors: platelet function tests; hemorrhage; coronary artery disease; acute coronary syndrome; stroke; ischemic attack, transient

1 INTRODUÇÃO

1.1 A importância das doenças cardiovasculares

Dados do *Global Burden of Disease Study*, mostram que ocorreram aproximadamente 55.800.000 mortes no ano de 2015. As doenças cardiovasculares (DCV) foram responsáveis por um terço dessas vidas perdidas (cerca de 18 milhões). A principal causa de morte cardiovascular é a doença isquêmica cardíaca (DIC), responsável por aproximadamente 50% (cerca de nove milhões de mortes), seguida pelo acidente vascular cerebral (AVC) responsável por 35% das mortes por DCV (cerca de seis milhões de mortes) (Quadro 1)¹.

Quadro 1 - Causas líderes de mortalidade global

	1990	2005	2015
1	Infecções respiratórias	Doença isquêmica cardíaca	Doença isquêmica cardíaca
2	Complicações neonatais	Infecções respiratórias	Doenças cerebrovasculares
3	Diarreias	Doenças cerebrovasculares	Infecções respiratórias
4	Doença isquêmica cardíaca	HIV/AIDS	Complicações neonatais
5	Doenças cerebrovasculares	Complicações neonatais	Diarreias

Fonte: Adaptado de GDB¹.

Dados europeus mostram que as doenças cardiovasculares ocasionaram mais de quatro milhões de mortes no continente em 2016. Esse grupo de doenças se mantém como a principal causa de morte, responsável por 45% da mortalidade geral. A DIC e o AVC permanecem como as principais causas de morte cardiovascular (causaram respectivamente 20% e 11% da mortalidade geral)².

Os dados mais recentes do *Centers of Disease Control and Prevention* (CDC), referentes a mortalidade nos Estados Unidos da América (EUA) em 2014, mostram que as doenças cardiovasculares ainda são a principal causa de morte no país (614.348 mortes). No mesmo período, o AVC foi a quinta causa de morte (responsável por 5% da mortalidade geral)³.

Apesar do distanciamento econômico e social do Brasil com os EUA e Europa, os dados mais recentes do DATASUS (referentes à 2015), mostram que no Brasil ocorreram 1.264.175 mortes e que, assim como nos países desenvolvidos, as doenças do sistema circulatório se apresentam como a principal causa de morte (28% da mortalidade). Entre essas, a DIC e o AVC se mostram como importantes causas de morte, sendo responsáveis, respectivamente, por 111.863 (9%) e 100.520 (8%) da mortalidade brasileira no ano de 2015. Importante salientar que até recentemente, no Brasil, o AVC sobrepujava a DIC como causa de óbito⁴.

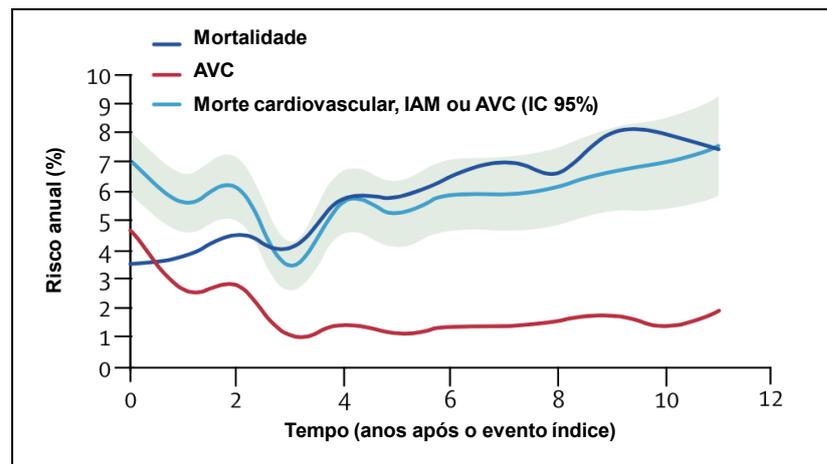
Os dados acima mostram como as DCV, principalmente a DIC e o AVC, são importantes causas de mortalidade no Brasil e no mundo. Isso faz com que a compreensão da fisiopatologia dessas doenças e o desenvolvimento de estratégias terapêuticas eficazes e seguras sejam alvos de grande interesse por parte da comunidade científica global.

1.2 Eventos cardiovasculares em pacientes com AVCI prévio

No contexto agudo, o risco de recorrência de um acidente vascular cerebral isquêmico (AVCI) após um AVCI ou após um acidente isquêmico transitório (AIT) é de 6% na primeira hora, 2% em até 12 horas, 3% nas primeiras 48 horas, 5% na primeira semana e chega há 7% em 14 dias⁵. Em longo prazo, quando se analisa pacientes que sobreviveram a um AVCI, o risco de um novo AVCI chega a 11,1% no primeiro ano, 26,4% em cinco anos e 39,2% em 10 anos⁶.

O alto risco cardiovascular dos pacientes que apresentam um evento cerebrovascular isquêmico não decorre apenas da recorrência de um AVCI/AIT, mas também das elevadas taxas de eventos coronários⁷. Touzé *et al.*⁸ realizaram uma metanálise com 65.996 pacientes com AVCI/AIT e segmento médio de 3,5 anos. Os autores demonstraram tratar-se de uma população com elevado risco cardiovascular, com um risco anual de infarto agudo do miocárdio (IAM) de 2,2% e mortalidade cardiovascular (excluído morte por AVC) de 2,1%.

van Wijk *et al.*⁹ confirmaram que esse elevado risco, de eventos coronários, permanece no longo prazo. Em um seguimento de 10 anos de pacientes com AVCI/AIT, enquanto a recorrência de AVCI foi de 18,4%, a sobrevida livre de eventos (morte cardiovascular, IAM ou AVC) foi de apenas 48% (Figura 1).



AVC - Acidente vascular cerebral, IC 95%- Intervalo de confiança de 95%

Figura 1 - Gráfico demonstrando a evolução anual do risco cardiovascular após AVC/AIT [adaptado de van Wijk et al.⁹]

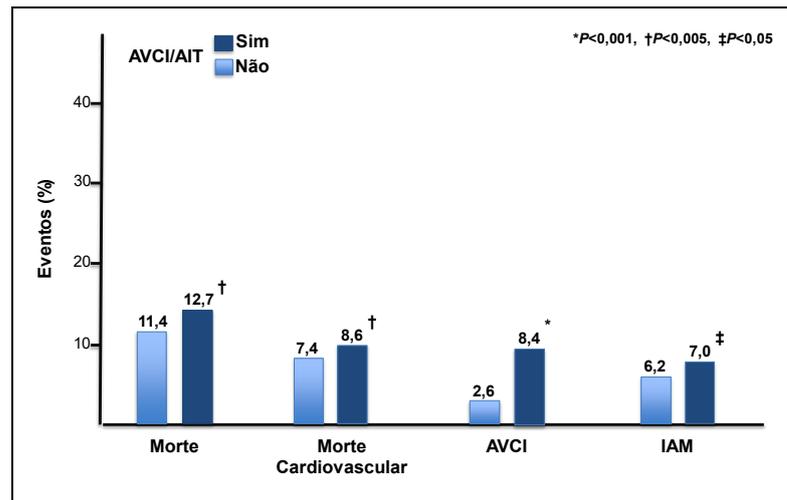
1.2.1 Desfechos cardiovasculares em pacientes com AVC/AIT prévio e doença isquêmica cardíaca

O antecedente de evento cerebrovascular isquêmico está presente em cerca de 5% dos pacientes com síndrome isquêmica miocárdica instável (SIMI), porém chega a 17% nos pacientes com DIC ou periférica crônica¹⁰⁻¹³.

Quando se compara a população com antecedente de AVC/AIT com pacientes sem esse antecedente, nota-se que o primeiro grupo possui maior prevalência de fatores de risco para eventos isquêmicos (hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, dislipidemia, idade avançada, entre outros) e de doença cardiovascular estabelecida [IAM prévio, antecedente de cirurgia de revascularização miocárdica, fibrilação atrial (FA), insuficiência cardíaca congestiva]^{13,14}.

Uma subanálise do *Reduction of Atherothrombosis for Continued Health Registry* (REACH) concluiu que indivíduos com DIC crônica e AVC/AIT prévio apresentam um maior risco de eventos isquêmicos, mesmo em modelo ajustado para fatores de risco cardiovascular, eventos

cardiovasculares prévios e tratamento antiplaquetário. O subgrupo com AVCI/AIT prévio apresenta, em seguimento de quatro anos, um risco aumentado em 19% para morte cardiovascular, 17% para IAM não fatal 306% para AVCI não fatal¹³ (Figura 2).



AVCI - acidente vascular cerebral isquêmico, AIT - acidente isquêmico transitório, IAM - infarto agudo do miocárdio

Figura 2 - Gráfico demonstrando os desfechos cardiovasculares em quatro anos nos pacientes com AVCI/AIT prévio [adaptado de Ducrocq et al.¹³]

Análise do registro *Global Registry of Acute Coronary Events* (GRACE) encontrou resultados na mesma direção, porém avaliou pacientes com SIMI seguidos por 6 meses. Nesse registro, indivíduos com AVCI/AIT prévio apresentaram aumento de 36% no risco de morte hospitalar. O elevado risco cardiovascular desse subgrupo se manteve no seguimento de seis meses, onde pacientes com AVCI/AIT prévio apresentaram um aumento de 41% na mortalidade e 46% na ocorrência de IAM. Diferente do que se pode imaginar, esse maior risco ocorreu a despeito dos pacientes com ou sem antecedente de AVCI/AIT receberem de forma similar terapêuticas comprovadamente eficazes no tratamento da coronariopatia aguda¹⁴.

1.3 Antiagregantes plaquetários e eventos cardiovasculares

O desenvolvimento e a evolução dos antiagregantes plaquetários fazem desses medicamentos a base do tratamento farmacológico empregado na prevenção de eventos aterotrombóticos cardíacos e cerebrais.

1.3.1 Antiagregantes plaquetários nas SIMI

O emprego dos antiagregantes plaquetários no cenário das SIMIs adquire relevância na década de 80, quando o emprego do ácido acetil salicílico (AAS), se mostrou capaz de reduzir eventos cardiovasculares. Por meio do bloqueio da síntese de tromboxane A₂, esse medicamento reduziu em 50% a ocorrência de desfechos cardiovasculares maiores em pacientes com SIMI sem supra desnível do segmento ST (SIMISST) e em 23% a mortalidade de indivíduos com SIMI submetidos a fibrinólise¹⁵⁻¹⁸.

A relação direta entre agregação plaquetária e ocorrência de eventos pode ser notada quando o desenvolvimento de antiagregantes plaquetários mais potentes implica em maior redução de eventos isquêmicos. O emprego dos inibidores da glicoproteína IIb/IIIa confirma esse fato. Ao bloquearem a via final da agregação plaquetária, essas medicações se mostraram capazes de reduzir a ocorrência de morte e IAM aos 30 dias em 24%, e a mortalidade em seis meses em 21%, quando utilizados em conjunto com o AAS em pacientes com SIMISST^{19,20}.

A terapêutica antiplaquetária moderna surge com a descoberta dos inibidores do receptor plaquetário P2Y₁₂. A utilização do clopidogrel em

conjunto com o AAS mostrou-se capaz de reduzir desfechos cardiovasculares maiores em pacientes com SIMISST e síndrome isquêmica miocárdica instável com supradesnível do segmento ST (SIMICST)^{10,21}. A relação da potência de antiagregação e a redução eventos isquêmicos mais uma vez se comprova quando do desenvolvimento de inibidores do P2Y12 mais potentes (prasugrel e ticagrelor). Ao promoverem uma inibição da agregabilidade, mais potente, mais rápida e mais homogênea que o seu antecessor (clopidogrel), esses compostos promoveram redução adicional significativa no desfecho composto de morte cardiovascular, IAM e AVC em pacientes com SIMISST e SIMICST submetidos a angioplastia primária^{12,22} (Figura 3).

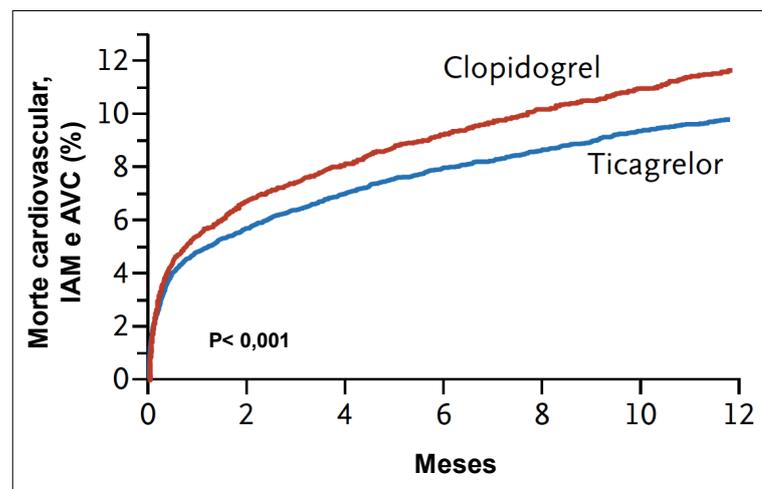


Figura 3 - Gráfico demonstrando a curva de Kaplan-Meier com estimativa da ocorrência de morte cardiovascular, IAM e AVC [adaptado de Wallentin et al.¹²]

1.3.2 Antiagregantes plaquetários no AVCI/AIT

A agregabilidade plaquetária encontra-se aumentada em pacientes que apresentam AVCI. Esse achado é o racional no emprego dos antiagregantes plaquetários nesse cenário²³.

O benefício dessa classe de medicações em AVCI/AITs foi demonstrado com a comprovação de que o emprego do AAS, em 1000 pacientes com até 48 horas de sintomas, se mostrou capaz de prevenir a recorrência de 11 AVCIs nos primeiros 14 dias, e resultou em redução de 13 mortes ou dependência secundária a sequelas em seis meses²⁴. Esses resultados estão na mesma direção de estudos com diferentes populações ou metanálises sobre o tema^{25,26}.

Além do comprovado benefício no contexto agudo, o emprego do AAS por tempo prolongado (média de três anos) em pacientes com antecedente de AVCI/AIT se mostrou capaz de reduzir seis IAMs, 25 AVCIs, sete mortes cardiovasculares e 15 mortes por qualquer causa em cada 1000 pacientes tratados²⁷.

O racional adotado no tratamento das SIMI, de que uma maior potência da antiagregação resultaria em uma menor recorrência de eventos, também foi avaliado em pacientes com AVC/AIT.

Pequenos estudos mostraram que em indivíduos com AVCI menor ou AIT, o emprego precoce da dupla antiagregação plaquetária (AAS e clopidogrel) se mostrava capaz de reduzir a ocorrência de micro embolismo assintomático^{28,29}. O benefício clínico dessa abordagem no cenário agudo do AVCI/ AIT foi demonstrado pelo estudo chinês *Clopidogrel in High-Risk Patients with Acute Nondisabling Cerebrovascular Events* (CHANCE). Nesse estudo, o uso de AAS e clopidogrel por três semanas, seguido do uso isolado do clopidogrel, reduziu em 32% a ocorrência de AVC em 90 dias em comparação ao tratamento convencional com AAS³⁰.

Diferente dos indivíduos com DIC, onde o benefício da dupla antiagregação plaquetária por um ano após SIMI é bem demonstrado^{10,12,22}, nos pacientes com AVCI/AIT o emprego da dupla antiagregação plaquetária prolongada não se mostrou benéfico. Contrariando o racional de que uma maior inibição da aterotrombose levaria a uma menor incidência de desfechos isquêmicos, o estudo *Management of ATherothrombosis with Clopidogrel in High-risk patients* (MATCH) não conseguiu demonstrar benefício no uso de AAS e clopidogrel em termos de redução de desfechos clínicos em pacientes com AVCI ou AIT, em comparação com o uso de AAS isoladamente³¹ (Figura 4). Esse resultado vai de encontro ao obtido por metanálise que incluiu outros esquemas de dupla antiagregação prolongada³².

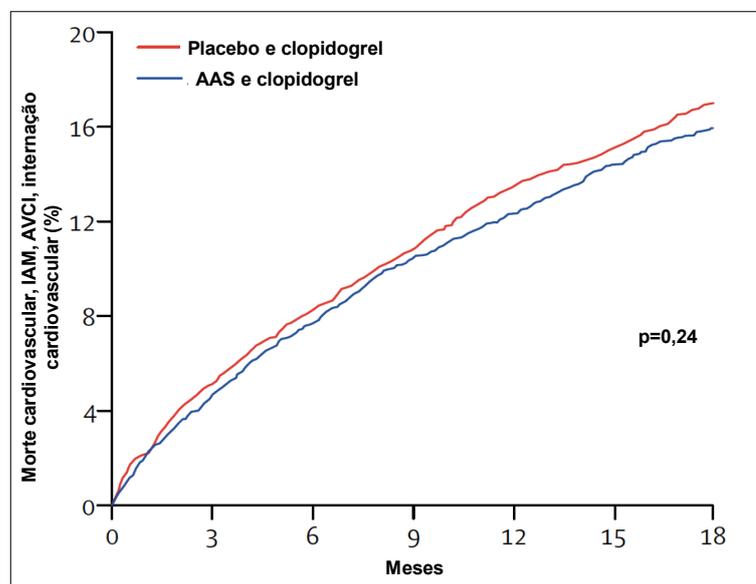


Figura 4 - Gráfico demonstrando Kaplan-Meier com estimativa da ocorrência de morte cardiovascular, IAM e AVCI e internação cardiovascular [adaptado de Diener *et al.*³¹]

1.4 Sangramentos em pacientes com SIMI

A incidência de sangramentos maiores nos estudos que incluíram pacientes com SIMI varia de 2% a 17,6%. Essa variação depende da classificação de sangramento utilizada, das características da população, das técnicas empregadas no laboratório de hemodinâmica (sítio de punção, tamanho dos introdutores, uso de dispositivos de oclusão, entre outros) e do regime antitrombótico empregado³³.

A implicação prognóstica de sangramento importante (“major”) já foi amplamente demonstrada. Estudo de metanálise com 34.146 pacientes incluídos em trabalhos que avaliaram a ação do clopidogrel, mostrou que a ocorrência de sangramento importante aumenta em cinco vezes a mortalidade em 30 dias, e essa relação com pior prognóstico se mantém em médio prazo, pois implica em 1,5 vezes mais mortes aos seis meses de seguimento³⁴ (Figura 5).

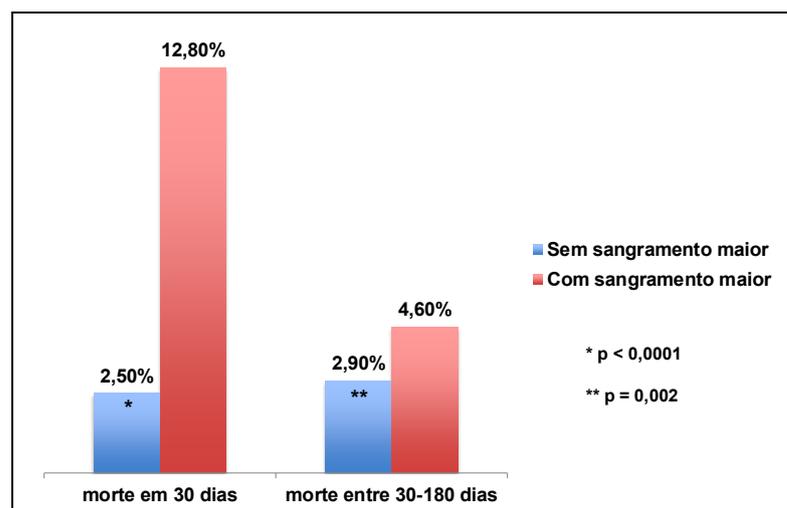


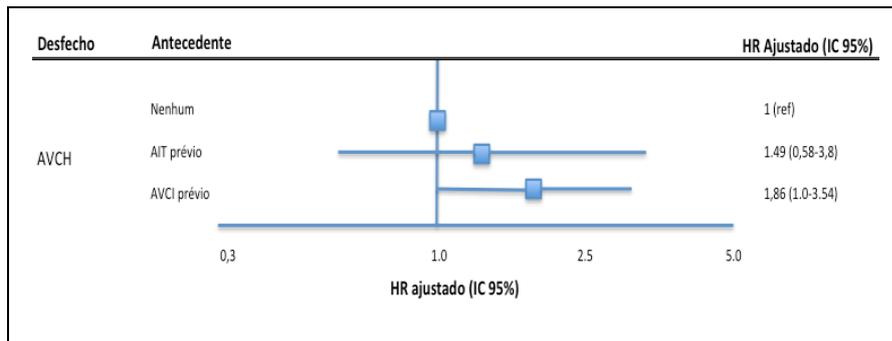
Figura 5 - Relação de mortalidade precoce e tardia com ocorrência de um sangramento maior durante internação por SCA [adaptado de Eikelboom et al.³⁴]

Devido à influência prognóstica de um sangramento importante em pacientes com SIMI, diversos estudos avaliaram quais fatores aumentariam o risco de desfecho hemorrágico. As variáveis que comumente se mostram preditoras independentes de sangramento são: sexo feminino, idade avançada, baixo peso, sangramento prévio, insuficiência renal, diabetes, hipertensão arterial, taquicardia, doença vascular prévia, AVC prévio, realização de cateterismo cardíaco, anemia, leucocitose, apresentação clínica (IAMCST), sinais de insuficiência cardíaca à admissão e esquema antitrombótico utilizado³⁵⁻³⁹.

1.5 Eventos hemorrágicos em pacientes com antecedente de AVCI/AIT

O fato mais importante no contexto do presente estudo, é que o risco da população com AVCI/AIT prévios não é elevado apenas para desfechos isquêmicos; diversos estudos apontam também para maior risco de desfechos hemorrágicos maiores (principalmente sangramento intracraniano), sobretudo na vigência de tratamentos antitrombóticos mais potentes^{22,40}.

Análise do registro *Reduction of Atherothrombosis for Continued Health* (REACH), mostrou que pacientes com antecedente de AVCI/AIT (16,9% da população) apresentaram maiores taxas de AVC hemorrágico (HR 1,76; IC 1-3,08; p=0,049). O aumento dos AVC hemorrágicos ocorreu principalmente no primeiro ano após o AVCI/AIT (HR 3,03; IC 1,51-6,08), e mais comumente nos pacientes em uso de dupla antiagregação plaquetária (HR 5,21; IC 1,24-21,9)¹³ (Figura 6).



AVCI - Acidente vascular cerebral isquêmico, AVCH - Acidente vascular cerebral hemorrágico, AIT - Acidente isquêmico transitório, HR - Hazard ratio, IC 95% - Intervalo de confiança no nível de 95%, ref - Referência

Figura 6 - Gráfico demonstrando o impacto do antecedente de AIT e AVCI na ocorrência de AVCH em quatro anos [adaptado de Ducrocq *et al.*¹³]

O elevado risco do subgrupo com antecedente de AVCI/AIT quando em uso de dupla antiagregação plaquetária foi também demonstrado no estudo *Management of Atherothrombosis with Clopidogrel in High-risk patients* (MATCH). Nesse estudo, 7.599 pacientes com antecedente de AVCI/AIT nos últimos três meses e pelo menos um fator de risco adicional (AVCI ou IAM prévio, diabetes ou doença arterial periférica) foram randomizados para AAS + clopidogrel ou clopidogrel + placebo de AAS. Ao final, demonstrou-se que a dupla antiagregação plaquetária levou a aumento significativo na incidência de sangramentos com risco de morte (3% x 1%, HR 1,26; $p < 0,0001$)³¹.

O risco hemorrágico dessa população se torna mais evidente com emprego de esquemas mais recentes de antiagregação plaquetária. Um exemplo é o estudo *Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel - Thrombolysis in Myocardial Infarction* (TRITON - TIMI 38) onde pacientes com antecedente de AVCI/AIT apresentaram complicações hemorrágicas alarmantes em uso do prasugrel, que levaram à contraindicação do medicamento nessa população. Quando

se comparou pacientes com antecedente de AVCI/AIT com pacientes sem AVCI/AIT prévios, aqueles com AVCI/AIT prévios apresentaram incidência 58% maior de sangramentos graves ($p=0,001$). No grupo em uso de prasugrel, a presença de antecedente de AVCI/AIT, implicou em aumento de 387% na ocorrência de sangramentos maiores. Considerando que no estudo TRITON a ocorrência de sangramento maior aumentou em 5,84 vezes o risco de morte, a contraindicação do uso do prasugrel em pacientes com AVCI/AIT prévios é compreensível^{22,41}.

Na mesma direção estão os resultados dos estudos que testaram o vorapaxar. Apesar da segurança demonstrada em pequenos estudos prévios⁴², tais resultados não se confirmaram nos grandes ensaios clínicos. No estudo *Thrombin Receptor Antagonist in Secondary Prevention of Atherothrombotic Ischemic Events* (TRA-2P), o uso do vorapaxar levou a aumento significativo na ocorrência de sangramentos intracranianos na população global (1% x 0,5%; HR 1,94; $p < 0,001$), com aumento ainda maior no subgrupo com AVCI/AIT prévio (2,4% x 0,9%; $p < 0,001$). Esses resultados impactaram em outro estudo com vorapaxar, o estudo *Thrombin Receptor Antagonist for Clinical Event Reduction in Acute Coronary Syndrome* (TRACER), então em andamento: devido aos resultados do TRA-2P o comitê de segurança do estudo TRACER orientou a suspensão da medicação do estudo nos pacientes com AVCI/AIT prévios (4,5% da população)^{40,43} (Figura 7). Por outro lado, ao analisar apenas os cerca de 20.000 pacientes sem antecedentes de AVCI/AIT prévio incluídos no estudo TRA-2P, demonstra-se benefício líquido significativo com o uso do vorapaxar⁴⁴.

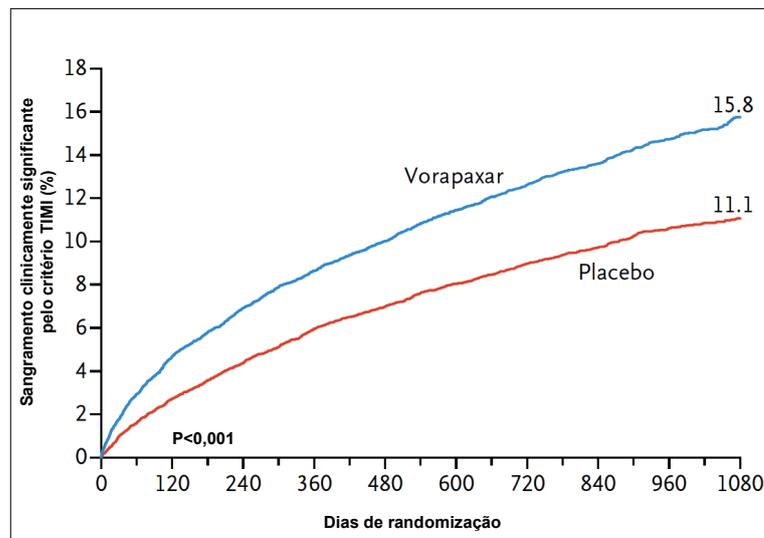


Figura 7 - Gráfico demonstrando a incidência de sangramentos clinicamente relevantes pelo critério TIMI [adaptado de Morrow *et al.*⁴⁰]

1.6 Fisiopatologia do aumento de sangramentos em indivíduos com AVCI/AIT prévio

Um dos desafios em se explicar a maior ocorrência de desfechos hemorrágicos em pacientes com AVCI vem do fato de os diversos subtipos de AVCI apresentarem mecanismos distintos. Dessa forma, o substrato que predispõe aos sangramentos também pode diferir^{45,46}.

Entre as complicações hemorrágicas mais temidas, destaca-se o sangramento intracraniano. Um possível fator relacionado a essa complicação em pacientes com AVCI prévio, é a permeabilidade alterada da barreira hematoencefálica apresentada por esses pacientes⁴⁷.

O fato de indivíduos com leucoarrose em exames de imagem cerebrais apresentarem maior ocorrência de sangramentos intracranianos, reforça o racional de que uma vasculatura cerebral doente (com possível isquemia cerebral aguda e/ou crônica) esteja envolvida com a predisposição a sangramentos em pacientes com AVCI prévio, principalmente quando submetidos a tratamento antitrombótico⁴⁸ (Figura 8).

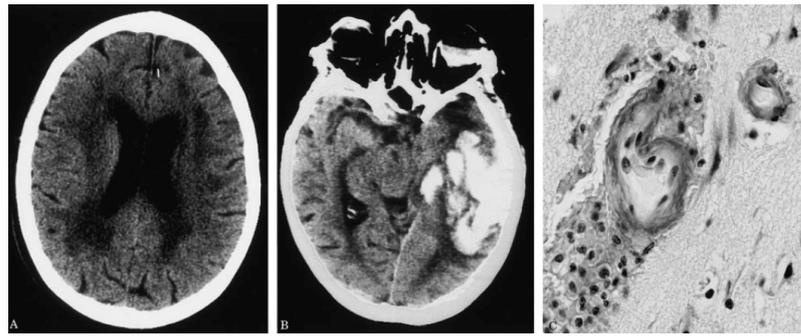
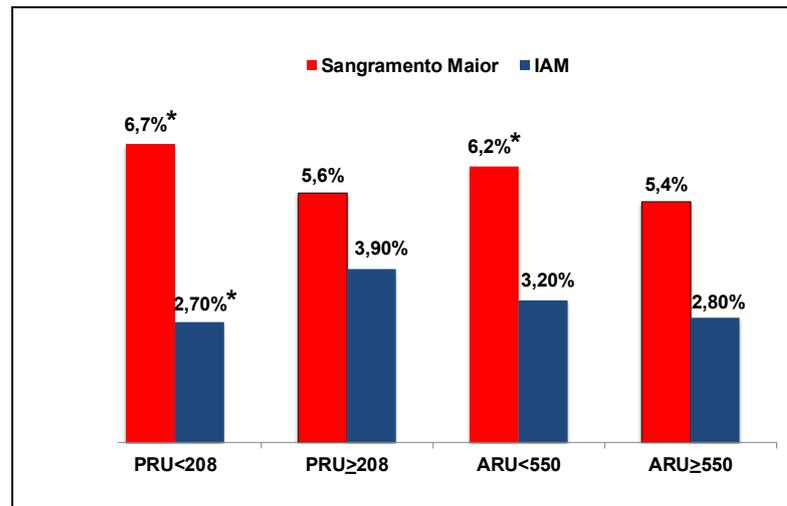


Figura 8 - Leucoarrose e angiopatia amiloide cerebral. (A) Tomografia computadorizada de crânio com padrão de leucoarrose, (B) Tomografia computadorizada de crânio com hemorragia intracraniana maciça; (C) Lâmina com coloração vermelho Congo compatível com angiopatia amiloide cerebral [adaptado de Smith *et al.*⁴⁸]

Apesar de menos frequente, a presença de angiopatia cerebral amiloide também pode se relacionar à ocorrência de sangramentos intracranianos em indivíduos com AVCI, principalmente pela combinação da lesão vascular, ocasionada por esse processo, e o uso de anticoagulantes/antiagregantes^{47,49}.

Com relação ao tratamento antiagregante, está bem determinado que padrões de resposta (diminuída ou exacerbada) ao AAS e ao clopidogrel, implicam em diferentes taxas de desfechos isquêmicos e hemorrágicos⁵⁰ (Figura 9).

Apesar da clara relação entre risco hemorrágico, presença de AVCI/AIT prévios e uso de antiagregantes plaquetários, essas variáveis não foram estudadas previamente dentro de um mesmo contexto; o presente estudo se propôs preencher essa lacuna.



PRU - Unidades de reação ao P2Y12, ARU - Unidades de reação à aspirina, * $p < 0,05$.

Figura 9 - Correlação da agregabilidade plaquetária com eventos isquêmico e hemorrágicos [adaptado de Stone *et al.*⁵⁰]

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo primário

Comparar a agregação plaquetária pelo método VerifyNow aspirin® em dois grupos de pacientes com SIMI prévia: grupo caso, pacientes com antecedente de AVCI/AIT prévio à SIMI, e grupo controle, pacientes sem tal antecedente.

2.2 Objetivos secundários

a) Comparar os dois grupos em relação a outros testes de agregação plaquetária: *VerifyNow P2Y₁₂*®, tromboelastograma, *Platelet function analyzer - 100* (PFA-100®), agregometria óptica induzida por ácido aracdônico e agregometria óptica induzida por ADP.

b) Comparar os dois grupos em relação aos seguintes testes de coagulação e fibrinólise: plaquetometria, D-dímero, fibrinogênio, coagulograma e inibidor da ativação do plasminogênio -1 (PAI-1).

c) Comparar os dois grupos em relação às seguintes variáveis hematimétricas e metabólicas: hemoglobina/hematócrito, ureia, creatinina, colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol, triglicerídeos, lipoproteína (a), glicemia de jejum e hemoglobina glicada.

d) Comparar os dois grupos em relação aos seguintes marcadores inflamatórios: leucometria, proteína C reativa ultrasensível (PCR-us) e interleucina 6 (IL-6).

e) Comparar os dois grupos em relação à capacidade de transferência dos seguintes lípides para o HDL: colesterol livre, éster de colesterol, fosfolípedes e triglicerídeos.

f) Analisar o desfecho primário nos seguintes subgrupos: sexo (masculino ou feminino), história de diabetes melito (presença ou ausência), tabagismo ativo (sim ou não), história de hipertensão arterial sistêmica (presença ou ausência), idade <75 anos ou ≥75 anos, peso <60 kg ou ≥60 kg, índice de massa corpórea (IMC) <30 ou ≥30 kg/m², taxa de filtração glomerular 30-60 mL/min ou >60 mL/min.

g) Analisar o desfecho primário em relação ao uso ou não das seguintes medicações: estatina, hipoglicemiante oral, insulina, betabloqueador, protetor gástrico e inibidores da recaptção da serotonina.

3 MÉTODOS

Estudo caso controle 1:1, no qual os pacientes incluídos no grupo caso foram selecionados de forma retrospectiva, e os do grupo controle de forma prospectiva, e pareados de acordo com os resultados obtidos no grupo caso, como será detalhado na sequência.

3.1 Casuística

Total de 140 pacientes com antecedente de SIMI, divididos em dois grupos: 70 pacientes com antecedente de AVCI/AIT prévio ao evento de SIMI (grupo caso) e 70 pacientes sem passado de evento cerebrovascular (grupo controle).

3.2 Métodos

3.2.1 Critérios de inclusão

- a) SIMI prévia.
- b) AVCI/AIT prévio ao evento de SIMI.
- c) Uso crônico de AAS.
- d) Concordância em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

3.2.2 Critérios de exclusão

- a) AVCH previamente conhecido.
- b) Uso de outro antiagregante plaquetário que não o AAS.
- c) Uso atual de anti-inflamatório não esteroidal (AINE).
- d) Plaquetopenia ($<100.0000/\text{mm}^3$), plaquetose ($>500.000/\text{mm}^3$) ou qualquer disfunção plaquetária previamente conhecida.
- e) Taxa de filtração glomerular $<30\text{mL}/\text{min}$, estimada pelo MDRD.
- f) Hepatopatia ou distúrbio de coagulação conhecido.
- g) Doença terminal com expectativa de vida menor que 12 meses.
- h) Revascularização cirúrgica ou percutânea nos últimos seis meses.
- i) IAM nos últimos 12 meses.
- J) AVCI/AIT após quadro de SIMI

3.2.3 Variáveis de pareamento

Os pacientes do grupo controle foram selecionados de forma a apresentarem características semelhantes ao grupo caso no que se refere a:

- a) Idade.
- b) Sexo.
- c) Tipo de SIMI (IAMCST, IAMSST, ou AI).
- d) Tempo de ocorrência da SIMI (em relação à inclusão no presente estudo).

3.3 Seleção de pacientes

Os pacientes foram selecionados inicialmente de forma retrospectiva, a partir da informação de AVC/AIT prévio contida nos bancos de dados da Unidade Clínica de Coronariopatia Aguda e do Serviço de Cirurgia Cardíaca, ambos do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor-HCFMUSP).

3.3.1 Avaliação médica

Os pacientes pré-selecionados tinham seus prontuários checados no sentido de se avaliar critérios de indicação e de contraindicação para participação no estudo; aqueles que preenchiam tais critérios eram contatados por telefone e convidados a comparecer ao InCor-HCFMUSP para avaliação médica. Durante tal avaliação os dados extraídos do prontuário e a aderência ao uso do AAS eram confirmados. Com a presença de todos os critérios de inclusão e ausência dos critérios exclusão o paciente era convidado a ler e assinar o TCLE. Caso concordasse em participar do estudo, após a assinatura do TCLE realizava-se a anamnese, o exame físico e o participante era encaminhado ao laboratório de análises clínicas do InCor-HCFMUSP para coleta de sangue (Figura 10). Isso poderia ocorrer durante a mesma entrevista, ou em consulta subsequente.

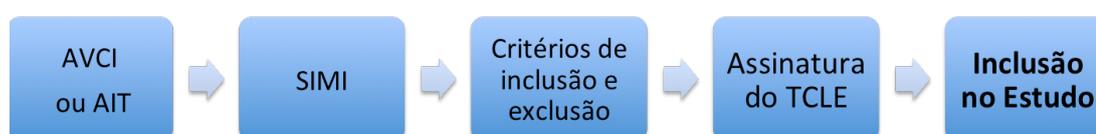


Figura 10 - Desenho do estudo

3.3.2 Coleta de sangue

Todas as dosagens laboratoriais citadas nos objetivos do estudo eram coletadas em um único dia, com o paciente em 12 horas de jejum, seguindo-se a seguinte rotina:

- a) Punção venosa em veia calibrosa, preferencialmente na região antecubital, com tempo de garroteamento inferior a um minuto.
- b) Utilização de tubos Vacutainer® com citrato de sódio a 3,2% (CS 3,2%) para realização dos testes de agregação plaquetária, tubos secos para dosagem bioquímica e com EDTA para realização de hemograma e análise genética.
- c) Após descartar 2 mL a 3 mL iniciais de sangue os tubos eram preenchidos até a capacidade máxima e gentilmente invertidos cinco vezes para a completa mistura com o anticoagulante.

3.4 Descrição sucinta dos principais testes laboratoriais utilizados

- a) VerifyNowAspirin® (*Accumetrics, Inc., San Diego, California, USA*): utiliza o ácido aracdônico como agonista para avaliação da agregação plaquetária por meio de detecção óptica. Alíquotas das amostras de sangue total são colocadas em cartuchos contendo uma preparação padrão liofilizada de fibrinogênio e ácido aracdônico. À medida que a agregação ocorre, o sistema converte a luminosidade transmitida em Unidades de Reação à aspirina (URA). Quanto maior a agregação maior o resultado em URA. Na presente pesquisa foram considerados os pontos de corte de >550 URA para resistência ao AAS⁵¹, e de <404 para hiper-resposta ao AAS⁵².

b) VerifyNowP2Y₁₂[®] (Accumetrics, Inc., San Diego, California, USA):

teste realizado com sangue total, que avalia a agregação plaquetária por meio de detecção óptica. O sangue é transferido para recipientes, cobertos por fibrinogênio e ADP, e medida que a agregação ocorre o sistema converte a luminosidade transmitida em Unidades de Reação ao P2Y₁₂ (PRU). Quanto maior a agregação maior o resultado em PRU.

c) ReoRox[®] (MediRox AB): tromboelastograma que avalia

propriedades viscoelásticas do sangue sob condições de baixo cisalhamento. Usa-se uma cubeta em que se acrescenta uma amostra de sangue total de 0,36 mL que oscila com um ângulo de 4° 45'. Cada rotação dura 10s. Um pino é suspenso na amostra de sangue por um fio de torção e é monitorado para movimento. O torque da cubeta é transmitida ao pino imerso após a agregação plaquetária ter ocorrido, ligando a cubeta ao pino. A força da ligação das plaquetas com a fibrina afeta a magnitude do movimento dos pinos. O resultado é, portanto, diretamente relacionado à força do coágulo formado. Com a retração e lise do coágulo, os laços entre fibrina e plaquetas são quebrados e a transferência de movimento diminui. O movimento de rotação do pino é convertida de sinais eletromecânicos para um sinal elétrico que é exibido como um traçado. O gráfico formado fornece as seguintes informações:

- Tempo de reação (R): parâmetro lido no momento em que se tem amplitude de 2 mm.

- Tempo de coagulação (K): parâmetro lido no momento em que se tem amplitude de 20 mm.
- Amplitude máxima (MA): ponto no qual se tem a maior amplitude no gráfico.
- Ângulo alfa (α): ângulo formado entre o R e o início da curvatura do gráfico.
- Lise de 30 minutos: avalia a presença de fibrinólise, pelo fechamento da curva no gráfico, 30 minutos depois de atingida a amplitude máxima. Ao término de cada corrida tromboelastográfica o computador calcula o índice do TEG. Derivado de todos os parâmetros medidos, o índice auxilia a classificar o TEG como normal (entre -2 e +2), hipocoagulável (<-2) e hipercoagulável (>+2).

d) PFA-100[®] (*Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, Delaware*): método que avalia a função plaquetária em condições de alta força de cisalhamento (*shear stress*). Alíquotas das amostras de sangue total foram colocadas em recipientes contendo uma abertura microscópica de 147 μm . Foram utilizados cartuchos COL/EPI onde a abertura é recoberta por 2 μg colágeno e 10 μg de epinefrina, sendo medido o tempo para o fechamento (TF) dessa abertura pelo tampão plaquetário. Quanto maior o TF, menor a agregação plaquetária. O tempo de fechamento é fornecido em segundos, sendo o tempo máximo medido de 300 segundos.

- e) Agregometria por transluminescência óptica (ATO): amostra de sangue citratado é centrifugada, obtendo-se plasma rico em plaquetas o qual é colocado em contato com um agonista (ADP ou adrenalina). Ocorre, então, a agregabilidade plaquetária com diminuição da turvação do plasma, sendo esta medida por meio do aumento da transmissão de luz ao longo do tempo.
- f) Inibidor do Plasminogênio Ativado -1: amostras de sangue total em tubo com CS a 3,2% foram centrifugadas a 300 rpm, sendo coletadas alíquotas de soro e depois congeladas a 80°C negativos. Posteriormente as amostras serão analisadas por meio do método ELISA® com a técnica sanduíche.
- g) Proteína C reativa ultrassensível: quantificada por meio de anticorpos monoclonais, pelo método de imunonefelometria de detecção ultrassensível em equipamento automatizado BN II Systems, utilizando o kit CARDIO PHASE® hs CRP (*Siemens Healthcare Diagnostics Products*, Marburg, Alemanha).
- h) Interleucina-6: amostras de sangue total em tubo com CS a 3,2% foram centrifugadas a 300rpm, sendo coletadas alíquotas de soro e depois congeladas a 80°C negativos. Posteriormente, a IL-6 foi determinada no soro dos pacientes com a utilização do método de quimiluminescência (ensaio imunométrico sequencial de fase sólida, de enzimas químico-luminosas), utilizando o aparelho IMMULITE 1000 (*Siemens Healthcare*, Llanberis, Gwynedd, UK). A sensibilidade do teste é de 2 pg/mL.

- i) Lipídios plasmáticos: amostras de sangue coletadas após 12 horas de jejum, utilizando métodos enzimáticos comerciais para determinação do colesterol (Boehringer-Mannheim, Penzberg, Alemanha) e triglicerídeos (Laboratório Abbott, EUA). O LDL-colesterol era calculado de acordo com a fórmula de Friedewald⁵³.
- j) Teste da transferência de lipídeos da nanoemulsão artificial para o HDL: amostras de plasma com EDTA em um volume de 200 µL eram incubadas com 50 µL nanoemulsão artificial em 3H-colesteril-ésteres e 14C-fosfolípidos ou com 14C-colesterol livre e 3H-triglycerides. Após uma hora em agitação do banho a 37° C, o reagente de precipitação que consiste em 250 µL da solução com 0,02% de sulfato de dextran (50.000 MW) e 0,3 mol/L de MgCl₂ que era adicionado à incubação, que era então misturado por 30 segundos e centrifugado por 10 minutos (3000 g). Finalmente, 250 µL do sobrenadante eram transferidos para frascos de contagem contendo 5 µL de solução de cintilação (Packard BioScience, Groeningen, Países Baixos) e a radioatividade, medida com um analisador de cintilação líquida modelo TR 1600 Packard (Palo Alto, CA). Amostras de plasma branco eram substituídas por 200 µL de solução TRIS. Os resultados de transferência radioativos da nanoemulsão para HDL são expressos como % da radioatividade total incubada encontrada no sobrenadante contendo HDL⁵⁴.

3.5 Análise estatística

Inicialmente todas as variáveis foram analisadas descritivamente. No que se refere às variáveis contínuas esta análise foi feita observando-se seus valores mínimos e máximos, médias \pm desvios-padrão. Para as variáveis categóricas calculou-se as frequências absolutas e relativas.

Nas comparações entre variáveis contínuas foi utilizado o teste t de Student (distribuição Gaussiana) ou o teste não-paramétrico de Mann-Whitney (distribuição não-Gaussiana)⁵⁵.

A homogeneidade entre as proporções foi avaliada por meio do teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher quando indicado⁵⁵.

Os resultados referentes à agregabilidade plaquetária nos grupos caso e controle foram ajustados com a utilização do teste de regressão logística *stepwise*, incluindo-se como variável dependente o antecedente de AVCI/ AIT e como variáveis independentes idade; sexo; raça; índice de massa corpórea (IMC); frequência cardíaca (FC); pressão arterial sistólica (PAS); pressão arterial diastólica (PAD); número de anti-hipertensivos utilizados pelo paciente; data da SIMI; antecedentes de diabetes melitus (DM), hipertensão (HAS), dislipidemia (DLP), fibrilação atrial (FA), intervenção coronária percutânea (ICP), doença arterial obstrutiva periférica (DAOP), insuficiência renal crônica (definida como taxa de filtração glomerular $<60\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$); tabagismo atual; uso de AAS $>100\text{ mg}/\text{dia}$, estatina, inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA), bloqueador de receptor da angiotensina (BRA), bloqueador de canal de cálcio, diurético, nitrato, beta bloqueador, hipoglicemiante oral, insulina, inibidor de bomba de

prótons (IBP), anticoagulação oral (ACO), inibidor de recaptção da serotonina (IRS); valor de hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), plaquetometria (PLT), leucometria (Lc), colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol, triglicerídeos, ureia (U), creatinina (Cr), taxa de filtração glomerular (ClCr), hemoglobina glicosilada (Hb1Ac), glicemia de jejum (GJ), lipoproteína A (LPa), proteína c reativa ultra sensível (PCRus), inibidor da ativação do plasminogênio (PAI-1), fibrinogênio, dímero D, tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), INR, tempo de trombina (TT). Os testes de agregabilidade plaquetária (VNASP[®], VNP2Y12[®], ATO ADP, ATO adrenalina, PFA 100[®] e firmeza máxima do coágulo pela tromboelastografia) foram incluídos separadamente em diferentes modelos ajustados, sempre como variáveis independentes.

Os resultados referentes à capacidade de transferência de lípedes para o HDL foram analisados separadamente e ajustados com a utilização do teste de regressão logística *stepwise*, incluindo-se como variável dependente o antecedente de AVCI/AIT e como variáveis independentes em cada modelo: capacidade de transferência de colesterol éster, de fosfolípedes, de colesterol livre e de triglicerídeos, separadamente. Nos quatro modelos foram incluídas como variáveis independentes: idade, sexo, raça, IMC, FC, PAS, PAD, número de anti-hipertensivos, data da SIMI, antecedente de DM, HAS, DLP, FA, ICP, DAOP, insuficiência renal crônica (taxa de filtração glomerular $<60 \text{ mL/min/1,73m}^2$), tabagismo atual, uso de AAS $>100 \text{ mg/dia}$, estatina, IECA, BRA, bloqueador de canal de cálcio, diurético, nitrato, beta bloqueador, hipoglicemiantes orais, insulina, IBP,

ACO, IRS, Hb, Ht, PLT, Lc, colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol, triglicerídeos, U, Cr, ClCr, Hb1Ac, GJ, LP(a), PCR, PAI-1, fibrinogênio, dímero D, TP, TTPA, INR, TT. VNASP, VNP2Y12, ATO ADP, ATO adrenalina e firmeza máxima do coágulo pela tromboelastografia.

O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 Seleção de pacientes

No período de janeiro de 2013 a abril de 2015 foram analisados 988 prontuários eletrônicos de pacientes selecionados a partir dos bancos de dados da Unidade de Coronariopatia Aguda e de Cirurgia Cardíaca, conforme referido previamente. Como se pode notar na Figura 11, os principais motivos para não inclusão dos pacientes analisados no estudo foram: ocorrência do evento cerebrovascular após o quadro de SIMI (n=171); impossibilidade de comprovar o AVCI/AIT na análise dos prontuários (n=153); impossibilidade de pareamento (n=125). Além disso, 104 pacientes já haviam falecido no momento da convocação para o estudo. Dessa forma, preencheram todos os critérios de inclusão e foram incluídos no estudo 140 pacientes (70 casos e 70 controles).

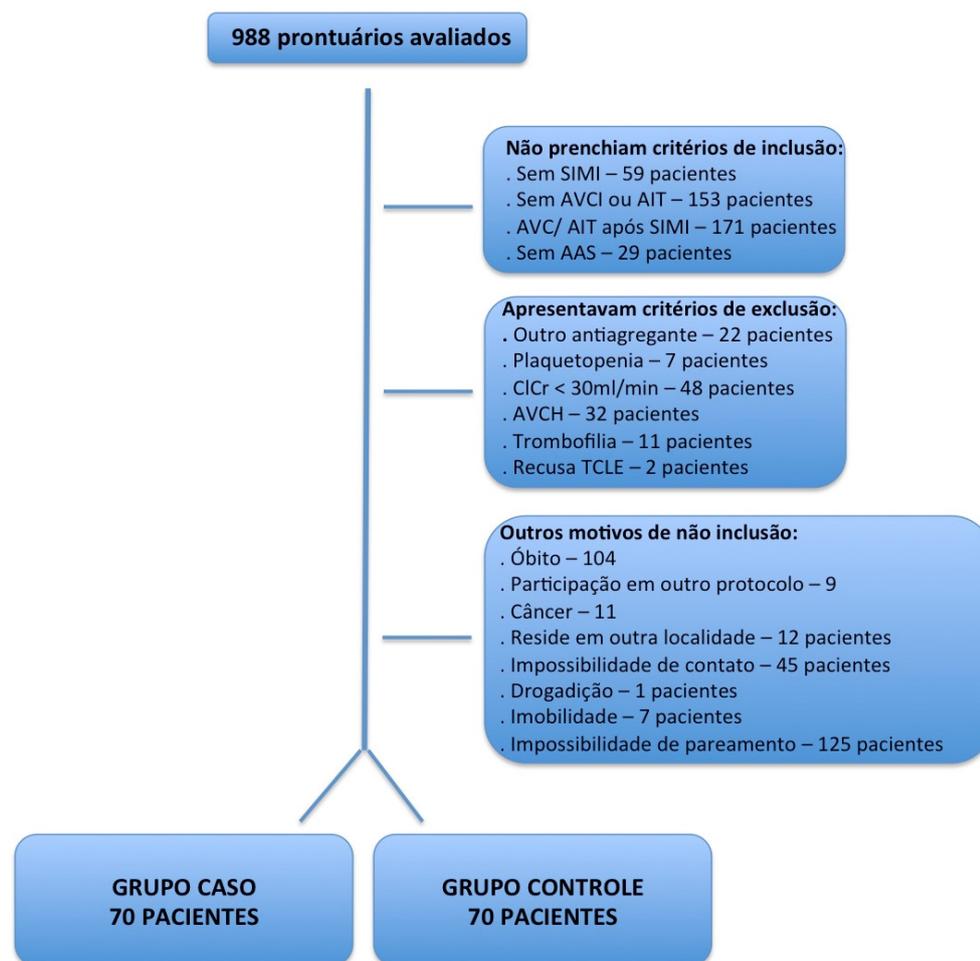


Figura 11 - Fluxograma de seleção dos pacientes

4.2 Variáveis de pareamento

Os grupos caso e controle foram pareados de acordo com as seguintes variáveis: idade, sexo (masculino ou feminino), tipo de SIMI (angina instável, IAMSST ou IAMCST) e tempo entre a ocorrência do episódio de coronariopatia aguda e a inclusão no estudo. Como se nota na Tabela 1, conforme o esperado os grupos estavam pareados em relação a essas variáveis.

Tabela 1 - Variáveis de pareamento

	Caso	Controle	95% IC	p
Idade (anos, média +/- DP)	67,64 ± 9,62	66,50 ± 9,97	(-4,42; 2,13)	0,49
Gênero masculino (%)	71,43	68,57	(-18,03; 12,32)	0,71
Angina instável (%)	32,86	30,00	(-12,52; 18,23)	0,51
IAMSST (%)	44,29	38,57	(-10,58; 22,00)	0,51
IAMCST (%)	22,86	31,43	(-23,24; 6,09)	0,51
Tempo entre a SIMI e a inclusão no estudo (anos, média +/- DP)	5,57 ± 2,78	5,05 ± 2,67	(-0,40; 1,43)	0,27

IAMSST= infarto agudo do miocárdio sem supradesnível do segmento ST; IAMCST= infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST; SIMI= síndromes isquêmicas miocárdicas instáveis; 95% IC= intervalo de confiança no nível de 95%; DP=desvio padrão

4.3 Características basais

A Tabela 2 mostra as características basais da população estudada. Nota-se elevada incidência de fatores de risco cardiovascular em ambos os grupos, que de resto estavam bem pareados em relação a variáveis como história prévia de hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, diabetes e IAM. No dia da avaliação para inclusão no estudo, apesar de apresentarem características antropométricas muito semelhantes, o grupo caso apresentou valores significativamente maiores de pressão arterial sistólica ($135,84 \pm 16,09$ mmHg x $123,68 \pm 16,11$ mmHg, $p < 0,001$). Em termos de terapêuticas intervencionistas, os grupos se mostraram similares em relação a ICP prévia, porém o grupo caso apresentou maior frequência de cirurgia de revascularização miocárdica previamente à inclusão no estudo ($25,71\% \times 10\%$, $p=0,015$).

Especificamente em relação ao grupo caso, 68 pacientes possuíam antecedente de AVCI e dois pacientes histórico de AIT. Com relação ao grau

de seqüela desse grupo, avaliado pela escala de Rankin modificada⁵⁶ nota-se que, em média, os indivíduos do grupo caso possuíam seqüelas que não geravam incapacidade (Ranking médio foi de $1,29 \pm 1,4$).

Tabela 2 - Características basais da população

	Caso	Controle	95% IC	P
Raça branca (%)	60,00	47,14	(-3,53; 29,24)	0,12
IMC (kg/m²)	27,86 ± 5,60	27,47 ± 4,46	(-1,33; 2,11)	0,65
CA (cm)	96,75 ± 12,37	96,79 ± 12,29	(-4,59; 4,51)	0,98
FC (bpm)	64,28 ± 8,83	65,91 ± 8,83	(-4,73; 1,46)	0,29
PAS (mmHg)	135,84 ± 16,09	123,68 ± 16,11	(6,19; 18,14)	<0,001
PAD (mmHg)	77,03 ± 10,99	75,66 ± 9,26	(-2,07; 4,80)	0,43
Anti-hipertensivos	2,37 ± 1,09	3,0 ± 1,23	(-1,02; -0,24)	0,006
DM (%)	48,57	44,29	(-12,22; 20,79)	0,61
HAS (%)	94,29	85,71	(-1,27; 18,41)	0,09
DLP (%)	70,00	80,00	(-24,25; 4,25)	0,17
TBG (%)	5,71	5,71	(-7,69; 7,69)	1,00
FA (%)	7,14	2,86	(-2,90; 11,47)	0,44
ICP (%)	31,43	31,43	(-15,38; 15,38)	1,00
IAOP (%)	2,86	5,71	(-9,55; 3,84)	0,68
CRM (%)	25,71	10,00	(3,30; 28,13)	0,015
IRC (%)	52,86	37,14	(-0,56; 31,99)	0,61
IAM (%)	67,15	70,00	(-18,23; 12,52)	0,51

IMC= índice de massa corpórea; CA= circunferência abdominal, FC= frequência cardíaca; PAS= pressão arterial sistólica; PAD= pressão arterial diastólica; DM= diabetes melito; HAS= hipertensão arterial sistêmica; DLP= dislipidemia; TBG= tabagismo ativo; FA= fibrilação atrial; ICP= intervenção coronária percutânea prévia.; IAOP= insuficiência arterial obstrutiva periférica; CRM= cirurgia de revascularização miocárdica; IRC= insuficiência renal crônica; IAM= infarto agudo do miocárdio; 95% IC = intervalo de confiança no nível de 95%.

4.3.1 Medicamentos de uso prévio

Como previsto nos critérios de inclusão todos os pacientes estavam em uso de AAS; alguns poucos faziam uso de doses maiores que 100 mg/dia e estavam distribuídos de forma similar nos dois grupos. Os pacientes estavam bem medicados no que se refere ao uso de medicamentos comprovadamente eficazes em pacientes com antecedente de SIMI (IECA/BRA, estatinas e betabloqueadores). Entre as medições que poderiam se relacionar com a ocorrência de sangramentos, destaca-se que o uso de inibidores de bomba de prótons foi similar entre os grupos (61,43% x 42,86%; $p=0,07$), tampouco havendo diferença significativamente estatística quanto ao uso de anticoagulantes orais ($p=0,44$). Com relação aos demais medicamentos de uso prévio, encontrou-se diferença significativa entre os grupos em relação ao uso de bloqueadores dos canais de cálcio, utilizada no grupo caso por 42,86% dos pacientes e no grupo controle por 24,29% dos pacientes ($p=0,02$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Medicções de uso prévio na população

	Caso	Controle	95% IC	p
AAS >100 mg/d (%)	11,42	8,57	(-7,07; 12,78)	0,57
Estatina (%)	94,29	94,29	(-7,69; 7,69)	1,00
IECA (%)	54,29	57,14	(-19,31; 13,59)	0,73
BRA (%)	27,14	18,57	(-5,27; 22,41)	0,22
Bloq Ca (%)	42,86	24,29	(3,23; 33,91)	0,02
Diurético (%)	44,29	37,14	(-9,09; 23,38)	0,38
B Bloq (%)	88,57	80,00	(-3,40; 20,54)	0,16
Nitrato (%)	28,57	15,71	(-0,73; 26,45)	0,06
Anti DM (%)	41,43	44,29	(-19,25; 13,53)	0,73
Insulina (%)	10,00	18,57	(-20,08; 2,93)	0,14
IBP (%)	61,43	42,86	(-2,31; 34,83)	0,07
ACO (%)	7,14	2,86	(-2,90; 1,47)	0,44
IRS (%)	12,86	7,14	(-4,18; 15,61)	0,25

AAS >100mg/d= dose diária de ácido acetilsalicílico maior que 100mg; IECA= inibidor da enzima conversora da angiotensina; BRA= bloqueador do receptor da angiotensina; Bloq Ca= bloqueador do canal de cálcio; B Bloq= beta bloqueador; Anti DM= hipoglicemiante oral; IBP= inibidor de bomba de prótons; ACO= anticoagulante oral; IRS= inibidor da recaptção da serotonina; 95%IC= intervalo de confiança no nível de 95%.

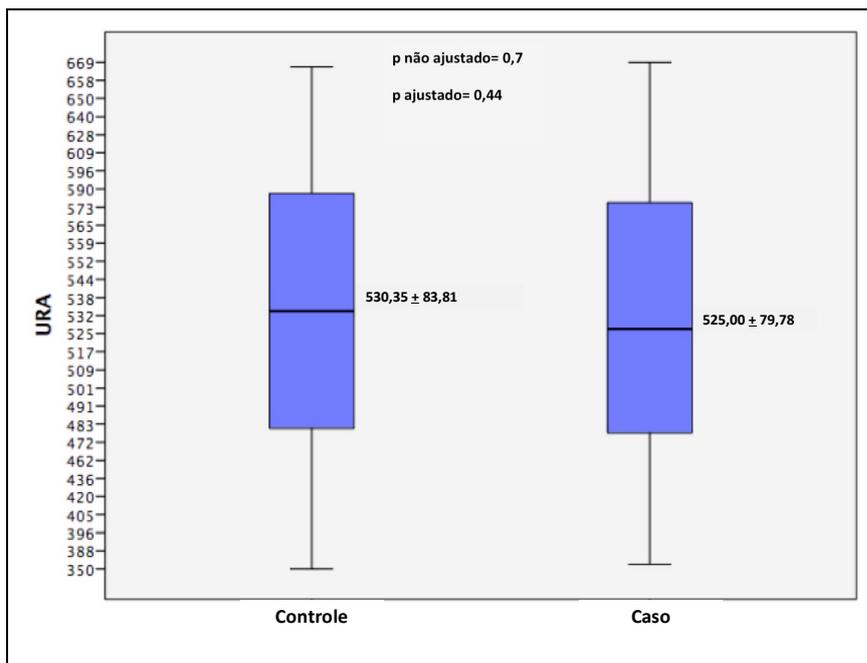
4.4 Análise do objetivo primário

VerifyNow Aspirin®

Como pode-se observar no Gráfico 1, o grupo caso apresentou agregabilidade plaquetária média de $525,00 \pm 79,78$ URA, enquanto no grupo controle a média de agregabilidade foi de $530,35 \pm 83,81$ URA. Essa diferença não foi significativa em análise univariada ($p=0,7$) ou em modelo ajustado ($p=0,14$). Quando se avaliou a presença de resistência ao AAS (agregabilidade plaquetária >550 URA), tampouco se notou diferença significativa entre os dois grupos ($40,58\% \times 42,03\%$, $p=0,86$). Quando se

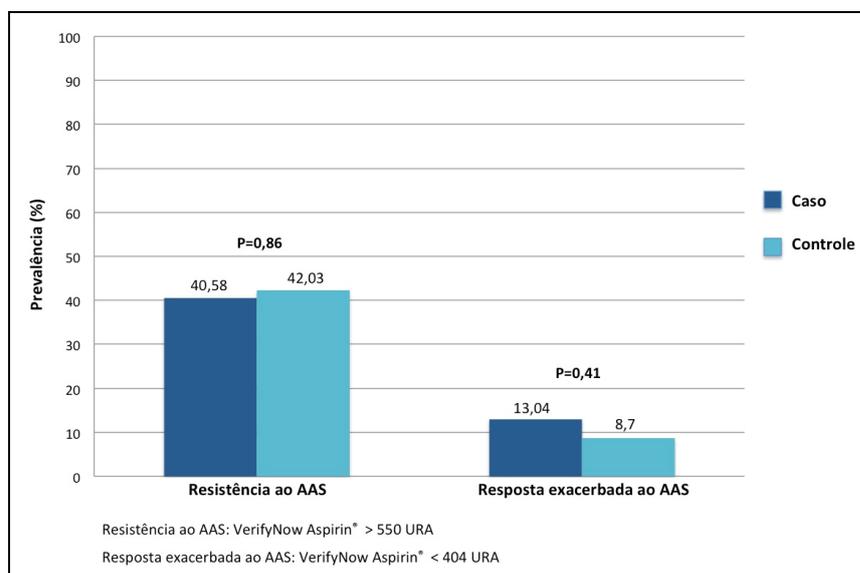
avaliou a resposta exacerbada ao AAS (<440 URA) os grupos também mostraram resultados semelhantes (13,04% x 8,7%; p=0,41) (Gráfico 2).

Gráfico 1 - Média, desvio padrão, valores mínimos e máximos da agregabilidade plaquetária analisada pelo VerifyNow Aspirin® entre os grupos



URA-unidades de reação à Aspirina

Gráfico 2 - Comparação da prevalência de resistência ao AAS nos grupos caso e controle



4.5 Análises de objetivos secundários

4.5.1 Testes de agregabilidade plaquetária

VerifyNow P2Y12®

A avaliação da agregabilidade plaquetária mediada pelo receptor P2Y12 no grupo caso foi similar ao grupo controle. Esse achado ocorreu em análise univariada na análise por porcentagem de inibição ($2,47 \pm 4,8\%$ x $8,97 \pm 3,19\%$; $p=0,36$). Na comparação por unidades de reação ao P2Y12 ($262,14 \pm 43,03$ PRU x $251,74 \pm 43,72$ PRU; $p=0,21$) esse achado se repete em análise univariada e multivariada (Tabela 4). Os grupos também não diferiram de forma significativa quanto às incidências de pacientes com PRU <208 (critério de resposta ao uso de inibidores do P2Y12): grupo caso 10,77%, grupo controle 14,77% ($p=0,49$).

Platelet Function Analyzer 100 (PFA-100®)

Devido a problemas com o fornecimento dos kits, o teste só foi realizado em 85 pacientes (43 no grupo caso e 42 no grupo controle). Nessa sub-população os valores do PFA-100 no grupo caso ($188,93 \pm 85,07$ segundos) e no grupo controle ($158,45 \pm 74,16$ segundos) não apresentaram diferença estatisticamente significativa (Tabela 4).

Agregometria de transluminescência óptica com agonista ADP

Por meio dessa metodologia a agregabilidade plaquetária nos dois grupos também se mostrou estatisticamente semelhante nos grupos caso ($78,34 \pm 9,02\%$) e controle ($77,55 \pm 9,70\%$) (Tabela 4).

Agregometria de transluminescência óptica com agonista Adrenalina

Como apresentado na Tabela 4, a análise feita pela agregometria óptica manteve-se similar entre os grupos mesmo quando utilizado como agonista a adrenalina. O grupo caso apresentou $49,01 \pm 23,93\%$ de agregação, enquanto o grupo controle apresentou $49,34 \pm 21,70\%$.

Tromboelastografia (Reorox®)

Por ser uma metodologia que avalia todo o processo de formação e fibrinólise do coágulo, o tromboelastograma permite diversos pontos de comparação entre os grupos. Os grupos caso e controle não diferiram de forma significativa quanto à firmeza máxima do coágulo $2.136 \pm 569,97$ Pa x $2.001,27 \pm 635,68$ Pa (Tabela 4), assim como nas demais variáveis do teste: tempo de coagulação $35,01 \pm 9,03$ segundos x $34,29 \pm 8,15$ segundos ($p=0,67$); tempo de formação do coágulo $90,67 \pm 25,62$ segundos x $87,3 \pm 30,12$ segundos ($p=0,22$); cinética de formação do coágulo $147,14 \pm 63,67$ Pa/min x $149,76 \pm 91,65$ Pa/min ($p=0,57$).

Tabela 4 - Testes de agregabilidade plaquetária

	Caso	Controle	95% IC	P
VerifyNow P2Y12 (PRU) n=133	262,14 ± 43,03	251,74 ± 43,72	(-6,16; 26,97)	0,21*
PFA-100 (seg) n=85	188,93 ± 85,07	158,45 ± 74,16	(-3,99; 64,94)	0,10*
ATO ADP (%) n=139	78,34 ± 9,02	77,55 ± 9,70	(-2,56; 3,93)	0,83*
ATO Adrenalina (%) n=139	49,01 ± 23,93	49,34 ± 21,70	(-7,99; 7,33)	0,77*
TG MaxFirmCoag (Pa) n=139	2.136,00 ± 569,97	2.001,27 ± 635,68	(-67,87; 337,33)	0,19*

PFA= 100- Platelet Function Analyzer; ATO ADP= Agregometria por transluminescência óptica com agonista ADP; ATO Adrenalina= Agregometria por transluminescência óptica com agonista Adrenalina; TGMaxFirmCoag= Tromboelastograma Máxima Firmeza do Coágulo; 95% IC= intervalo de confiança no nível de 95%; n= número de pacientes; P= significância estatística em análise univariada, * variáveis com valor de p>0,05 em modelo ajustado.

4.5.2 Variáveis hematimétricas e metabólicas

Como pode ser visto na Tabela 5 os dois grupos apresentaram valores semelhantes de hemoglobina e plaquetas. Os valores de colesterol total, LDL colesterol, HDL colesterol, triglicerídeos e lipoproteína (a), não diferiram significativamente entre os grupos caso e controle (p=0,64; p=0,87; p=0,63; p=0,9; p=0,55, respectivamente). Apesar do clearance estimado da creatinina ser semelhante entre os grupos, o grupo caso apresentou maiores valores de creatinina (1,24 ± 0,35 x 1,11 ± 0,27; p=0,037). Com relação à avaliação do perfil glicêmico, apesar dos grupos não diferirem de forma significativa em relação à hemoglobina glicada (p=0,63), o grupo controle apresentou no dia da coleta maiores valores de glicemia de jejum (116,16 ± 32,03 x 134,88 ± 57,58; p=0,031).

Tabela 5 - Variáveis hematimétricas e metabólicas

	Caso	Controle	95%IC	p
Hb (g/dL)	14,18 ± 1,63	14,59 ± 1,40	(-0,93; 0,09)	0,10
Plaquetas/mm³	242.228,6 ± 62.225,98	237.857,1 ± 56.653,1	(-16411; 25154)	0,67
Colesterol total (mg/dL)	162,56 ± 38,86	165,61 ± 38,44	(-15,98; 9,86)	0,64
LDL (mg/dL)	92,39 ± 30,01	93,23 ± 31,51	(-11,13; 9,44)	0,87
HDL (mg/dL)	43,37 ± 13,2	44,31 ± 9,93	(-4,85; 2,96)	0,63
Triglicerídeos (mg/dL)	133,00 ± 59,57	144,46 ± 95,69	(-38,10; 15,18)	0,90
Ureia (mg/dL)	44,26 ± 14,03	41,46 ± 15,17	(-2,08; 7,68)	0,09
Cr (mg/dL)	1,24 ± 0,35	1,11 ± 0,27	(0,02; 0,23)	0,037
Cl Cr (mL/min/1,73m²)	66,03 ± 22,61	68,48 ± 21,54	(-9,88; 4,98)	0,35
GJ (mg/dL)	116,16 ± 32,03	134,88 ± 57,58	(-62,49; -2,32)	0,031
HbA1C (%)	7,57 ± 8,74	7,05 ± 2,17	(-1,61; 2,65)	0,63
Lp(a) (mg/dL)	47,39 ± 43,81	44,14 ± 44,78	(-11,73; 18,23)	0,55

Hb= hemoglobina; LDL= lipoproteína de baixa densidade; HDL= lipoproteína de alta densidade; Cr= creatinina; Cl Cr= clearance de creatinina; GJ= glicemia de jejum; HbA1C= hemoglobina glicada; Lp (a)= lipoproteína (a); PCR us= proteína C reativa ultrasensível; IL-6= interleucina 6; 95% IC= intervalo de confiança no nível de 95%.

4.5.3 Variáveis inflamatórias

Como pode ser visto na Tabela 6, em relação aos marcadores inflamatórios avaliados os grupos não diferiram de forma significativa nos valores médios de leucócitos (p=0,58); apesar de valores numericamente maiores no grupo caso, as diferenças observadas tampouco atingiram significância estatisticamente significativas em relação à PCR-us (p=0,06) e

à Interleucina-6 ($p=0,09$).

Tabela 6 - Variáveis inflamatórias

	Caso	Controle	95% IC	p
PCR-us (mg/dL)	5,41 ± 7,95	3,79 ± 5,25	(-0,63; 3,88)	0,06
Leucócitos/mm³	7.468,29 ± 1.882,81	7.647,57 ± 1.961,47	(-821,80; 463,28)	0,58
IL-6 (ng/mL)	15,44 ± 64,73	4,56 ± 6,64	(-8,18; 29,94)	0,09

PCR us= proteína C reativa ultra sensível; IL-6- interleucina 6; 95% IC= intervalo de confiança no nível de 95%.

4.5.4 Coagulação e fibrinólise

Com relação aos parâmetros de coagulação estudados, o grupo caso apresentou tempo de protrombina (segundos) médio significativamente maior em comparação ao grupo controle ($22,32 \pm 33,31$ x $14,03 \pm 3,5$; $p=0,019$). Contudo, em relação aos valores de INR e de fibrinogênio os dois grupos foram similares ($p=0,36$ e $p=0,8$; respectivamente). A fibrinólise (avaliada pelo Dímero D e PAI-1) se mostrou semelhante nos pacientes com antecedente de AVCI/ AIT e nos pacientes sem tal antecedente ($p=0,72$ e $0,73$; respectivamente) (Tabela 7).

Tabela 7 - Variáveis de coagulação e fibrinólise

	Caso	Controle	95% IC	p
Fibrinogênio (mg/dL)	370,46 ± 80,11	366,86 ± 94,19	(-25,62; 32,82)	0,8
Dímero D (ng/dL)	645,29 ± 1321,84	459,24 ± 769,54	(-175,40; 547,52)	0,72
PAI-1 (pg/mL)	31,78 ± 30,53	27,42 ± 20,13	(-4,40; 13,13)	0,73
TP (seg)	22,32 ± 33,31	14,03 ± 3,5	(0,37; 16,20)	0,019
TP atividade (%)	93,04 ± 19,72	94,09 ± 20,10	(-7,72; 5,63)	0,46
INR	1,07 ± 0,21	1,08 ± 0,31	(-0,098; 0,078)	0,36
TT (seg)	12,21 ± 1,4	12,59 ± 1,67	(-0,89; 0,14)	0,32
TTPA (seg)	27,19 ± 2,56	28,24 ± 3,41	(-2,07; -0,04)	0,06
TTPA (rel)	0,96 ± 0,1	1,00 ± 0,13	(-0,08; 0,003)	0,05

PAI-1= inibidor do plasminogênio ativado 1; TP= tempo de protrombina; INR= razão normalizada internacional; TT= tempo de trombina; TTPA= tempo de tromboplastina parcial ativada; IC 95%= intervalo de confiança no nível de 95%.

4.5.5 Transferência de lípidos para o HDL colesterol

Conforme apresentado na Tabela 8, o HDL possui capacidade semelhante de transferência de ésteres de colesterol e fosfolípedes (p=0,09 e p=0,53, respectivamente) nos dois grupos. Entretanto, o grupo caso apresenta redução da capacidade de transporte de colesterol livre para o HDL ($5,56 \pm 1,34\%$ x $6,19 \pm 1,19\%$; p=0,003 em análise univariada e p=0,01 em modelo ajustado) e na capacidade de transporte de triglicerídeos ($5,01 \pm 1,06\%$ X $5,52 \pm 0,96\%$; p=0,006 em análise univariada e p=0,0004 em modelo ajustado).

Tabela 8 - Transferência de lipídeos para o HDL colesterol

	Caso	Controle	95% IC	p	p ajustado
Colesterol éster (%)	9,08 ± 1,94	8,61 ± 1,47	(-1,08; 0,14)	0,13	NS
Fosfolípedes (%)	21,30 ± 2,75	21,80 ± 3,05	(-0,53; 1,52)	0,34	NS
Triglicerídeos (%)	5,01 ± 1,06	5,52 ± 0,96	(0,27; 0,93)	0,006	0,0004
Colesterol livre (%)	5,56 ± 1,34	6,19 ± 1,19	(0,22; 1,03)	0,003	0,01

IC 95%= intervalo de confiança no nível de 95%, NS= não significante

4.5.6 Análise de subgrupos

Para essa análise buscou-se identificar quais subgrupos poderiam se relacionar com resposta exacerbada ao AAS (VN <440 URA). Devido ao pequeno número de pacientes não foi possível realizar essa análise para os seguintes subgrupos pré-especificados: tabagistas, hipertensos, usuários de estatina, diabéticos insulino-dependentes, usuários de inibidores da recaptção da serotonina e de betabloqueador.

Nos subgrupos avaliados, a hiper-resposta ao AAS apresentou-se de forma homogênea: sexo (p=0,88), história de diabetes (p=0,42), idade maior ou menor a 75 anos (p=0,72), peso maior ou menor a 60 kg (p=0,88), obesidade (p=0,57), disfunção renal (p=0,44), uso de protetor gástrico (p=0,1) e uso de hipoglicemiante oral (p=0,61).

5 DISCUSSÃO

Pacientes com antecedente de AVCI/AIT se constituem em um subgrupo de alto risco quando da ocorrência de SIMI. Esse alto risco é evidente tanto do ponto de vista isquêmico (apresentam maior risco de IAM, morte cardiovascular e AVCI), quanto do ponto de vista hemorrágico (apresentam maior risco de sangramentos, sobretudo, intracraniano)¹³. Contudo, o presente estudo demonstra que esse risco aumentado não deve ser imputado à agregabilidade plaquetária.

5.1 Fatores de risco cardiovascular, doença cardiovascular estabelecida e risco de sangramento em pacientes com AVCI/AIT prévio

No presente estudo, os grupos caso e controle foram pareados em relação a sexo, idade e tempo entre a ocorrência da SIMI e a inclusão no estudo, além de apresentarem adicionalmente características basais muito semelhantes no que se refere vários outros fatores de risco cardiovascular, como idade, sexo, IMC, dislipidemia, diabetes mellitus, insuficiência renal crônica e tabagismo ativo.

Apesar de o grupo caso apresentar maior média de pressão arterial aferida no dia da inclusão do paciente no estudo (mesmo em uso de um maior número de anti-hipertensivos nesse), o histórico de hipertensão arterial foi semelhante nos dois grupos. Tal fato sugere que o grupo com

antecedente de AVCI/AIT apresentava uma pressão arterial de mais difícil controle, fato relacionado com a ocorrência de eventos isquêmicos e hemorrágicos^{57,58}.

Quando se avaliou os antecedentes de doença cardiovascular (IAM, FA, ICP e doença arterial periférica) os grupos também se mostraram bem pareados. Em estudo publicado em 2013, Ducrocq *et al.*¹³ analisaram 4.460 pacientes incluídos no registro REACH (16,9% da população global do estudo), que apresentavam antecedente de AVCI/AIT (2.969 pacientes com AVCI e 1.491 com AIT). Nessa análise, foram observadas diversas diferenças significativas entre os grupos com ou sem AVCI/AIT prévio, como: maior idade, maior prevalência de mulheres, maior incidência de HAS e DM, IMC mais baixo, e maior frequência de outras doenças cardiovasculares (ICC, FA e doença arterial periférica).

Apesar do pareamento adequado, no presente estudo o grupo caso apresentou maior incidência de indivíduos com passado de CRM, achado similar ao encontrado por James *et al.*⁵⁹. Esse grupo publicou uma subanálise do estudo PLATO onde compararam 1.152 pacientes com antecedente de AVCI/AIT (6,1% da população do estudo) com 17.458 pacientes sem tal antecedente. Os pacientes com antecedente de AVCI/AIT novamente eram mais idosos, com maior prevalência de mulheres, peso mais baixo, maior prevalência de HAS e dislipidemia. Com relação às doenças cardiovasculares, esse subgrupo apresentava maior incidência de angina, IAM, ICC, ICP, CRM e doença arterial periférica em seus antecedentes.

A desproporção entre os grupos, no que se refere ao passado de CRM, justifica-se, possivelmente, pelo fato de pacientes com AVCI apresentarem aterosclerose difusa e adicionalmente, no presente estudo, parte dos pacientes foram selecionados em banco de dados de cirurgia cardíaca, o que também pode ter influenciado o achado.

Em análise de banco de dados de portadores coronariopatia aguda, Mehran *et al.*³⁸ demonstraram que, entre outras variáveis, sexo, idade e função renal eram preditores independentes de sangramento maior. Por outro lado, estudo de Subherwal *et al.*³⁷ acrescentou ainda o papel do diabetes e da doença vascular periférica como variáveis basais preditoras independentes de sangramentos. Esses achados fortalecem os resultados do presente estudo, no qual os grupos caso e controle estavam bem pareados em relação às variáveis citadas pelos autores como preditoras de sangramento.

5.2 Medicamentos e risco de sangramento

No presente estudo os grupos diferiram de maneira significativa quanto ao uso de bloqueadores dos canais de cálcio (utilizados com maior frequência no grupo caso).

Ducrocq *et al.*¹³ mostraram que indivíduos com antecedente de AVCI/AIT utilizam medicamentos diferentes em relação aos pacientes sem tal antecedente. Enquanto os indivíduos com antecedente cerebrovascular isquêmico faziam mais comumente uso de dupla antiagregação plaquetária, anticoagulação oral, diuréticos, bloqueadores de canais de cálcio e hipoglicemiantes orais, os pacientes sem tal antecedente utilizavam em maior número estatinas e beta bloqueadores.

A diferença entre os grupos quanto às medicações de uso domiciliar (bloqueadores dos canais de cálcio) poderia influenciar os resultados obtidos, já que tais compostos podem alterar a agregabilidade plaquetária⁶⁰.

O emprego dos bloqueadores dos canais de cálcio parece não se relacionar à ocorrência de desfechos hemorrágicos. He *et al.*⁶¹ demonstraram que o aumento de sangramentos gastrointestinais quando do uso de bloqueadores dos canais de cálcio só é identificado em estudos observacionais, que não realizavam ajuste dos resultados quanto ao histórico de sangramento gastrointestinal prévio e quanto ao uso de protetores gástricos. Quando analisaram apenas os estudos clínicos randomizados, o emprego dos bloqueadores de canais de cálcio não implicou em maior ocorrência de sangramentos gastrointestinais. De qualquer modo, essa variável foi incluída nos modelos ajustados desenvolvidos no presente estudo.

5.3 Agregabilidade plaquetária e risco de sangramento

5.3.1 VerifyNow Aspirin®

Os resultados aqui encontrados mostraram agregabilidade plaquetária média, ao VerifyNow Aspirin®, similar nos grupos caso e controle.

A população de pacientes com antecedente cerebrovascular isquêmico e doença arterial coronária é sabidamente uma população de alto risco para eventos hemorrágicos. Esse risco se faz mais nítido na vigência de esquemas de dupla ou até tripla antiagregação plaquetária; logo, é razoável se esperar que a agregabilidade plaquetária desempenhe papel importante na ocorrência desses eventos.

Estudo de Dewilde *et al.*⁶², avaliando pacientes com indicação de dupla antiagregação plaquetária e anticoagulação oral, sugere que o AAS possui papel fundamental na ocorrência de sangramentos. Nesse estudo, a suspensão do AAS implicou em redução de 64% nos eventos hemorrágicos aos 12 meses de seguimento. Gibson *et al.*⁶³ também obtiveram expressiva redução de desfechos hemorrágicos (41%) com a suspensão do AAS no tratamento antitrombótico.

Por outro lado, a agregabilidade plaquetária foi mensurada no estudo de Stone *et al.*⁵⁰, em que 8.849 pacientes foram acompanhados por cerca de um ano após implante de *stent* farmacológico. Nesse estudo, a alta reatividade plaquetária residual (ARPR) ao AAS (VerifyNow aspirin >550 URA) mostrou-se um fator protetor em relação à ocorrência de sangramentos clinicamente relevantes (HR ajustado de 0,65; p=0,04).

Adicionalmente, no presente estudo também foram similares as incidências de ARPR entre os dois grupos. Finalmente, com relação à BRPR, o grupo caso apresentou incidência numericamente maior em relação ao grupo controle (13,04% x 8,7%), porém, sem significância estatística.

No estudo de Rangé *et al.*⁶⁴, a ARPR ao AAS não se relacionou à ocorrência de eventos hemorrágicos no global. Entretanto, quando se comparou o menor e o maior quartis, a maior resposta ao AAS se relacionou de forma significativa com ocorrência de sangramentos.

Huczek *et al.*⁵² analisaram o valor da baixa reatividade plaquetária residual ao AAS (BRPR) mensurada pelo VerifyNow Aspirin® (<404 URA). Em indivíduos com coronariopatia aguda submetidos a implante de *stent*, a BRPR foi o preditor independente mais importante para a ocorrência de sangramentos

menores (OR 4,32; P <0,001) e apresentou acurácia moderada na predição desses eventos em seis meses (AUC 0,66; p <0,0001).

Conclui-se assim haver evidencia suficiente na literatura no sentido de que a agregabilidade plaquetária avaliada pelo VerifyNow Aspirin é um marcador de maior (ou menor) propensão a sangramento, justificando a escolha do método no presente estudo. Contudo, os resultados encontrados não sugerem que o maior risco hemorrágico dos indivíduos com AVCI/AIT se deva a eventuais alterações no padrão de resposta ao AAS.

5.3.2 VerifyNow P2Y12®

No presente estudo a agregabilidade plaquetária mensurada pelo VerifyNow P2Y12® não diferiu de forma significativa entre os pacientes com ou sem antecedente cerebrovascular isquêmico.

Diretrizes e consensos internacionais consideram a BRPR ao P2Y12 um fator de risco para sangramentos em pacientes submetidos a implante de *stent*. O VerifyNow P2Y12® é um dos três métodos de avaliação da agregabilidade plaquetária sugeridos em tais publicações para determinar a BRPR^{51,65}.

Diversos estudos utilizaram o VerifyNow P2Y12® para avaliar o risco hemorrágico, porém, com resultados contraditórios^{66,67}. O estudo *Assessment of Dual AntiPlatelet Therapy with Drug-Eluting Stents (ADAPT-DES)* foi a maior publicação nesse cenário, com mais de 8000 pacientes analisados, e demonstrou que a ARPR se relaciona de forma inversa com a ocorrência de sangramentos.

O achado de agregabilidade mediada pelo receptor P2Y12 similar entre os dois grupos, sugere que alterações nessa via da agregação plaquetária não seja a causa dos desfechos hemorrágicos mais frequentes nessa população. Vale ressaltar que foi mensurada a reatividade plaquetária basal pela via do P2Y12 (sem uso de inibidor do P2Y12), porém os estudos que avaliaram a relação dessa via da agregação com o risco hemorrágico avaliaram a agregabilidade residual (em uso de inibidor do P2Y12). Apesar do presente estudo não permitir qualquer conclusão em relação a pacientes em uso de dupla antiagregação plaquetária, a análise se justifica pela possibilidade dos pacientes com AVCI/AIT prévios apresentarem resposta anômala à via do receptor P2Y12, que eventualmente justificaria o aumento de sangramento nessa população.

O estudo de Breet *et al.*⁶⁷ avaliou a agregabilidade plaquetária residual em pacientes com antecedente de AVCI/AIT utilizando o VerifyNow P2Y12[®]. Apesar de ter analisado apenas 14 pacientes com tal antecedente, diferente do esperado, os indivíduos com passado de AVCI/AIT apresentaram maiores médias de agregação plaquetária ($245 \pm 71,5$ x $206,8 \pm 75,6$), mas a diferença entre os grupos não atingiu o limite de significância ($p=0,07$).

A relação dos sangramentos com a via do P2Y12 parece ocorrer apenas em pacientes hiper-respondedores. Em subanálise do estudo ADAPT-DES, Aradi *et al.*⁶⁵ mostraram que a BRPR mensurada pelo VerifyNow P2Y12[®] (definida como <95 PRU) implica em aumento de 64% na incidência de sangramentos clinicamente relevantes. Entretanto, aumento

significativo de desfechos hemorrágicos só ocorreu no menor quintil da agregabilidade plaquetária (<95 PRU), sendo semelhante a incidência de sangramento nos demais quintis.

5.4 Variáveis hematimétricas/metabólicas e risco de sangramentos

A função renal está intimamente relacionada com a ocorrência de eventos hemorrágicos em pacientes com coronariopatia aguda. No presente estudo os indivíduos com antecedente de AVCI/AIT, apesar de apresentarem função renal (estimada pelo clearance de creatinina) similar à do grupo sem tal antecedente, apresentavam valores de creatinina significativamente maiores.

Referente à importância do clearance de creatinina como preditor de eventos hemorrágicos, Subherwal *et al.*³⁷ demonstraram que a cada 10 mL/min de diminuição nesse parâmetro, ocorre 12% de aumento na incidência de sangramentos maiores.

Por outro lado, o valor sérico da creatinina também se relaciona com a ocorrência de desfechos hemorrágicos. Mehran *et al.*³⁸ demonstraram que cada 0,1 mg/dL de aumento na creatinina sérica implica em aumento de 9% na incidência de sangramentos maiores.

Dessa forma, o fato dos pacientes com AVCI e AIT no presente estudo apresentarem maiores valores de creatinina (apesar de valores semelhantes de clearance), pode ser um possível mecanismo envolvido com o risco hemorrágico dessa população. Contudo, o mecanismo pelo qual a creatinina sérica seria um marcador de risco, independente do clearance, precisaria ser melhor elucidado.

Com relação às variáveis metabólicas, no presente estudo os dois grupos apresentaram prevalência de história de diabetes e valores de hemoglobina glicada semelhantes, porém pacientes sem antecedente cérebro vascular isquêmico apresentaram maiores valores médios de glicemia de jejum.

Publicações prévias mostraram, em pacientes com SIMI, significativa correlação entre presença de hiperglicemia e ocorrência de eventos hemorrágicos^{68,69}. Contudo, como no presente trabalho a população de maior risco hemorrágico (grupo caso) mostrou menores valores de glicemia, essa variável não justificaria o excesso de sangramentos em indivíduos com AVCI/AIT prévios.

5.5 Variáveis inflamatórias e eventos hemorrágicos

No presente estudo, a população de maior risco para eventos hemorrágicos (grupo caso) apresentou valores de leucometria similares à população sem evento cerebrovascular prévio. No que se diz respeito à PCR-us e IL-6, os valores foram nominalmente maiores no grupo com passado de AVCI/AIT, porém as diferenças entre os grupos tampouco alcançaram significância estatística.

Marcadores inflamatórios parecem estar associados com a ocorrência de eventos hemorrágicos. Palmerini *et al.*⁷⁰ encontraram, em pacientes com SIMI, significativa correlação entre leucometria e sangramentos maiores. Esse achado também já havia sido descrito na publicação de Mehran *et al.*³⁸, onde a leucometria à admissão se correlacionou com sangramento de

forma significativa e independente, sendo leucometria uma das variáveis incluída no escore de predição de sangramentos proposto pelos autores.

No estudo de Koller *et al.*⁷¹, níveis de PCR-us se associaram de forma independente e significativa com a ocorrência de sangramentos maiores em octagenários com coronariopatia aguda. Nesse estudo, a elevação da PCR-us mostrou-se capaz de melhorar o poder preditivo do escore de risco CRUSADE para ocorrência de desfechos hemorrágicos.

A associação com a inflamação também pode ser vista em sangramentos intracranianos. Napoli *et al.*⁷² mostraram que níveis de PCR-us se associam de forma independente e significativa com crescimento precoce de hematoma intracraniano.

Uma possível justificativa para os achados do presente trabalho (marcadores de inflamação com valores semelhantes entre os grupos) pode ser vista no trabalho de Campbell *et al.*⁷³. Esse estudo relacionou os valores de PCR-us e IL-6 com a ocorrência de eventos isquêmicos e hemorrágicos em pacientes com SIMISST. Os autores evidenciaram que, apesar dos indivíduos com ou sem sangramento apresentarem valores basais dos marcadores inflamatórios semelhantes, os indivíduos que apresentavam sangramentos mostravam uma elevação significativamente maior desses marcadores durante a internação, sugerindo uma maior agressão miocárdica nesse grupo. O presente estudo avaliou apenas valores basais dos parâmetros de inflamação, em pacientes crônicos estáveis, e dessa forma não poderia avaliar tal hipótese.

5.6 Marcadores de coagulação/fibrinólise e eventos hemorrágicos

No presente estudo os grupos não diferiram de forma significativa quanto aos marcadores de coagulação. Dessa forma, a justificativa do maior risco hemorrágico dos pacientes com AVCI/AIT prévio não pode ser creditado a alterações na concentração de tais fatores. A única exceção foi o maior tempo de protrombina observado nos pacientes com antecedente cerebrovascular, contudo, sem diferença significativa nos valores de INR. Esse resultado deve se relacionar a uma maior prevalência (sem significância estatística) de indivíduos em uso de anticoagulação oral no grupo caso.

A cascata de coagulação está intimamente relacionada com a agregação plaquetária e desfechos clínicos em pacientes com coronariopatia aguda. O tratamento com anticoagulantes é parte fundamental no manejo inicial desses pacientes. Diversos anticoagulantes estão disponíveis na prática clínica, agindo em diferentes fatores de coagulação e apresentando resultados distintos em relação ao risco de eventos isquêmicos e hemorrágicos.

Apesar de os valores elevados da trombina e do fibrinogênio se associarem a maior risco de eventos em pacientes com doença coronária, do que seja do nosso conhecimento apenas o fator XIII (fator estabilizante da fibrina) possui demonstração de correlação significativa entre sua concentração eventos hemorrágicos⁷⁴.

A fibrinólise endógena se contrapõe ao processo de aterotrombose. Esse mecanismo se relaciona com as diferentes formas de apresentação clínica das SIMI, assim como com a recanalização espontânea dos quadros de IAM.

Marcadores séricos da fibrinólise como o Dímero-D e o PAI-1 apresentam fraca correlação com eventos cardiovasculares. Contudo, ferramentas como o tromboelastograma mostram benefício na prevenção e manejo de sangramentos relacionados à cirurgia cardíaca^{75,76}.

No presente estudo, o grupo com antecedente de AVCI e AIT apresentou marcadores de fibrinólise (Dímero-D e PAI-1) e tromboelastografia semelhantes, sugerindo que a fibrinólise endógena não seja um fator relacionado ao maior risco hemorrágico descrito nos pacientes com antecedente cerebrovascular isquêmico.

5.7 Transferência de lipídios para o HDL e eventos hemorrágicos

No presente estudo os valores de colesterol total, LDL, HDL e triglicerídeos foram semelhantes entre a população de alto risco para sangramentos intracranianos (AVCI/AIT prévio) e os indivíduos controle. Contudo, os indivíduos com antecedente cerebrovascular isquêmico mostraram de forma altamente significativa uma pior capacidade de transporte dos lípidos para o HDL (colesterol livre e triglicerídeos).

A associação do HDL com a ocorrência de eventos cardiovasculares e cerebrovasculares é bem definida⁷⁷⁻⁷⁹. Da mesma forma, existe sugestão na literatura que o HDL esteja associado com a ocorrência de sangramentos (sobretudo intracranianos)⁸⁰.

Wang *et al.*⁸⁰ ao estudarem os valores de HDL em 6046 pacientes sem antecedente de AVC ou DAC, demonstraram que valores mais baixos de HDL (<1,38 mmol/L) implicaram em um risco duas vezes maior para ocorrência de hemorragias intracranianas (OR 2,06; 95% CI, 1,25-3,12; P <0,01).

A importância da função do HDL em contrapartida à sua concentração no risco de eventos hemorrágicos foi analisada por Chei *et al.*⁸¹, que avaliaram correlação das subclasses do HDL com o risco de AVCI e AVCH. As subclasses menores de HDL possuem maior poder antioxidativo e anti-inflamatório e, nesse estudo, o acréscimo de 0,12 mmol/L na concentração da subclasse de HDL pequeno ou muito pequeno implicou em redução do risco de 67% para AVCI e 70% para AVCH. Com relação à subclasse de HDL médio, o acréscimo de 0,1 mmol/L acarretou redução de 37% para AVCI e 59% para AVCH. Em contrapartida, a subclasse de HDL grande não se relacionou com a ocorrência de AVCI ou AVCH.

A causalidade do HDL com hemorragias cerebrais foi reforçada por Lapergue *et al.*⁸² em pesquisa experimental, onde a injeção de HDL foi capaz de reduzir hemorragia cerebral secundária à trombólise (após a indução de AVCI em ratos). Os autores sugerem que o HDL apresente efeito vasculoprotetor em situações de isquemia. Tal ação é sugerida por diversas outras publicações⁸³.

A capacidade de transferência de lípedes para o HDL afeta a estrutura, o tamanho, o perfil de subclasses e conseqüentemente o transporte reverso de colesterol realizado pelo HDL^{84,85}. Estudos prévios demonstraram a associação de uma pior transferência de lípedes para o HDL com fatores de risco cardiovascular e com o desenvolvimento de DAC⁸⁶⁻⁸⁹.

A sugestão de que uma barreira hematoencefálica doente se relacione com o aumento de sangramentos intracranianos em pacientes com AVCI/AIT prévio, a capacidade vasculoprotetora do HDL, e o fato de

indivíduos com AVCI/AIT prévio possuem um HDL disfuncionante (caracterizado pela pior capacidade de receber lípedes), sugere um possível mecanismo que explique, pelo menos em parte o porquê do aumento de eventos hemorrágicos (principalmente cerebrais) em pacientes com AVCI/AIT prévios.

5.8 Limitações

O desenho do estudo (caso e controle de seleção retrospectiva) implica em viés de sobrevivência, visto que pacientes de maior risco hemorrágico podem não ter sido incluídos em virtude do falecimento.

Além disso, a inclusão de pacientes em uso apenas de AAS não permite a avaliação dos pacientes no momento de maior risco para sangramentos (dupla antiagregação plaquetária). Entretanto, dadas as características da população analisada, o uso de dupla antiagregação plaquetária teria óbvias implicações éticas.

Finalmente, a aderência ao uso do AAS poderia ser um limitante, visto que o uso de forma irregular poderia interferir no resultado dos testes de agregabilidade. Entretanto, os autores estão convencidos de que os pacientes incluídos no estudo estavam aderentes ao tratamento pois, especificamente em relação a essa variável, cuidado especial foi tomado quando da avaliação inicial dos pacientes.

6 CONCLUSÕES

a) Análise principal do estudo: Pacientes com antecedente de AVCI/AIT apresentam agregabilidade plaquetária ao AAS semelhante aos pacientes sem tal antecedente.

b) Análises exploratórias:

- Fibrinólise, coagulação e resposta inflamatória, são semelhantes em pacientes com ou sem AVCI/AIT.
- Análises de subgrupos pré-especificados não demonstraram quaisquer interações significativas com os resultados obtidos.
- Apesar de perfil lipídico semelhante, indivíduos com antecedente de AVCI/AIT apresentam menor capacidade de transporte de lípedes para o HDL.

7 ANEXO

Anexo A - Aprovação da CAPPesq

	<p align="center">Hospital das Clínicas da FMUSP <i>39710/1015</i> Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq</p>
<p>PROJETO DE PESQUISA</p>	
<p>Título: MECANISMOS ENVOLVIDOS NO AUMENTO DO RISCO DE SANGRAMENTO EM PACIENTES COM ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL OU ATAQUE ISQUÊMICO TRANSITÓRIO PRÉVIOS EM USO DE ANTIAGREGANTE PLAQUETÁRIO.</p>	
<p>Pesquisador Responsável: José Carlos Nicolau</p>	<p>Versão: 2</p>
<p>Pesquisador Executante: Carlos José Dornas Gonçalves Barbosa</p>	<p>CAAE: 05965412.0.0000.0068</p>
<p>Co-autores: Alexandre Vieira, Célia Maria Cassaro Strunz</p>	
<p>Finalidade Acadêmica: Doutorado</p>	
<p>Orientador: José Carlos Nicolau</p>	
<p>Instituição: HCFMUSP</p>	
<p>Departamento: COMISSÃO CIENTÍFICA DO INCOR</p>	
<p>PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</p>	
<p>Registro on-line: 9387</p>	
<p>Número do Parecer: 626.338</p>	
<p>Data da Relatoria: 25/04/2014 <i>ad-referendum</i></p>	
<p>Apresentação do Projeto: Trata-se de projeto previamente aprovado neste CEP, que traz carta datada de 29/7/2013, que solicita a mudança de pesquisador executante – Dr. Carlos José Dornas Gonçalves Barbosa deverá substituir a Dra. Renata de Souza Barreiros</p>	
<p>Objetivo da Pesquisa: Emenda para substituição de pesquisador executante</p>	
<p>Avaliação dos Riscos e Benefícios: riscos e benefícios não foram modificados por esta emenda</p>	
<p>Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: não há comentários adicionais sobre a substituição do pesquisador executante</p>	
<p>Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: não foram modificados pela substituição</p>	
<p>Recomendações: sem recomendações adicionais</p>	
<p>Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações: cientes</p>	
<p>Situação do Parecer: Aprovado</p>	
<p>Necessita Apreciação da CONEP: Não</p>	
<p>Considerações Finais a critério do CEP: Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.</p>	
<p>COMISSÃO CIENTÍFICA RECEBIDO 25/04/14 <i>Marcia</i></p>	<p>São Paulo, 25 de Abril de 2014</p>
	<p> Prof. Dr. Alfredo José Mansur -Coordenador Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq</p>
<p>Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 225 - Prédio da Administração - 5ª andar CEP 05403-010 - São Paulo - SP.</p>	
<p>55 11 2661-7585 - 55 11 2661-6442 ramais: 16, 17, 18 marcia.carvalho@hc.fm.usp.br</p>	

8 REFERÊNCIAS

1. GBD 2015 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016;388(10053):1459-544.
2. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *Eur Heart J*. 2016;37(42):3232-3245.
3. Heron M. Deaths: leading causes for 2014. *Natl Vital Stat Rep*. 2016;65(5):1-96.
4. Brasil. Ministério da Saúde. DATASUS. Portal de Saúde. *TABNET. Estatísticas vitais*. Disponível em: <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205&id=6937&VObj=http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sim/cnv/obt10>>. Acesso em 25 nov 2017.
5. Hankey GJ. Secondary stroke prevention. *Lancet Neurol*. 2014;13(2):178-94.

6. Mohan KM, Wolfe CD, Rudd AG, Heuschmann PU, Kolominsky-Rabas PL, Grieve AP. Risk and cumulative risk of stroke recurrence: a systematic review and meta-analysis. *Stroke*. 2011;42(5):1489-94.
7. Lackland DT, Elkind MS, D'Agostino R Sr, Dhamoon MS, Goff DC Jr, Higashida RT, McClure LA, Mitchell PH, Sacco RL, Sila CA, Smith SC Jr, Tanne D, Tirschwell DL, Touzé E, Wechsler LR; American Heart Association Stroke Council; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Nursing; Council on Peripheral Vascular Disease; Council on Quality of Care and Outcomes Research. Inclusion of stroke in cardiovascular risk prediction instruments: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2012;43(7):1998-2027.
8. Touzé E, Varenne O, Chatellier G, Peyrard S, Rothwell PM, Mas JL. Risk of myocardial infarction and vascular death after transient ischemic attack and ischemic stroke: A systematic review and meta-analysis. *Stroke*. 2005; 36(12):2748-55.
9. van Wijk I, Kappelle LJ, van Gijn J, Koudstaal PJ, Franke CL, Vermeulen M, Gorter JW, Algra A; LiLAC study group. Long-term survival and vascular event risk after transient ischaemic attack or minor ischaemic stroke: a cohort study. *Lancet*. 2005;365(9477):2098-104.

10. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK; Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without St-segment elevation. *N Engl J Med*. 2001; 345(7):494-502.
11. Budaj A, Yusuf S, Mehta SR, Fox KA, Tognoni G, Zhao F, Chrolavicius S, Hunt D, Keltai M, Franzosi MG; Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events (CURE) Trial Investigators. Benefit of Clopidogrel in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation in various risk groups. *Circulation*. 2002; 106(13):1622-6.
12. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C, Horrow J, Husted S, James S, Katus H, Mahaffey KW, Scirica BM, Skene A, Steg PG, Storey RF, Harrington RA; PLATO Investigators, Freij A, Thorsén M. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2009; 361(11):1045-57.
13. Ducrocq G, Amarenco P, Labreuche J, Alberts MJ, Mas JL, Ohman EM, Goto S, Lavallée P, Bhatt DL, Stage PG. A history of stroke/transient ischemic attack indicates high risks of cardiovascular event and hemorrhagic stroke in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2013; 127(6):730-8.

14. Mukherjee D, Eagle KA, Kline-Rogers E, Feldman LJ, Juliard J-M, Agnelli G, Budaj A, Avezum A, Allegrone J, FitzGerald G, Steg PG; GRACE Investigators. Impact of prior peripheral arterial disease and stroke on outcomes of acute coronary syndromes and effect of evidence-based therapies (from the Global Registry of Acute Coronary Events). *Am J Cardiol.* 2007; 100(1):1-6.
15. Lewis HDJ, Davis JW, Archibald DG, Steinke WE, Smitherman TC, Doherty JEI, Schnaper HW, LeWinter MM, Linares E, Pouget JM, Sabharwal SC, Chesler E, DeMots H. Protective effects of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina. *N Engl J Med.* 1985; 309(7):396-403.
16. Cairns JA, Gent M, Singer J, Finnie KJ, Froggatt GM, Holder DA, Jablonsky G, Kostuk WJ, Melendez LJ, Myers MG, et al. Aspirin, sulfinpyrazone, or both in unstable angina. Results of a Canadian multicenter trial. *N Engl J Med.* 1985; 313(22):1369-75.
17. ISIS-2 Collaborative Group. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *Lancet.* 1988; 2(8607):349-60.
18. Thérioux P, Waters D, Qiu S, McCans J, de Guise P, Juneau M. Aspirin versus heparin to prevent myocardial infarction during the acute phase of unstable angina. *Circulation.* 1993; 88(5 Pt 1):2045-8.

19. Karvouni E, Katriasis DG, Ioannidis JP. Intravenous glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists reduce mortality after percutaneous coronary interventions. *ACC Curr J Rev.* 2003; 12(2):81.
20. Luca G De, Suryapranata H, Stone GW, Antoniucci D, Tcheng JE, Neumann FH, Van de Werf F, Antman EM, Topol EJ. Abciximab as adjunctive therapy to reperfusion in acute ST-segment elevation myocardial infarction: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA.* 2005; 293(14):1759-65.
21. Chen Z, Jiang L. Addition of clopidogrel to aspirin in 45 852 patients with acute myocardial infarction: Randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2005; 366(9497):1607-21.
22. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, Neumann FJ, Ardissino D, De Servi S, Murphy SA, Riesmeyer J, Weerakkody G, Gibson CM, Antman EM; TRITON-TIMI 38 Investigators. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2007; 357(20):2001-15.
23. Dougherty JH Jr, Levy DE, Weksler BB. Platelet activation in acute cerebral ischaemia. Serial measurements of platelet function in cerebrovascular disease. *Lancet.* 1977;1(8016):821-4.
24. International Stroke Trial Collaborative Group. The International Stroke Trial (IST): a randomised trial of aspirin, subcutaneous heparin, both, or neither among 19435 patients with acute ischaemic stroke. International Stroke Trial Collaborative Group. *Lancet.* 1997;349(9065):1569-81.

25. CAST Collaborative Group. CAST: randomised placebo-controlled trial of early aspirin use in 20,000 patients with acute ischaemic stroke. CAST (Chinese Acute Stroke Trial) Collaborative Group. *Lancet*. 1997;349(9066):1641-9.
26. Sandercock P, Gubitz G, Foley P, Counsell C. Antiplatelet therapy for acute ischaemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(2):CD000029.
27. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*. 2002;324(7329):71-86.
28. Markus HS, Droste DW, Kaps M, Larrue V, Lees KR, Siebler M, Ringelstein EB. Dual antiplatelet therapy with clopidogrel and aspirin in symptomatic carotid stenosis evaluated using doppler embolic signal detection: the Clopidogrel and Aspirin for Reduction of Emboli in Symptomatic Carotid Stenosis (CARESS) trial. *Circulation*. 2005;111(17):2233-40.
29. Wong KS, Chen C, Fu J, Chang HM, Suwanwela NC, Huang YN, Han Z, Tan KS, Ratanakorn D, Chollate P, Zhao Y, Koh A, Hao Q, Markus HS; CLAIR study investigators. Clopidogrel plus aspirin versus aspirin alone for reducing embolisation in patients with acute symptomatic cerebral or carotid artery stenosis (CLAIR study): a randomised, open-label, blinded-endpoint trial. *Lancet Neurol*. 2010;9(5):489-97.

30. Wang Y, Wang Y, Zhao X, Liu L, Wang D, Wang C, Wang C, Li H, Meng X, Cui L, Jia J, Dong Q, Xu A, Zeng J, Li Y, Wang Z, Xia H, Johnston SC; CHANCE Investigators. Clopidogrel with aspirin in acute minor stroke or transient ischemic attack. *N Engl J Med*. 2013;369(1):11-9.
31. Diener H, Bogousslavsky J, Brass L. Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): *Lancet*. 2004; 364(9431):331-7.
32. Lee M, Saver JL, Hong KS, Rao NM, Wu YL, Ovbiagele B. Risk-benefit profile of long-term dual- versus single-antiplatelet therapy among patients with ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2013;159(7):463-70.
33. Doktorova M, Motovska Z. Clinical review: bleeding - A notable complication of treatment in patients with acute coronary syndromes: incidence, predictors, classification, impact on prognosis, and management. *Crit Care*. 2013;17(5):239-51.
34. Eikelboom JW, Mehta SR, Anand SS, Xie C, Fox KAA, Yusuf S. Adverse impact of bleeding on prognosis in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2006; 114(8):774-82.

35. Moscucci M, Fox KA, Cannon CP, Klein W, López-Sendón J, Montalescot G, White K, Goldberg RJ et al. Predictors of major bleeding in acute coronary syndromes: The Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Eur Heart J*. 2003; 24(20):1815-23.
36. Segev A, Strauss BH, Tan M, Constance C, Langer A, Goodman SG. Predictors and 1-year outcome of major bleeding in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: Insights from the Canadian Acute Coronary Syndrome Registries. *Am Heart J*. 2005; 150(4):690-4.
37. Subherwal S, Bach RG, Chen AY, Gage BF, Rao S V, Newby LK, Wang TY, Gibler WB, Ohman EM, Roe MT, Pollack CV Jr., Peterson ED, Alexander KP. Baseline risk of major bleeding in non-ST-segment-elevation myocardial infarction the CRUSADE (can rapid risk stratification of unstable angina patients suppress ADverse outcomes with early implementation of the ACC/AHA guidelines) bleeding score. *Circulation*. 2009; 119(14):1873-82.
38. Mehran R, Pocock SJ, Nikolsky E, Clayton T, Dangas GD, Kirtane AJ, Parise H, Fahy M, Manoukian SV, Feit F, Ohman ME, Witzenbrichler B, Guagliumi G, Lansky AJ, Sotne GW. A risk score to predict bleeding in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 55(23):2556-66.
39. Abu-Assi E. Bleeding risk stratification in an era of aggressive management of acute coronary syndromes. *World J Cardiol*. 2014; 6(11):1140.

40. Morrow DA, Braunwald E, Bonaca MP, Ameriso SF, Dalby AJ, Fish MP, Fox KA, Lipka LJ, Liu X, Nicolau JC, Ophuis AJ, Paolasso E, Scirica BM, Spinar J, Theroux P, Wiviott SD, Strony J, Murphy Sa; TRA2P-TIMI 50 Steering Committee and Investigators. Vorapaxar in the Secondary Prevention of Atherothrombotic Events. *N Engl J Med*. 2012; 366(15):1404-13.
41. Hochholzer W, Wiviott SD, Antman EM, Contant CF, Guo J, Giugliano RP, Dalby AJ, Montalescot G, Braunwald E. Predictors of bleeding and time dependence of association of bleeding with mortality: insights from the Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel--Thrombolysis in Myocardial Infarction 38 (TRITON-TIMI 38). *Circulation*. 2011; 123(23):2681-9.
42. Shinohara Y, Goto S, Doi M, Jensen P. Safety of the novel protease-activated receptor-1 antagonist vorapaxar in Japanese patients with a history of ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2012; 21(4):318-24.

-
43. Tricoci P, Huang Z, Held C, Moliterno DJ, Armstrong PW, Van de Werf F, White HD, Aylward PE, Wallentin L, Chen E, Lokhnygina Y, Pei J, Leonardi S, Rorick TL, Kilian AM, Jennings LH, Ambrosio G, Bode C, Cequier A, Cornel JH, Diaz R, Erkan A, Huber K, Hudson MP, Jiang L, Jukema JW, Lewis BS, Lincoff AM, Montalescot G, Nicolau JC, Ogawa H, Pfisterer M, Prieto JC, Ruzylo W, Sinnaeve PR, Storey RF, Valgimigli M, Whellan DJ, Widimsky P, Strony J, Harrington RA, Mahaffey KW; TRACER Investigators. Thrombin-receptor antagonist vorapaxar in acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2012; 366(1):20-33.
 44. Magnani G, Bonaca MP, Braunwald E, Dalby AJ, Fox KA, Murphy SA, Nicolau JC, Oude Ophuis T, Scirica BM, Spinar J, Theroux P, Morrow DA. Efficacy and safety of vorapaxar as approved for clinical use in the United States. *J Am Heart Assoc*. 2015;19:4(3)1-9.
 45. Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE 3rd. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*. 1993;24(1):35-41.
 46. Fisher M, Folland E. Acute ischemic coronary artery disease and ischemic stroke: similarities and differences. *Am J Ther*. 2008;15(2):137-49.
 47. Álvarez-Sabín J, Maisterra O, Santamarina E, Kase CS. Factors influencing haemorrhagic transformation in ischaemic stroke. *Lancet Neurol*. 2013;12(7):689-705.

48. Smith EE, Rosand J, Knudsen KA, Hylek EM, Greenberg SM. Leukoaraiosis is associated with warfarin-related hemorrhage following ischemic stroke. *Neurology*. 2002;59(2):193-7.
49. Pezzini A, Padovani A. Cerebral amyloid angiopathy-related hemorrhages. *Neurol Sci*. 2008;29(Suppl 2):S260-3.
50. Stone GW, Witzenbichler B, Weisz G, Rinaldi MJ, Neumann FJ, Metzger DC, Hnery TD, Cox D, Duffy PL, Mazzaferri E, Gurbel PA, Xu K, Parise H, Kirtane AJ, Brodie BR, Mehran R, Stuckey TD; ADAP-DES Investigators. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): A prospective multicentre registry study. *Lancet*. 2013; 382(9892):614-23.
51. Tantry US, Bonello L, Aradi D, Price MJ, Jeong Y, Angiolillo DJ, Stone GW, Curzen N, Hons BM, Geisler T, Ten Berg J, Kirtane A, Siller-Matula J, Mahla E, Becker RC, Bhatt DL, Waksman R, Rao SB, Alexopoulos D, Marcucci R, Reny JL, Trenk D, Sibbing D, Gurbel PA; Working Group on On-Treatment Platelet Reactivity. Consensus and update on the definition of on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate associated with ischemia and bleeding. *J Am Coll Cardiol*. 2013; 62(24):2261-73.
52. Huczek Z, Filipiak KJ, Kochman J, Michalak M, Grabowski M, Opolski G. Increased risk of minor bleeding and antiplatelet therapy cessation in patients with acute coronary syndromes and low on-aspirin platelet reactivity. A prospective cohort study. *J Thromb Thrombolysis*. 2013; 36(1):22-30.

-
53. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972; 18(6):499-502.
 54. Lo Prete AC, Dina CH, Azevedo CH, Puk CG, Lopes NH, Hueb WA, Maranhão RC. In vitro simultaneous transfer of lipids to hdl in coronary artery disease and in statin treatment. *Lipids*. 2009; 44(10):917-24.
 55. Rosner B. *Fundamentals of biostatistics*. 2^a ed. Boston: PWS Publishers, 1986. 584p.
 56. Farrell B, Godwin J, Richards S, Warlow C. The United Kingdom transient ischaemic attack (UK-TIA) aspirin trial: final results. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1991;54(12):1044-54.
 57. Gage BF, Waterman AD, Shannon W, Boechler M, Rich MW, Radford MJ. Validation of clinical classification schemes for predicting stroke: results from the National Registry of Atrial Fibrillation. *JAMA*. 2001;285(22):2864-70.
 58. Pisters R, Lane DA, Nieuwlaat R, de Vos CB, Crijns HJ, Lip GY. A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess 1-year risk of major bleeding in patients with atrial fibrillation: the Euro Heart Survey. *Chest*. 2010;138(5):1093-100.

-
59. James SK, Storey RF, Khurmi NS, Husted S, Keltai M, Mahaffey KW, Maya J, Morais J, Lopes RD, Nicolau JC, Paris P, Raev D, Lopez-Sendon JL, Stevens SR, Becker RC; PLATO Study Group. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes and a history of stroke or transient ischemic attack. *Circulation*. 2012; 125(23):2914-21.
 60. Wallen NH, Held C, Rehnqvist N, Hjemdahl P. Platelet aggregability in vivo is attenuated by verapamil but not by metoprolol in patients with stable angina pectoris. *Am J Cardiol*. 1995; 75(1):1-6.
 61. He Y, Chan EW, Leung WK, Anand S, Wong ICK. Systematic review with meta-analysis: the association between the use of calcium channel blockers and gastrointestinal bleeding. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015; 41(12):1246-55.
 62. Dewilde WJM, Oirbans T, Verheugt FWA, Kelder JC, De Smet BJGL, Herrman JP, Adriaenssens T, Vrolix M, Heestermans AA, Vis MM, Tijssen JG, van't Hof AW, ten Berg JM; WOEST study investigators. Use of clopidogrel with or without aspirin in patients taking oral anticoagulant therapy and undergoing percutaneous coronary intervention: an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet*. 2013; 381(9872):1107-15.
 63. Gibson CM, Mehran R, Bode C, Halperin J, Verheugt FW, Wildgoose P, Birmingham M, Ianus J, Burton P, van Eickels M, Korjian S, Daaboul Y, Lip GY, Cohen M, Husted S, Peterson ED, Fox KA. Prevention of Bleeding in Patients with Atrial Fibrillation Undergoing PCI. *N Engl J Med*. 2016;375(25):2423-34.

64. Rangé G, Yayehd K, Belle L, Thuaire C, Richard P, Cazaux P, Barbou F, Köning R, Chassaing S, Teiger E, Berthier R, Decomis MP, Claudel JP, Delarche N, Brunel P, De Poli F, Dupouy P, Beygui F, Albewrt F, Collet JP, Montalescot G; VERIFRENCHY Investigatros. Thrombotic and bleeding events after coronary stenting according to clopidogrel and aspirin platelet reactivity: VerifyNow French Registry (VERIFRENCHY). *Arch Cardiovasc Dis*. 2014; 107(4):225-35.
65. Aradi D, Kirtane A, Bonello L, Gurbel PA, Tantry US, Huber K, Freynhofer MK, ten Berg J, Janssen P, Angiolillo DJ, Siller-Matula JM, Marcucci R, Patti G, Mangiacapra F, Valgimigli M, Morel O, Palmerini T, Price MH, Cuisset T, Kastrati A, Stone GW, Sibbing D. Bleeding and stent thrombosis on P2Y12-inhibitors: collaborative analysis on the role of platelet reactivity for risk stratification after percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J*. 2015 36(27):1762-71.
66. Price MJ, Berger PB, Teirstein PS, Tanguay J-F, Angiolillo DJ, Spriggs D, Puri S, Robbins M, Garratt KN, Bertrand OF, Stillabower ME, Aragon JR, Kandzari DE, Stinics CT, Lee MS, Manoukian SV, Cannon CP, Schork NJ, Topol EJ; GRAVITAS Investigatros. Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial. *JAMA*. 2011; 305(11):1097-105.

67. Breet NJ, van Donkersgoed HE, van Werkum JW, Bouman HJ, Kelder JC, Zijlstra F, Hackeng CM, Ten Berg JM. Is platelet inhibition due to thienopyridines increased in elderly patients, in patients with previous stroke and patients with low body weight as a possible explanation of an increased bleeding risk? *Neth Heart J*. 2011; 19(6):279-84.
68. Thalib L, Zubaid M, Rashed W, Suwaidi J Al, Almahmeed W, Alozairi E, Alanbaei M, Sulaiman K, Amin H, Al-Motarreb A. Impact of diabetic status on the hyperglycemia-induced adverse risk of short term outcomes in hospitalized patients with acute coronary syndromes in the Middle East: findings from the Gulf registry of Acute Coronary Events (Gulf RACE). *Clin Med Res*. 2011; 9(1):32-7.
69. Alfaleh HF, Alhabib KF, Kashour T, Ullah A, Alsheikhali AA, Al Suwaidi J, Al Saif S, Almahmeed W, Asaad N, Amion H, Al-Motarreb a, Mimish L, Hersi A. Short-term and long-term adverse cardiovascular events across the glycaemic spectrum in patients with acute coronary syndrome: the Gulf Registry of Acute Coronary Events-2. *Coron Artery Dis*. 2014; 25(4):330-8.
70. Palmerini T, Généreux P, Mehran R, Dangas G, Caixeta A, Riva DD, Mariani A, Xu K, Stone GW. Association among leukocyte count, mortality, and bleeding in patients with non-st-segment elevation acute coronary syndromes (from the Acute catheterization and urgent intervention triage StrategY [ACUITY] Trial). *Am J Cardiol*. 2013; 111(9):1237-45.

-
71. Koller L, Rothgerber D, Sulzgruber P, El-Hamid F, Förster S, Wojta J, Goliach G, maurer G, Niessner A. History of previous bleeding and C-reactive protein improve assessment of bleeding risk in elderly patients (≥ 80 years) with myocardial infarction. *Thromb Haemost.* 2015; 114:1085-91.
 72. Napoli M Di, Parry-Jones AR, Smith CJ, Hopkins SJ, Slevin M, Masotti L, Campi V, Singh P, Papa F, Popa-Wagner a, Tudorica V, Godoy DA. C-reactive protein predicts hematoma growth in intracerebral hemorrhage. *Stroke.* 2014; 45(1):59-65.
 73. Campbell CL, Steinhubl SR, Hooper WC, Jozic J, Smyth SS, Bernstein D, De Staercke C, Syros G, Negus BH, Stuckey T, Stone GW, Mehran R, Dangas G. Bleeding events are associated with an increase in markers of inflammation in acute coronary syndromes: An ACUITY trial substudy. *J Thromb Thrombolysis.* 2011; 31(2):139-45.
 74. Campo G, Pavasini R, Pollina A, Tebaldi M, Ferrari R. Coagulation factors and recurrence of ischemic and bleeding adverse events in patients with acute coronary syndromes. *Thromb Res.* 2013; 132(2):151-7.

75. Mahla E, Suarez TA, Bliden KP, Rehak P, Metzler H, Sequeira AJ, Cho P, Sell J, Fan J, Antonino MJ, Tantry US, Gurbel PA. Platelet function measurement-based strategy to reduce bleeding and waiting time in clopidogrel-treated patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: the timing based on platelet function strategy to reduce clopidogrel-associated bleeding related to CABG (TARGET-CABG) study. *Circ Cardiovasc Interv.* 2012; 5(2):261-9.
76. Okafor ON, Gorog DA. Endogenous fibrinolysis. an important mediator of thrombus formation and cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol.* 2015; 65(16):1683-99.
77. Amarenco P, Labreuche J, Touboul PJ. High-density lipoprotein-cholesterol and risk of stroke and carotid atherosclerosis: a systematic review. *Atherosclerosis.* 2008;196(2):489-96.
78. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD, Jacobs DR Jr, Bangdiwala S, Tyroler HA. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation.* 1989;79(1):8-15.
79. Acharjee S, Boden WE, Hartigan PM, Teo KK, Maron DJ, Sedlis SP, Kostuk W, Spertus JA, Dada M, Chaitman BR, Mancini GB, Weintraub WS. Low levels of high-density lipoprotein cholesterol and increased risk of cardiovascular events in stable ischemic heart disease patients: A post-hoc analysis from the COURAGE Trial (Clinical Outcomes Utilizing Revascularization and Aggressive Drug Evaluation). *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(20):1826-33.

-
80. Wang X, Li S, Bai Y, Fan X, Sun K, Wang J, Hui R. Inverse association of plasma level of high-density lipoprotein cholesterol with intracerebral hemorrhage. *J Lipid Res.* 2011; 52(9):1747-54.
 81. Chei C-L, Yamagishi K, Kitamura A, Kiyama M, Imano H, Ohira T, Cui R, Tanigawa T, Sankai T, Ishikawa Ym Sato S, Hitsumoto S, Iso H; CIRCS Investigators. High-density lipoprotein subclasses and risk of stroke and its subtypes in Japanese population: The Circulatory Risk in Communities Study. *Stroke.* 2013; 44(2):327-33.
 82. Lapergue B, Dang BQ, Desilles J-PJ-P, Ortiz-Munoz G, Delbosc S, Loyau S, Louedec L, Couraud PO, Mazighi M Michel JB, Meilhac O, Amarenco P. High-density lipoprotein-based therapy reduces the hemorrhagic complications associated with tissue plasminogen activator treatment in experimental stroke. *Stroke.* 2013; 44:699-707.
 83. Gomaschi M, Calabresi L, Franceschini G. Protective Effects of HDL Against Ischemia/Reperfusion Injury. *Front Pharmacol.* 2016;7:2.
 84. Rye KA, Hime NJ, Barter PJ. Evidence that cholesteryl ester transfer protein-mediated reductions in reconstituted high-density lipoprotein size involve particle fusion. *J Biol Chem.* 1997;272(7):3953-60
 85. Cheung MC, Wolfbauer G, Deguchi H, Fernández JA, Griffin JH, Albers JJ. Human plasma phospholipid transfer protein specific activity is correlated with HDL size: implications for lipoprotein physiology. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1791(3):206-11.

86. Sprandel MC, Hueb WA, Segre A, Ramires JA, Kalil-Filho R, Maranhão RC. Alterations in lipid transfers to HDL associated with the presence of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol*. 2015;14:107.
87. Maranhão RC, Freitas FR, Strunz CM, Santos RD, Mansur AJ, Mansur AP. Lipid transfers to HDL are predictors of precocious clinical coronary heart disease. *Clin Chim Acta*. 2012;413(3-4):502-5.
88. Azevedo CH, Wajngarten M, Prete AC, Diament J, Maranhão RC. Simultaneous transfer of cholesterol, triglycerides, and phospholipids to high-density lipoprotein in aging subjects with or without coronary artery disease. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(9):1543-8.
89. Martinez LR, Santos RD, Miname MH, Deus DF, Lima ES, Maranhão RC. Transfer of lipids to high-density lipoprotein (HDL) is altered in patients with familial hypercholesterolemia. *Metabolism*. 2013;62(8):1061-4.