

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA

LUCAS LAGE MARINHO

**O uso da associação de paclitaxel a nanoemulsão lipídica
para o tratamento da doença arterial coronariana:
estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo**

São Paulo

2023

LUCAS LAGE MARINHO

**O uso da associação de paclitaxel a nanoemulsão lipídica
para o tratamento da doença arterial coronariana:
estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo**

Versão original

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. Raul Cavalcante
Maranhão

Coorientador: Profa. Dra. Fabiana Hanna
Rached

São Paulo

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Marinho, Lucas Lage

O uso da associação de paclitaxel a nanoemulsão lipídica para o tratamento da doença arterial coronariana : estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo / Lucas Lage Marinho. -- São Paulo, 2023.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Cardiologia.

Orientador: Raul Cavalcante Maranhão.

Coorientadora: Fabiana Hanna Rached.

Descritores: 1.Aterosclerose 2.Doença da artéria coronariana 3.Nanopartículas 4.Paclitaxel 5.Imunomodulação 6.Interleucina-6 7.Efeitos colaterais e reações adversas relacionados a medicamentos

USP/FM/DBD-476/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Agradecimento Especial

Gostaria de agradecer, especialmente, ao Professor Raul Maranhão, cuja notável contribuição para a ciência brasileira ao longo das últimas décadas é verdadeiramente inspiradora. Sua inquietação incessante em busca do conhecimento e inovação estabelece algo único e significativo para a comunidade científica nacional. Ter sido seu orientado representa para mim, não apenas uma grande honra, mas também uma responsabilidade que levaria com profundo respeito ao longo da minha carreira. Sua orientação e apoio foram cruciais para o desenvolvimento deste estudo, e sua dedicação à excelência acadêmica é um farol que ilumina o caminho de uma geração de pesquisadores. Obrigado Professor, por ser uma fonte constante de inspiração e por seu papel fundamental em minha formação acadêmica. Suas contribuições deixam um legado duradouro na ciência brasileira.

Agradecimentos

Primeiramente, quero estender meus agradecimentos aos pacientes que participaram deste estudo. Sua contribuição para a ciência foram fundamentais para a construção do conhecimento nesta área.

À Mariana, minha esposa e à Lia, minha filha, agradeço pelo amor incondicional, paciência e apoio constante ao longo deste desafiador momento da vida acadêmica. Suas palavras de incentivo me guiaram nessa travessia.

À minha família, em especial à minha mãe, meu pai e meu irmão. A eles, agradeço pelo encorajamento ao longo de toda a jornada acadêmica, cujo apoio foi alicerçante e significativo em cada etapa da minha formação.

Quero expressar minha profunda gratidão à equipe da Unidade de Aterosclerose, com destaque especial para a Dra. Fabiana Rached. Sua orientação, conhecimento e colaboração foram essenciais para o desenvolvimento e execução deste estudo.

Por último, mas não menos importante, estendo meus agradecimentos calorosos a todos os funcionários e colaboradores do Laboratório de Lipídeos do InCor. Em particular, agradeço a Aleksandra, Andreia, Debora, Fátima, Thauany e Wander, cujo profissionalismo e ajuda foram indispensáveis para o sucesso deste trabalho. Sem a colaboração de cada um de vocês, este estudo não teria sido possível.

Resumo

Marinho LL. O uso da associação de paclitaxel a nanoemulsão lipídica para o tratamento da doença arterial coronariana: estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

Introdução: As doenças cardiovasculares são as principais causas de óbito global. Atualmente, reconhece-se que sua base fisiopatológica consiste não apenas do acúmulo de lípidos na parede arterial, como também de uma resposta inflamatória crônica à lesão vascular. Tendo em vista o importante componente proliferativo-inflamatório no desenvolvimento e progressão da doença aterosclerótica, uma estratégia de tratamento baseada em fármacos antiproliferativos e imunomoduladores, como os usados no tratamento do câncer, pode ser uma nova rota terapêutica promissora. Em modelos animais, foi demonstrado que após injeção endovenosa, as nanopartículas lipídicas (LDE) se ligam aos receptores de LDL, concentrando-se nas placas ateroscleróticas. Quando tratados com paclitaxel associado à LDE, verificamos uma redução de 60% das lesões ateroscleróticas na aorta desses animais, não sendo observado sinais de toxicidade importante. **Métodos:** Trata-se de estudo prospectivo, randomizado, duplo cego, controlado por placebo que incluiu indivíduos acima de 18 anos com doença arterial coronariana (DAC) multiarterial. Os pacientes, foram randomicamente alocados em dois grupos: um grupo tratado com LDE-paclitaxel e um grupo placebo. Os pacientes receberam por via endovenosa 175 mg/m² de LDE-paclitaxel ou placebo uma vez a cada 3 semanas por 18 semanas. Os pacientes de ambos os grupos mantiveram terapia medicamentosa otimizada para DAC, conforme as diretrizes atuais. Em ambos os grupos, os pacientes foram submetidos à angiotomografia computadorizada de coronárias e à determinação de marcadores inflamatórios antes da primeira dose da medicação e até 4 semanas após a última dose da medicação. Além disso, foram realizados exames clínicos e laboratoriais a cada 3 semanas em todos os pacientes, a fim de avaliar toxicidade medicamentosa e incidência de eventos adversos. **Resultados:** Foram randomizados 40 indivíduos com uma média de idade de 65,6 ± 8 anos, em uma proporção de 1:1 entre os grupos. Um total de 58% dos indivíduos apresentava diabetes, 50% história de IAM e 91% dos pacientes estavam em uso de estatina e aspirina. Não houve

diferença em relação às características basais clínicas e laboratoriais em ambos os grupos. Em nenhum paciente incluído no estudo foi observada toxicidade clínica ou laboratorial importante. Em relação aos biomarcadores inflamatórios, houve uma tendência não significativa de redução dos níveis de IL-6 e PCRus no grupo LDE-paclitaxel (-16% e -28%, respectivamente), sendo que o mesmo achado não foi observado no grupo placebo. Em relação à progressão angiotomográfica da placa aterosclerótica, os volumes médios de placas apresentaram grande variação, sendo que nenhuma diferença foi observada entre os grupos durante após o seguimento. **Conclusão:** O uso da formulação LDE-paclitaxel mostrou-se segura em pacientes com DAC multiarterial e com um potencial efeito na modulação da resposta inflamatória através da via da IL-6.

Palavras-chave: Aterosclerose. Doença da artéria coronariana. Nanopartículas. Paclitaxel. Imunomodulação. Interleucina-6. Efeitos colaterais e reações adversas relacionados a medicamentos.

Abstract

Marinho LL. Effect of paclitaxel associated with lipid nanoparticles in patients with coronary artery disease: a double-blind, placebo-controlled study [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2023.

Introduction: Cardiovascular diseases are the leading cause of global mortality. It is widely acknowledged that their pathophysiological foundation encompasses not only the accumulation of lipids within the arterial wall but also a chronic inflammatory response to vascular injury. Considering the pivotal role of the immune component in the development and progression of atherosclerosis, a strategy based on antiproliferative and immunomodulatory therapy may represent a promising novel therapeutic pathway. In animal models, it has been shown that lipid nanoparticles (LDE) bind to LDL receptors and preferentially accumulate within atherosclerotic plaques. Treatment with paclitaxel associated with LDE reduced aortic atherosclerotic lesions by 60% in these animals without adverse effects. **Methods:** We conducted a prospective, randomized, double-blinded, placebo-controlled study that included individuals older than 18 with coronary artery disease (CAD), and optimized medical therapy. Patients were randomly assigned to receive LDE-paclitaxel or placebo. Patients received 175 mg/m² of LDE-paclitaxel or placebo intravenously every 21 days for 6 times. All patients underwent coronary CT angiography and had inflammatory biomarker levels assessed at baseline and at the end of follow-up. Furthermore, clinical and laboratory assessments were performed every three weeks to evaluate toxicity and incidence of adverse events. **Results:** A total of 40 individuals were randomized in a 1:1 ratio. Among those, 58% had diabetes, 50% had myocardial infarction, and 91% were in use of statin and aspirin. Baseline demographics, risk factors, and laboratory results were not different between groups. In all patients, no clinical or laboratory toxicities were observed. From the baseline to the end of follow-up, there was a non-significant trend toward a decrease in IL-6 levels and hsCRP in the LDE-paclitaxel group (-16% and -28%, respectively), not observed in placebo. Regarding plaque progression analysis, variation in plaque parameter values was wide, and no difference between groups was observed. **Conclusion:** In SCAD patients with multivessel disease, LDE-paclitaxel was safe and showed clues of potential

benefits in reducing inflammatory biomarkers associated with cardiovascular disease.

Keywords: Atherosclerosis. Coronary artery disease. Nanoparticles. Paclitaxel. Immunomodulation. Interleukin-6. Drug-related side effects and adverse reactions.

Listas

FIGURAS

Figura 1 -	Risco residual na doença arterial coronariana crônica	21
Figura 2 -	Risco residual inflamatório na DAC	22
Figura 3 -	O papel das citocinas na doença aterosclerótica	25
Figura 4 -	Relação entre as doenças inflamatórias crônicas e o risco cardiovascular	27
Figura 5 -	Potencial benefício da terapia anti-inflamatória na doença aterosclerótica	28
Figura 6 -	Diferença entre a molécula de LDL colesterol e a nanopartícula lipídica (LDE).....	31
Figura 7 -	Mecanismo de ação das nanopartículas	32
Figura 8 -	Desenho do estudo	41
Figura 9 -	Fluxograma da seleção dos indivíduos	52
Figura 10 -	Comparação da variação da PCRus antes e após o tratamento entre os grupos	60
Figura 11 -	Comparação da variação da Interleucina-6 antes e após o tratamento entre os grupos	60
Figura 12 -	Comparação da variação percentual (D %) dos níveis de IL-1 β , IL-6 e PCRus	62
Figura 13 -	Variação dos níveis de ureia durante o seguimento entre os grupos	69
Figura 14 -	Variação dos níveis de creatinina durante o seguimento entre os grupos	69
Figura 15 -	Variação dos níveis de TGO durante o seguimento entre os grupos	70
Figura 16 -	Variação dos níveis de TGP durante o seguimento entre os grupos	70

Figura 17 - Variação dos níveis de hemoglobina (Hb) durante o seguimento entre os grupos	71
Figura 18 - Variação dos níveis de leucócitos totais durante o seguimento entre os grupos	71
Figura 19 - Variação dos níveis de plaquetas durante o seguimento entre os grupos	72

TABELAS

Tabela 1 -	Características basais da população	54
Tabela 2 -	Características basais laboratoriais da população	55
Tabela 3 -	Comparação da variação do perfil lipídico antes e após o tratamento entre os grupos	56
Tabela 4 -	Comparação da variação da creatinina, ureia, transaminases hepáticas e CPK antes e após o tratamento entre os grupos	57
Tabela 5 -	Comparação da variação do hemograma antes e após o tratamento entre os grupos	58
Tabela 6 -	Comparação da variação dos biomarcadores inflamatórios antes e após o tratamento entre os grupos	59
Tabela 7 -	Comparação da variação percentual (Δ %) dos valores dos biomarcadores inflamatórios	61
Tabela 8 -	Características basais angiotomográficas da população	64
Tabela 9 -	Comparação da variação das características de alto risco da placa aterosclerótica antes e após cada intervenção	65
Tabela 10 -	Comparação da mediana do volume das placas ateroscleróticas antes e após o tratamento entre os grupos ...	67
Tabela 11 -	Comparação da variação da mediana do volume de placa aterosclerótica antes e após o tratamento em cada grupo ...	67
Tabela 12 -	Comparação da incidência de efeitos adversos clínicos entre os grupos	68

ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA-	artéria descendente anterior
ALT -	alanina aminotransferase
Angio TC -	Angio tomografia computadorizada
AR -	artrite reumatoide
AST -	aspartato aminotransferase
AVC-	acidente vascular cerebral
CCS-	<i>Canadian Cardiovascular Society</i>
CF-	classe funcional
CPK -	creatinofosfokinase
DAC -	doença arterial coronariana
DCC -	N,N'-díciclohexilcarbodiimida
DM -	diabetes mellitus
DMAP -	dimetilaminopiridina
ECG -	eletrocardiograma
FMUSP -	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GM-CSF -	fator estimulante de crescimento de macrófago/granulócitos
HAS -	hipertensão arterial sistêmica
HDL-C -	<i>High density lipoprotein cholesterol</i>
HIV -	vírus da imunodeficiência humana
IAM -	infarto agudo do miocárdio
IAMCSST -	infarto agudo do miocárdio com supra desnível do segmento ST
ICAM-1 -	moléculas de adesão intercelulares
IL-1β -	Interleucina-1 beta
IL-2 -	Interleucina-2
IL-1 -	Interleucina-1
IL-10 -	Interleucina-10
IL-12 -	Interleucina-12
IL-13 -	Interleucina-13
IL-18 -	Interleucina-18
IL-19 -	Interleucina-19
IL-33 -	Interleucina-33

IL-6 -	Interleucina-6
IL-8 -	Interleucina-8
IMC -	índice de massa corpórea
InCor -	Instituto do Coração
INF-y -	interferon gamma
LDE -	nanopartícula lipídica
LDL-C -	<i>Low density lipoprotein cholesterol</i>
Lp(a) -	lipoproteína a
M-CSF-	fator estimulante de crescimento de macrófago
MACE -	<i>major adverse cardiovascular events</i>
MESA -	<i>Multiethnic study of atherosclerosis</i>
MIF -	fator inibidor de migração
MMP-9 -	matrix metaloproteinase 9
mSV -	milésimos de Sievert
OMS -	Organização Mundial de Saúde
PCRus -	Proteína C-reativa ultrasensível
PCSK9 -	pró-proteína convertase subtilisina quexina tipo 9
SCCT -	<i>Society of Cardiovascular Computed Tomography</i>
SPMC -	<i>spleen-derived mononuclear cells</i>
TCLE-	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF-β -	Fator de transformação do crescimento beta
TGO -	transaminase oxalacética
TGP -	transaminase pirúvica
Th-1 -	linfócitos T helper 1
Th-2 -	linfócitos T helper 2
TNF-α -	fator de necrose tumoral alfa
UH-	unidades hounsfield
VCAM-1	molécula de adesão vascular
VLDL-C-	<i>Very Low-density lipoprotein cholesterol</i>
VSMCs-	células vasculares de músculo liso

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	17
1.1 Risco residual.....	19
1.2 Fisiopatologia da placa aterosclerótica: a importância da inflamação	23
1.3 Aterosclerose e a resposta imune inata	24
1.4 Tratamento da doença aterosclerótica baseado na ação imunomoduladora.....	26
1.5 Nanopartículas: Do laboratório à prática clínica.....	30
1.6 LDE-Paclitaxel: mecanismo de ação e segurança	32
1.7 Características angiotomográficas de alto risco e progressão da placa aterosclerótica	34
2 OBJETIVO	37
3 MÉTODO	39
3.1 Desenho do estudo	40
3.2 Seleção da população de estudo	40
3.3 Critérios de inclusão.....	41
3.4 Critérios de exclusão.....	42
3.5 Protocolos do estudo.....	42
3.5.1 Intervenções.....	42
3.5.2 Seguimento dos indivíduos	43
3.6 Determinações bioquímicas	44
3.7 Determinações dos biomarcadores inflamatórios	44
3.8 Determinações dos parâmetros radiológicos	45
3.9 Preparo da formulação LDE-oleato de paclitaxel	47
3.10 Análise estatística	48
3.11 Financiamento.....	49
3.12 Registro.....	49
4 RESULTADOS	50
4.1 População do estudo	51

4.2	Características basais demográficas, antropométricas e laboratoriais da população	53
4.3	Biomarcadores	56
4.3.1	Comparação da variação do perfil lipídico antes e após intervenção	56
4.3.2	Comparação da variação da função renal, transaminases e CPK antes e após intervenção	57
4.3.3	Comparação da variação do hemograma antes e após intervenção	58
4.3.4	Comparação da variação do biomarcadores inflamatórios antes e após intervenção.....	59
4.3.5	Comparação da variação absoluta (delta) dos biomarcadores inflamatórios.....	61
4.4	Angiotomografia de coronárias	63
4.4.1	Características basais angiotomográficas da população ...	63
4.4.2	Comparação da variação das características da placa aterosclerótica associadas a alto risco cardiovascular antes e após a intervenção.....	65
4.4.3	Comparação da variação do volume da placa aterosclerótica antes e após a intervenção	66
4.5	Desfechos de segurança	68
5	DISCUSSÃO	73
6	CONCLUSÃO	80
7	REFERÊNCIAS	82

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCVs) representam a principal causa de óbito global ⁽¹⁾. Estima-se que 32% de todas as mortes ao redor do mundo decorram de causas relacionadas ao sistema cardiovascular e destas, 75% têm sua ocorrência registrada em países em desenvolvimento ^(1, 2). Nesse contexto, a doença arterial coronariana (DAC) representa a principal causa, sendo responsável por 8,9 milhões de óbitos em 2017 ⁽¹⁾. Dados oriundos do Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM) nacional reforçam tais estatísticas. Calcula-se que em 2017 ocorreram aproximadamente 359 mil óbitos devido a DCV no Brasil, equivalendo, assim, a cerca de um terço do total de óbitos registrados no mesmo período no país ⁽³⁾.

A doença aterosclerótica, que anteriormente era vista apenas como resultante do acúmulo de colesterol nas artérias, hoje está bem estabelecido que fatores genéticos, ambientais, metabólicos e imunológicos desempenham um papel fundamental em seu desenvolvimento e progressão ⁽⁴⁾. Dentre esses, a resposta imune desempenha um papel crucial desde a formação da placa até as complicações trombóticas responsáveis pelos eventos cardiovasculares ⁽⁵⁾.

O progresso no tratamento da doença aterosclerótica nas últimas décadas, resultante de intervenções terapêuticas e mudanças no estilo de vida levou a maior sobrevida e redução de eventos cardiovasculares. Neste sentido, destacam-se o uso das estatinas, antiagregantes plaquetários e o controle dos principais fatores de risco como hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM) e cessação do tabagismo. Todavia, apesar do controle adequado dos principais fatores de risco, uma parcela significativa de indivíduos ainda apresentam eventos cardiovasculares recorrentes ⁽⁶⁾.

Tendo em vista o importante componente imunológico e inflamatório nesse processo contínuo, uma estratégia de tratamento baseada em

fármacos imunomoduladores e antiproliferativos, como os usados no tratamento do câncer, pode ser uma rota terapêutica muito promissora. No entanto, devido à elevada toxicidade, a utilização desses fármacos tem seu uso atual praticamente limitado a pacientes oncológicos. Não obstante, descobertas recentes com o uso de nanotecnologia podem chegar à resolução desse impasse, ao possibilitar a introdução dessas drogas no tratamento das doenças cardiovasculares, sem o ônus dos seus efeitos colaterais ^(7, 8).

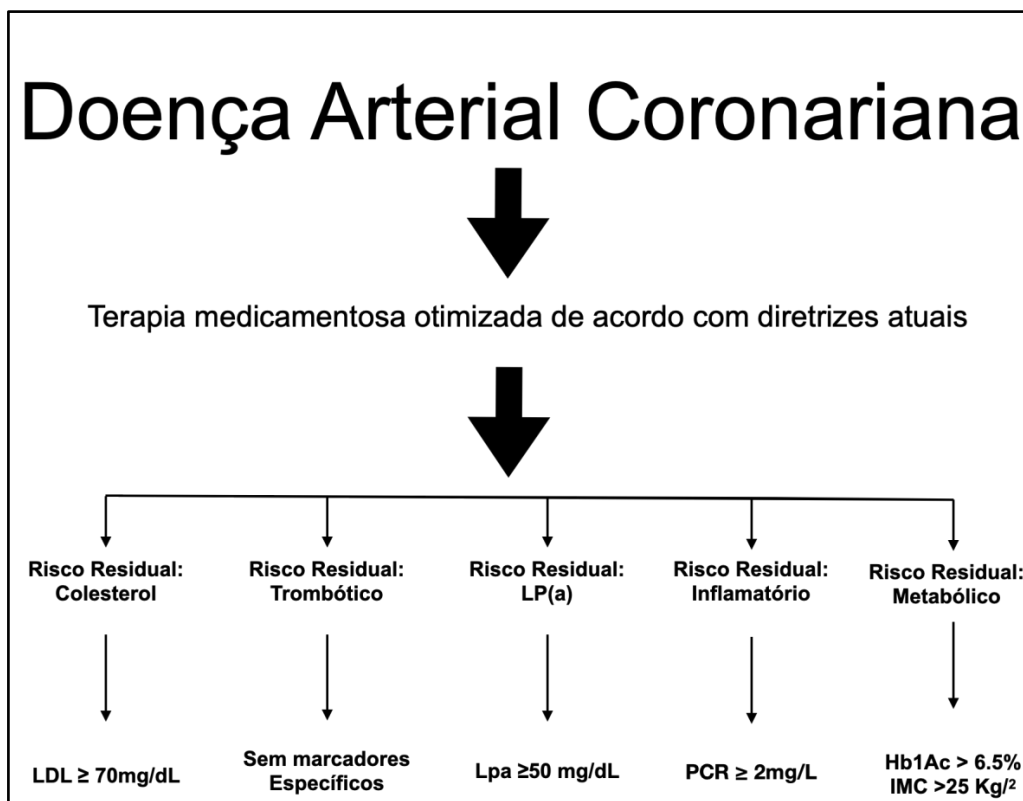
1.1 RISCO RESIDUAL

Apesar do grande progresso nas últimas décadas, a doença aterosclerótica ainda é a principal causa de morbi-mortalidade globalmente. Em pacientes portadores de DAC é sabido que além do tratamento com estatinas, o controle de fatores risco como HAS, DM, a prática de atividade físicas e a cessação do tabagismo são fundamentais para a redução do risco cardiovascular. Entretanto, alguns pacientes continuam a apresentar eventos cardiovasculares recorrentes apesar do controle adequado desses fatores de risco conforme diretrizes atuais, o que é descrito como risco residual (Figura 1) ⁽⁹⁾.

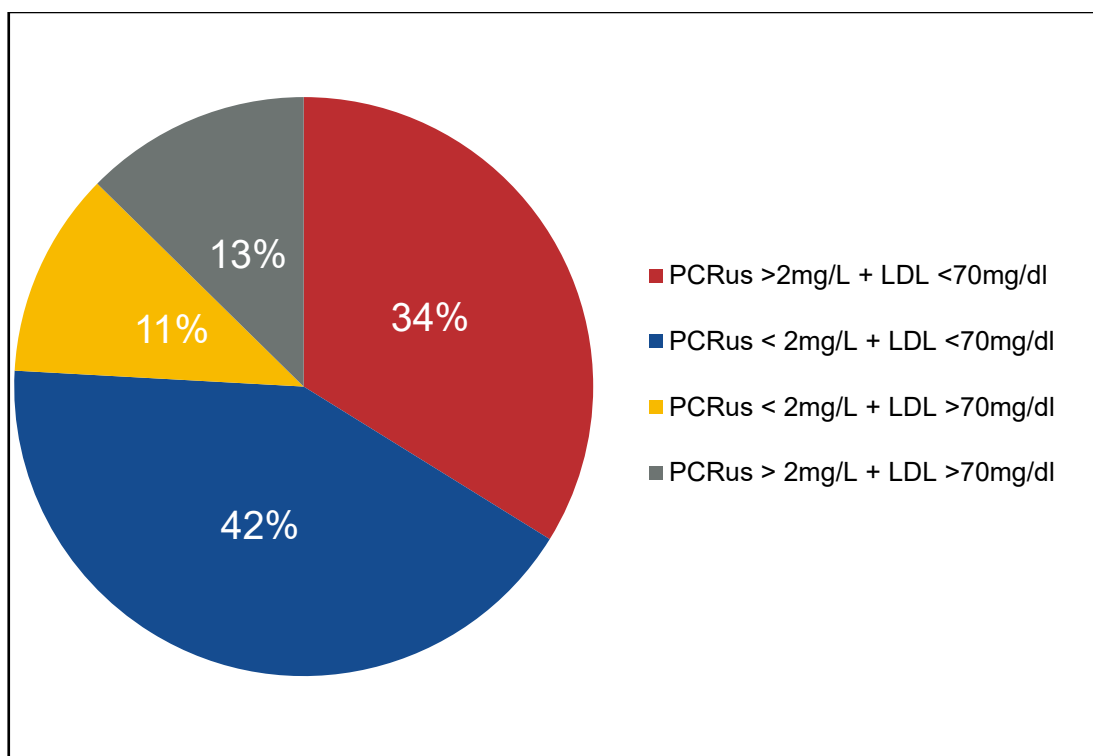
Uma parcela desse risco residual está relacionada a uma necessidade de redução mais agressiva do colesterol, conforme posteriormente observados nos trabalhos com ezetimibe e inibidores da pró-proteína convertase subtilisina kexin tipo 9(PCSK9), que reduziram eventos cardiovasculares através do tratamento mais intensivo do LDL-C em pacientes já em uso de estatinas em doses otimizadas ^(10, 11). No estudo FOURIER, observamos que mesmo no grupo de pacientes em uso de evolocumabe que atingiram níveis de LDL-C abaixo de 55mg/dL, a taxa de eventos cardiovasculares (morte, angina instável, infarto agudo do miocárdio (IAM), acidente vascular cerebral (AVC) e revascularização miocárdica) em 26 meses de seguimento ainda foi de aproximadamente 10% ⁽¹¹⁾.

Além do risco associado ao LDL-C, outros possíveis alvos terapêuticos em investigação a fim de reduzir o risco residual seriam: o uso de novas drogas anti-trombóticas e anti-plaquetárias ^(12, 13), o desenvolvimento de terapias direcionadas para redução dos níveis de Lipoproteína (a) ⁽¹⁴⁾ e, mais recentemente, o surgimento de um novo arsenal terapêutico para tratamento da obesidade e diabetes ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

Por último e não menos importante, temos o risco residual inflamatório, que consiste no grupo de pacientes com níveis de LDL-C <70 mg/dl e níveis de PCRus >2 mg/L ⁽¹⁸⁾. Estudos epidemiológicos e ensaios clínicos desde a década de 1990 demonstram que níveis elevados de marcadores inflamatórios como PCR-us e IL-6 estão diretamente relacionados a uma menor sobrevida a longo prazo, bem como a um maior risco de eventos cardiovasculares futuros, tanto no contexto de prevenção secundária como também, primária. ⁽¹⁹⁻²²⁾. Sabe-se que em pacientes em uso de terapia com estatinas, uma redução da PCRus em conjunto com uma queda dos níveis de LDL-C está associada a uma menor taxa de eventos cardiovasculares comparada ao grupo que apenas apresentou queda dos níveis de LDL-C ⁽²¹⁾. Recentemente, demonstramos em uma subanálise do estudo CIRT, que em paciente com níveis de LDL-C abaixo de 70mg/dL, os indivíduos com níveis basais de IL-6 acima da mediana populacional apresentaram um risco 56% maior de doença cerebrovascular e 113% maior de doença arterial periférica em comparação ao grupo de pacientes com níveis abaixo da mediana ⁽²³⁾. Mais recentemente, uma metanálise baseada nos estudos PROMINENT, REDUCE-IT, e CLEAR com pacientes em terapia clínica otimizada de acordo com diretrizes atuais e níveis de LDL-C < 80 mg/dL, foi evidenciado que o PCRus foi um melhor preditor de risco cardiovascular do que o LDL-C, o que reforça o potencial benéfico das terapias anti-inflamatórias e imunomoduladoras como tratamento adjuvante no grupo de pacientes com risco residual inflamatório ⁽²⁴⁾.

Figura 1 - Risco residual na doença arterial coronariana crônica

Modificado de Lawler PR et al *Eur Heart J.* 2021;42(1):113-131. ⁽⁹⁾

Figura 2 - Risco residual inflamatório na DAC

Modificado de Ridker PM. J Am Coll Cardiol. 2018;72(25):3320-31 ⁽²⁵⁾, baseado nos estudos PROVE-IT; IMPROVE-IT; SPIRE1/SPIRE2, em um total de 28.662 pacientes.

Em pacientes com doença cardiovascular estabelecida ou alto risco cardiovascular, estima-se que aproximadamente um terço dos indivíduos apresentem risco residual inflamatório (Figura 2) ⁽²⁵⁾. Mesmo quando analisamos indivíduos com níveis de LDL-C abaixo de 50 mg/dL, até 15% desses indivíduos apresentam níveis de PCRus acima de 2 mg/L ⁽²⁶⁾, sendo que essa elevação dos marcadores inflamatórios continua fortemente associada a um maior risco cardiovascular ⁽²⁷⁾.

1.2 FISIOPATOLOGIA DA PLACA ATEROSCLERÓTICA: A IMPORTÂNCIA DA INFLAMAÇÃO

A etapa inicial no desenvolvimento da placa aterosclerótica consiste na lesão ou disfunção endotelial. O endotélio, agora disfuncionante, passa a expressar moléculas de adesão em sua superfície quando exposto a estímulos como colesterol, hipertensão ou outros mediadores inflamatórios. Concomitantemente, o endotélio torna-se mais permeável, favorecendo a entrada e retenção de partículas de LDL-C na parede arterial ⁽⁴⁾. O contínuo acúmulo de lipoproteínas na camada íntima das artérias é um processo fundamental para o desenvolvimento da placa aterosclerótica, entretanto o mecanismo exato de como a LDL desencadeia esse processo ainda não é completamente conhecido.

Sabe-se que as partículas de LDL ao penetrar no endotélio são oxidadas na camada íntima. A LDL oxidada induz uma resposta humoral através da expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, fator inibidor de migração (MIF), fator estimulante de crescimento de macrófago (M-CSF), fator estimulante de crescimento de macrófago/granulócitos (GM-CSF), que por sua vez também atraem monócitos e células T. As células endoteliais, agora ativadas, promovem uma maior expressão de moléculas de adesão no endotélio, que em conjunto com quimiocinas locais, principalmente MIF e M-CSF, promovem a migração dos monócitos para dentro da camada íntima do vaso, onde estes se transformam em macrófagos. Nesse momento, a resposta inflamatória é amplificada através da ativação autócrina dos macrófagos, principalmente pela ação do TNF- α e MIF ⁽²⁸⁾. Paralelamente, os macrófagos se ligam às partículas de lipoproteínas através dos receptores scavenger e se transformam em células espumosas ⁽²⁹⁾. Processo este, fundamental para amplificação da resposta inflamatória local e desenvolvimento das lesões ateroscleróticas. Apesar de vários estudos em modelos animais reforçarem esses efeitos da LDL oxidado no início do processo aterosclerótico, ainda são escassas as mesmas evidências em humanos. Estudos mais recentes sugerem que a LDL nativa também tenha

uma grande contribuição nesse processo inicial, principalmente ao ativar a resposta imune adaptativa através dos linfócitos T ⁽³⁰⁾.

Apesar da maior concentração de macrófagos na placa aterosclerótica, os linfócitos T também possuem um papel fundamental na aterogênese. Os macrófagos através da produção de citocinas, principalmente a IL-12 e IL-18, atuam na diferenciação das células T em linfócitos Th1 e Th2. Os linfócitos Th1 promovem e aceleram esse processo através da produção de mediadores pró-inflamatórios como INF- γ , IL-1 e TNF- α . Já os linfócitos Th2 agem na direção oposta através da produção de citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10 ⁽²⁸⁻³⁰⁾. Essa interação e retro-alimentação entre os componentes da imunidade inata e adaptativa são responsáveis pela amplificação, manutenção ou recrudescimento da resposta inflamatória local.

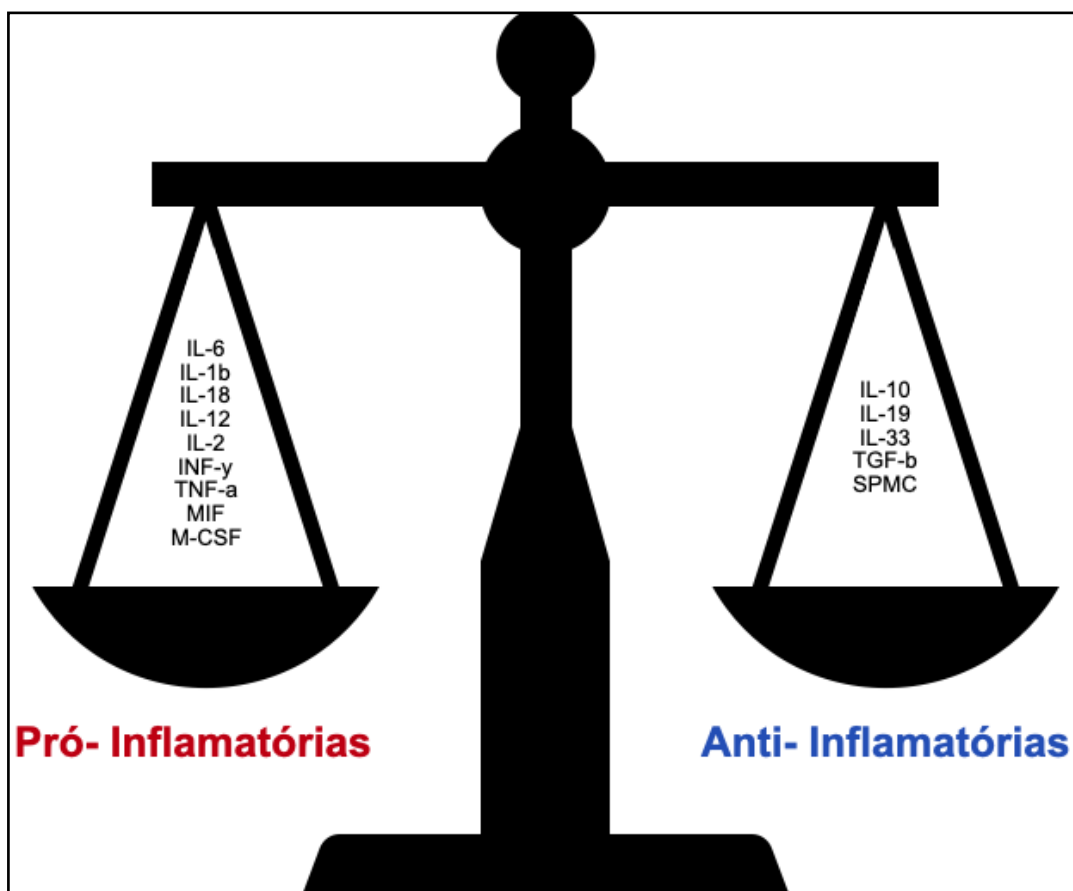
Enquanto nas fases iniciais da aterogênese, observamos uma disfunção endotelial e acúmulo de células inflamatórias na parede arterial; para a progressão da placa aterosclerótica depende, fundamentalmente, da migração das células musculares lisas da camada média para a íntima ⁽²⁹⁾. Essas células são responsáveis pela produção de colágeno, elastina, proteoglicanos e glicosaminas que irão, posteriormente, formar a capa fibrótica e compor a matriz extracelular da placa. Com a progressão e crescimento da placa, ocorre a morte celular dos macrófagos e das células musculares lisas presentes na placa em resposta a citocinas inflamatórias locais. Em última instância, esses debris celulares provenientes dos macrófagos e células musculares lisas irão formar o núcleo lipídico da placa aterosclerótica ⁽³⁰⁾.

1.3 ATEROSCLEROSE E A RESPOSTA IMUNE INATA

Diversos mecanismos da resposta imune inata têm papel fundamental na fisiopatologia da doença aterosclerótica, desde a formação, progressão até a instabilização da placa resultante na síndrome coronariana aguda, acidente vascular cerebral isquêmico e doença arterial periférica.

As citocinas, produtos dessa resposta imune inata, são cruciais nesse processo, sendo que as com propriedades pró-inflamatórias são responsáveis pela formação e progressão da placa, já as com propriedades anti-inflamatórias agem na direção oposta, funcionando como um mecanismo contra-regulatório na fisiopatogênese da doença aterosclerótica (Figura 3) ⁽³¹⁾.

Figura 3 - O papel das citocinas na doença aterosclerótica



Adaptado de 5, 28-30. Abreviaturas: IL-1b - Interleucina-1 beta; IL-10 - Interleucina-10; IL-12 - Interleucina-12; IL-33 - Interleucina-33; IL-18 - Interleucina-18; IL-19 - Interleucina-19; IL-6 - Interleucina-6; IL-2 - Interleucina-2; INF-γ - interferon gamma; TNF-α - fator de necrose tumoral alfa; M-CSF - fator estimulante de crescimento de macrófago; MIF - fator inibidor de migração; TGF-β - Fator de transformação do crescimento beta; SPMC - células mononucleares derivadas do baço.

Dentre as citocinas pró-inflamatórias, destacamos a IL-1 β , IL-6 e TNF- α , sendo que todas elas apresentam expressão aumentada na placa aterosclerótica ⁽³¹⁾. A IL-1 β é uma citocina da família da IL-1; modelos

experimentais evidenciaram que ratos geneticamente modificados para ausência de IL-1 β apresentavam redução de até 30% do volume da placa aterosclerótica ⁽³²⁾. A IL-6 é de fundamental importância na regulação da resposta imune e no processo de hemostasia, sendo sua expressão induzida pela IL-1 β e IL-18 ⁽²⁸⁾. Estudos em modelos animais, demonstraram que ratos tratados com IL-6 recombinante têm um aumento de até 5 vezes no volume das lesões ateroscleróticas comparados ao grupo controle ⁽³³⁾. O TNF- α também tem papel fundamental na aterogênese; modelos animais com deficiência de apoE e TNF- α apresentam uma redução de 50% no tamanho das lesões ateroscleróticas quando comparados ao controle ⁽³⁴⁾. Adicionalmente, nesse mesmo estudo, o tratamento com inibidores de TNF- α em animais com deficiência apenas de apoE resultaram na redução de até 75% nas dimensões das placas ateroscleróticas.

Por outro lado, dentre as citocinas anti-inflamatórias, temos a IL-10 como uma das principais representantes. Animais tratados com IL-10 apresentam até 60% de redução das placas ateroscleróticas ⁽³⁵⁾. Já, animais com deficiência de IL-10 apresentam um estado procoagulante com uma maior formação de trombina e risco de complicações trombóticas, além de um aumento nas dimensões das lesões ateroscleróticas ⁽³⁶⁾.

1.4 TRATAMENTO DA DOENÇA ATEROSCLERÓTICA BASEADO NA AÇÃO IMUNOMODULADORA

O benefício clínico potencial da terapia imunomoduladora na aterosclerose foi inicialmente observado em coortes de pacientes com doenças inflamatórias crônicas, como artrite reumatoide (AR), lúpus eritematoso sistêmico, psoríase e doença intestinal inflamatória crônica ⁽³⁷⁻⁴¹⁾.

Nestes grupos de pacientes, a inflamação vascular é notada precocemente, principalmente devido à propagação da cascata inflamatória, que resulta em uma formação e progressão prematura da placa aterosclerótica (Figura 4). Estudo de coorte prospectivo, envolvendo mais de

100.000 mulheres participantes do Nurse Healthy Study, sem diagnóstico de DAC ou AR ao início do seguimento, evidenciou um aumento de duas vezes na incidência de IAM no grupo de pacientes que foram diagnosticadas com AR durante o seguimento, em comparação ao grupo sem a doença reumatológica ⁽⁴²⁾. Pacientes portadores de psoríase, mesmo em formas leves, apresentam um risco 50% maior de desenvolver doenças cardiovasculares, enquanto os pacientes com formas graves da doença, possuem um risco 3 vezes maior de IAM, 60% maior de AVC e 40% maior de mortalidade cardiovascular ⁽⁴³⁾. Pacientes portadores de doenças intestinais inflamatórias crônicas, apresentam um risco 12% maior de IAM e 25% maior de AVC, sendo este risco significativamente maior durante períodos de exacerbação da doença ⁽⁴⁴⁾.

Figura 4 - Relação entre as doenças inflamatórias crônicas e risco cardiovascular

	IAM	AVC	Morte Cardiovascular
Artrite Reumatoide	↑ 100%	↑ 48%	↑ 50%
	↑ 40% geral	↑ 13% geral	↔ formas leves
Psoríase	↑ 200% formas graves	↑ 60% formas graves	↑ 37% formas graves
Doença Intestinal Inflamatória Crônica	↑ 12%	↑ 25%	↔

Adaptado de referências 40-43

A partir dos estudos prévios em modelos animais e estudos observacionais em pacientes com doenças inflamatórias crônicas, foram desenvolvidos ensaios clínicos a fim de avaliar o efeito da terapia imunomoduladora na doença aterosclerótica (Figura 5).

Figura 5 - Potencial benefício da terapia anti-inflamatória na doença aterosclerótica

	IAM	AVC	Morte Cardiovascular	Revascularização adicional
CANTOS	↓ 24%	↔	↔	↓ 36%
CIRT	↔	↔	↔	↔
COLCOT	↔	↓ 75%	↔	↓ 50%
LoDoCo2	↓ 30%	↔	↔	↓ 25%

O estudo clínico ENTRACTE comparou a taxa de eventos cardiovasculares maiores em pacientes portadores de AR moderada-grave submetidos à terapia com tocilizumabe (anticorpo monoclonal humanizado dirigido contra o receptor de IL-6) versus Etanercept (inibidor de TNF), sendo que não foi observado redução de eventos cardiovasculares no grupo tocilizumabe ⁽⁴⁵⁾.

Em um outro cenário, agora em pacientes não acometidos por doenças inflamatórias crônicas, estudos recentes evidenciaram que o uso de uma dose única de tocilizumabe pós IAM sem supra-desnível do segmento ST reduziu os níveis séricos de PCRus e troponina T ultra sensível quando comparados ao grupo controle ⁽⁴⁶⁾. Já em pacientes com IAM com supra-desnível do segmento ST, a mesma dose única de tocilizumabe antes do tratamento percutâneo aumentou o índice de salvamento miocárdico, mensurado pela ressonância magnética cardíaca, comparado ao grupo placebo ⁽⁴⁷⁾.

Em um marco em relação ao benefício da terapia anti-inflamatória na doença aterosclerótica, o estudo CANTOS incluiu mais de 10.000 pacientes com histórico de IAM prévio e níveis de PCRus acima de 2 mg/L ⁽⁴⁸⁾. Os pacientes que foram submetidos à terapia com canakimumabe (anticorpo monoclonal anti-interleucina-1 β) apresentaram uma redução de 15% no risco de eventos adversos cardiovasculares maiores (IAM, AVC e mortalidade

cardiovascular) em 48 meses de seguimento, sendo este o primeiro grande estudo clínico randomizado a corroborar os benefícios da imunomodulação na doença aterosclerótica. Posteriormente, subanálises do mesmo estudo evidenciaram que a magnitude da redução dos níveis séricos de PCRus e de IL-6 após a primeira dose da medicação estão diretamente relacionadas a uma menor taxa de eventos cardiovasculares. Além disso, o grupo que manteve os níveis de PCRus >2 mg/L e de IL-6 acima da mediana populacional não apresentou redução de eventos cardiovasculares quando comparados ao grupo placebo ^(49, 50).

Outro estudo importante nesse cenário é o CIRT trial, em que foram incluídos indivíduos com doença aterosclerótica prévia associada a diabetes tipo 2 ou síndrome metabólica ⁽⁵¹⁾. Entretanto, os resultados não mostraram diferença na incidência de eventos cardiovasculares ou nos níveis de biomarcadores inflamatórios entre pacientes que foram submetidos à terapia usual e os que foram tratados com o uso de metotrexato em doses baixas (15-20 mg/semana) em até 5 anos de seguimento.

Estudos observacionais em pacientes pós IAM, demonstraram que o uso de baixas doses de colchicina está associado a uma redução no volume da placa aterosclerótica não calcificada e uma diminuição dos níveis de PCRus ⁽⁵²⁾. Em 2019, o estudo COLCOT, que inclui um total de 4.745 pacientes pós IAM, evidenciou uma redução de 23% dos eventos adversos cardiovasculares maiores combinados (IAM, AVC, revascularização adicional, morte cardiovascular) no grupo que fez uso da colchicina 0,5mg/dia em relação ao grupo placebo ⁽⁵³⁾. Esse resultado se deve principalmente à redução da incidência de AVC e revascularização coronariana adicionais, sendo que esse benefício é maior quanto mais precoce for iniciada a terapia com colchicina no contexto pós-infarto ⁽⁵⁴⁾. Mais recentemente, o estudo LoDoCo2 também confirmou essa tendência de benefício da terapia com colchicina, agora em pacientes portadores de DAC crônica ⁽⁵⁵⁾. Em um seguimento médio de 28 meses, houve uma redução de 31% nos eventos cardiovasculares maiores combinados, principalmente à custa da redução de IAM e revascularizações adicionais.

Tendo em vista o forte componente proliferativo e inflamatório da doença aterosclerótica, em conjunto com evidências científicas provenientes de estudos pré-clínicos, o uso de drogas com maior poder de imunomodulação também passou a ser aventado. Dentre essas drogas, os fármacos quimioterápicos, devido as suas importantes propriedades imunomoduladoras e antiproliferativas, também têm sido alvo de estudos para prevenção secundária cardiovascular. Um estudo-piloto realizado no Instituto Dante Pazzanese em 8 pacientes com ateromatose aórtica submetidos à terapia com paclitaxel associado à nanoemulsão lipídica (LDE-paclitaxel), administrada a cada 3 semanas durante 18 semanas, mostrou uma redução de até 18% no volume total das placas ateroscleróticas no grupo intervenção, enquanto houve um tendência de aumento do volume de placa no grupo controle ⁽⁵⁶⁾. O mais importante é que a terapia com LDE-paclitaxel não resultou em toxicidades clínica ou laboratorial importantes, o que respalda sua investigação em estudos clínicos em pacientes com doença aterosclerótica.

1.5 NANOPARTÍCULAS: DO LABORATÓRIO À PRÁTICA CLÍNICA

Os agentes quimioterápicos agem principalmente através da inibição da replicação celular, mas também são responsáveis por modular a resposta imune do indivíduo. Entretanto, essas drogas possuem grande toxicidade que, em alguns casos, acarretam risco de vida ao paciente. Nesse contexto, algumas estratégias foram desenvolvidas a fim de reduzir a toxicidade desses medicamentos, dentre elas, a associação de nanopartículas que promove um aumento da concentração da droga no alvo terapêutico e um menor nível nos demais tecidos, conseqüentemente uma menor incidência de efeitos colaterais ⁽⁷⁾.

Nanopartículas lipídicas similares à LDL foram desenvolvidas em laboratório, porém com a diferença de não conter molécula de Apolipoproteína-B100 em sua estrutura, sendo denominadas LDE (Figura 6) ⁽⁵⁷⁾. Quando injetada na circulação, a LDE adquire a Apolipoproteína-E, sendo

então reconhecida pelos receptores de LDL das células, e conseqüentemente internalizadas para as células-alvo (Figura 7). Já foram descritas associações entre LDE e diversos quimioterápicos, tais como carmustina, etoposídeo, paclitaxel, metotrexato e daunorubicina ^(7, 58-60). Mais importante, estudos clínicos pilotos evidenciaram uma redução significativa da toxicidade desses fármacos quando associados à LDE e uma maior concentração destes nas células neoplásicas ^(7, 58-60).

Em modelos animais, também foi demonstrado que a LDE acumula-se nas lesões ateroscleróticas, locais estes com maior expressão de receptores de LDL ⁽⁶¹⁾. Demonstrado, assim, pela primeira vez, um sistema carreador artificial não lipossomal com potencial alvo terapêutico também na doença aterosclerótica.

Figura 6 - Diferença entre a molécula de LDL colesterol e a nanopartícula lipídica (LDE)

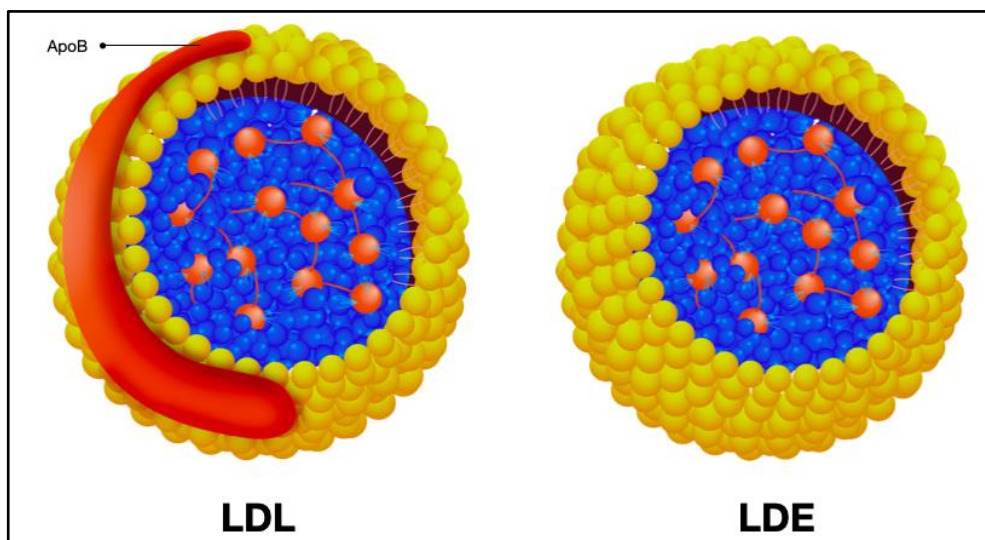
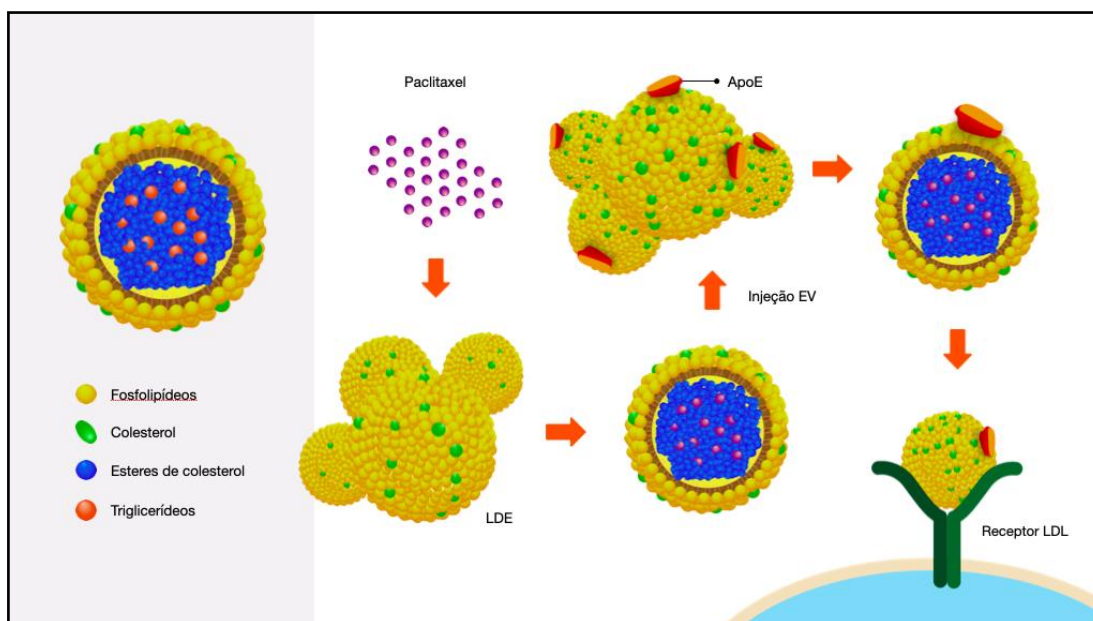


Figura 7 - Mecanismo de ação das nanopartículas

1.6 LDE-PACLITAXEL: MECANISMO DE AÇÃO E SEGURANÇA

O paclitaxel ou taxol é oriundo das cascas da planta Teixo do Pacífico. Suas propriedades anti-proliferativas foram inicialmente descritas em 1962, porém somente em 1971 sua estrutura química foi completamente elucidada ⁽⁶²⁾. Originalmente, o paclitaxel foi aprovado para uso oncológico, sendo que ele vem sendo usado há mais de 30 anos no tratamento de pacientes com câncer de mama, ovário e pulmão ⁽⁶³⁾.

Assim como a colchicina, que tem como um dos principais mecanismos de ação a desestabilização dos microtúbulos, o paclitaxel também age nos microtúbulos, só que seu mecanismo de ação se dá através da polimerização da tubulina e consequente formação de microtúbulos estáveis e disfuncionais ⁽⁶⁴⁾. Esse processo promove a inibição da divisão celular nas fases G0-G1 e G2-M do ciclo celular, ao interferir na formação do fuso mitótico que, em última instância, induz à morte celular ⁽⁶³⁾. Além do efeito

em nível dos microtúbulos, o paclitaxel também age modificando o processo e sinalização celular ao ativar proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs), tirosina kinases e óxido nítrico sintetases. Não menos importante, o paclitaxel também tem papel importante no processo de apoptose, ao ativar ambas vias dependente e independente da caspase ⁽⁶⁵⁾. Por último, não podemos esquecer do efeito antiproliferativo e antiangiogênico do paclitaxel em nível endotelial ^(66, 67), o que em última instância embasou seu uso em stents farmacológicos de primeira geração ⁽⁶⁸⁾, a fim de reduzir complicações como reestenose. Todavia, mais recentemente, o uso de stents revestidos com paclitaxel foi abandonado devido ao surgimento de novos dispositivos revestidos com outros fármacos que mostraram superioridade em relação aos stents revestidos com paclitaxel ⁽⁶⁹⁾, sendo seu uso atual praticamente restrito a intervenções percutâneas periféricas ⁽⁷⁰⁾.

Apesar do seu amplo uso na prática clínica, a elevada incidência de efeitos adversos são um grande fator limitante do uso sistêmico do paclitaxel. Dentre outros, neutropenia, neurotoxicidade e reações de hipersensibilidade são comumente associados ao uso do paclitaxel ^(63, 65).

A fim de reduzir a toxicidade sistêmica do paclitaxel e otimizar seu efeito em células-alvo, a associação com a LDE emerge como uma interessante opção. O tratamento com a associação LDE-paclitaxel, em modelos animais, demonstrou uma redução de 60% nas dimensões das lesões ateroscleróticas aórticas ⁽⁷¹⁾. Além disso, houve uma diminuição de 4 vezes na relação íntima/média e uma redução expressiva na presença de células vasculares de músculo liso e macrófagos na placa aterosclerótica. Posteriormente, em um estudo com coelhos submetidos a transplante cardíaco heterotópico, a mesma formulação apresentou uma captação 4 vezes maior no enxerto em relação ao coração nativo ⁽⁷²⁾. Além disso, houve uma redução acentuada do número de macrófagos locais e em até 50% no grau de estenose associada à doença vascular do enxerto. Mais importante, tanto em modelos animais como em estudos humanos, o uso da formulação LDE-paclitaxel foi extremamente seguro, não sendo associado a efeitos adversos significativos ^(7, 56, 73).

1.7 CARACTERÍSTICAS ANGIOTOMOGRÁFICAS DE ALTO RISCO E PROGRESSÃO DA PLACA ATEROSCLERÓTICA

Atualmente, dispomos de diversas ferramentas para avaliação da placa aterosclerótica ⁽⁷⁴⁾. Dentre as modalidades diagnósticas disponíveis, a angiotomografia computadorizada de coronárias tornou-se o método diagnóstico mais utilizado na DAC ⁽⁷⁵⁾. A angiotomografia de coronárias tem a grande vantagem de ser um método não invasivo, que além de avaliar o grau de obstrução do lúmen vascular, também permite a visualização de características intrínsecas da placa aterosclerótica e de estruturas adjacentes. Recentemente, a avaliação morfológica e estrutural da placa vem ganhando destaque, pois permite uma maior compreensão da doença aterosclerótica ⁽⁷⁶⁻⁷⁸⁾.

É sabido que as placas ateroscleróticas de alto risco são indicadores de "placas vulneráveis", ou seja, estão associadas a um pior prognóstico e maior risco de IAM ⁽⁷⁵⁾. Dentre essas características angiotomográficas podemos destacar:

- **Volume de baixa atenuação:** consistem em regiões da placa com densidade geralmente inferior a 60 Unidades Housefield (UH), que correspondem ao núcleo lipídico da placa, região esta de menor radiodensidade ⁽⁷⁹⁾. Em pacientes com DAC estável, a presença dessa característica aumenta em 60% o risco de IAM ⁽⁷⁸⁾.
- **Sinal de *napkin ring*:** originado devido à diferença de densidade à tomografia da placa aterosclerótica, onde temos uma região de baixa atenuação que corresponde ao centro lipídico, e uma região envolta de maior atenuação que corresponde a uma capa fibrótica fina ⁽⁸⁰⁾. Esse achado está associado a um aumento de até 5,5 vezes o risco de IAM ⁽⁸¹⁾.
- **Microcalcificações (*spotty calcification*):** são caracterizadas por calcificações menores que 3 mm, o que está diretamente relacionado à presença de uma capa fibrótica fina na placa ⁽⁸²⁾. O

achado de microcalcificações na placa está relacionado a um maior risco de IAM ⁽⁷⁶⁾.

- **Remodelamento positivo:** é caracterizado por uma diferença no diâmetro do vaso no local da placa aterosclerótica em comparação ao segmento proximal sem lesão. O índice de remodelamento é considerado positivo quando este tem um diâmetro 10% maior que no segmento de referência ⁽⁷⁶⁾. O remodelamento positivo está presente em até 87% das lesões em pacientes com quadros de IAM, todavia, o mesmo achado encontra-se presente em apenas 12% das lesões em pacientes com DAC sintomáticos ⁽⁸³⁾.

Além da avaliação qualitativa das lesões ateroscleróticas, a angiotomografia também permite mensurar a progressão ou regressão do volume da placa aterosclerótica. Ferramenta essa, que tem sido cada vez mais utilizada em estudos mecanísticos, a fim de avaliar o efeito de novas terapias na redução da carga aterosclerótica ⁽⁸⁴⁾. Diversos estudos, utilizando ambos métodos invasivos e não invasivos para avaliação da placa aterosclerótica em artérias coronárias, demonstram regressão da placa aterosclerótica em pacientes em uso de estatinas, ezetimibe e inibidores de PCSK-9 ^(74, 85). Mais recentemente, o estudo EVAPORATE mostrou que a terapia com ácido eicosapentaico (Vascepa) está associado a uma regressão de 17% no volume da placa de baixa atenuação medida pela angiotomografia de coronárias em 24 meses de seguimento ⁽⁸⁶⁾.

Todavia, esse mesmo efeito na progressão da doença aterosclerótica com terapias imunomoduladoras ainda não é bem estabelecido. Estudo prospectivo não randomizado com 80 pacientes com história de IAM recente (últimos 30 dias), demonstrou que a terapia com colchicina em dose de 0,5 mg/dia por 12 meses foi capaz de reduzir em até 41% o volume de placa de baixa atenuação, medido por angiotomografia de coronária ⁽⁵²⁾. Em estudo prospectivo não randomizado nacional com apenas 17 pacientes, foi demonstrado uma redução de até 28% no volume das lesões ateroscleróticas aórticas em 4 dos 8 pacientes tratados com a nanoemulsão lipídica LDE-

paclitaxel, enquanto no grupo controle nenhum dos 9 pacientes apresentou regressão do volume das placas ⁽⁵⁶⁾. Dessa forma, um estudo randomizado controlado por placebo comparando os efeitos da formulação LDE-paclitaxel na progressão da placa aterosclerótica se faz necessário.

2 Objetivo

2 OBJETIVO

Esse estudo objetiva avaliar a segurança e o efeito da formulação de paclitaxel carregado em nanoemulsão lipídica (LDE-paclitaxel) na aterosclerose coronariana e nos biomarcadores inflamatórios de indivíduos portadores de DAC multiarterial em terapia clínica otimizada.

3 Métodos

3 MÉTODOS

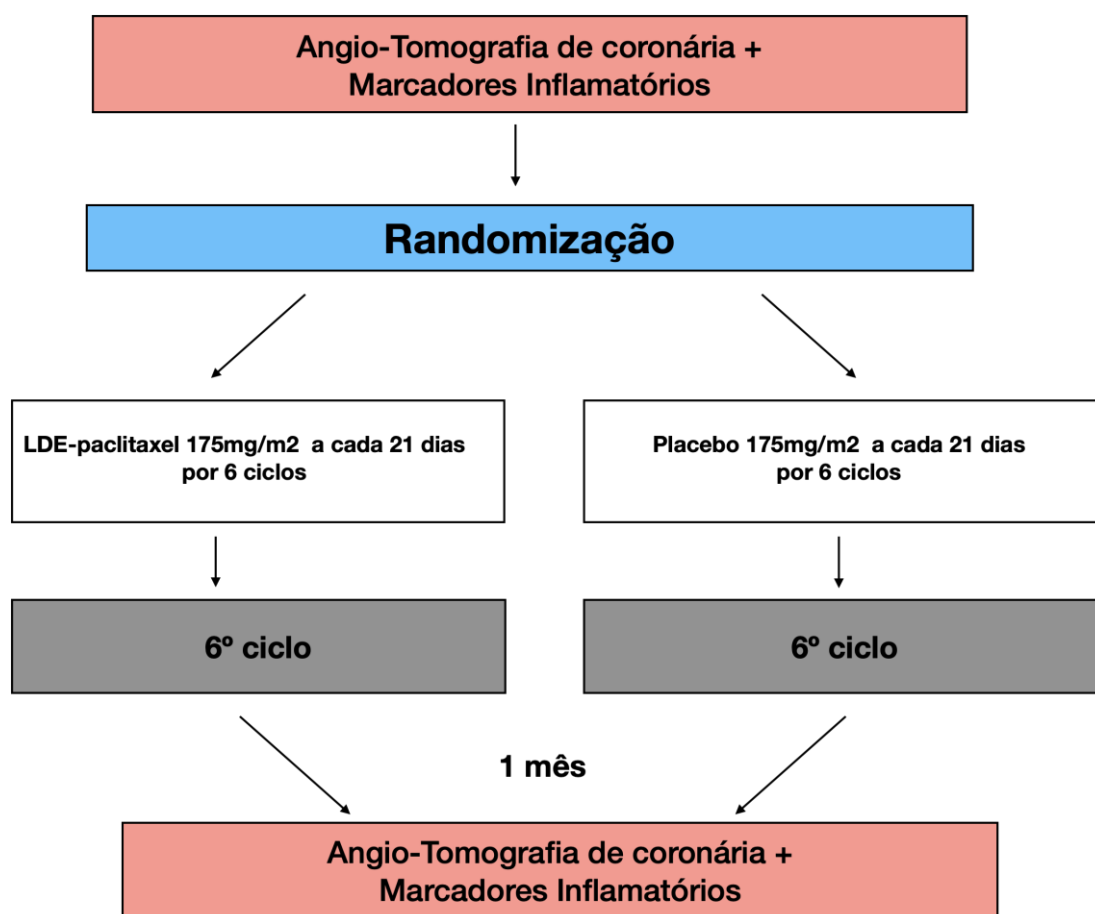
3.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo do tipo ensaio clínico, unicêntrico, prospectivo, duplo-cego, randomizado e controlado por placebo, para avaliação da segurança e do efeito da terapia com paclitaxel carregado na nanoemulsão (LDE-paclitaxel em pacientes com DAC estável. (Figura 8)

3.2 SELEÇÃO DA POPULAÇÃO DO ESTUDO

Foram selecionados pacientes com DAC documentada por exames de cinecoronariografia ou angiotomografia prévias, que encontravam-se em seguimento na Unidade de Aterosclerose do Instituto do Coração (InCor-HCFMUSP). Foram selecionados pacientes acima de 18 anos de idade, de ambos os sexos, em pleno exercício de suas faculdades mentais, entendimento do significado da pesquisa e que concordaram com o termo de consentimento.

Todos os pacientes que foram considerados apropriados para randomização assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O referido termo foi previamente submetido à Comissão Científica e de Ética do InCor sob o N°3313/09/064 e à Comissão de Normas Éticas e Regulamentares do Hospital das Clínicas – FMUSP, parecer N° 4.381.792.

Figura 8 - Desenho do estudo

3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos indivíduos de ambos os sexos maiores de 18 anos e portadores de coronariopatia obstrutiva bi ou tri-arterial, diagnosticados por cinecoronariografia ou angiotomografias prévias.

3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os seguintes critérios de exclusão foram utilizados: pacientes do sexo feminino em período pré-menopausa; indivíduos com insuficiência renal (creatinina >1,5 mg/dL); pacientes com quadro de infarto agudo do miocárdio com menos de 30 dias; indivíduos com insuficiência cardíaca sintomáticos classe funcional III e IV ou com angina CCS III e IV; pacientes com infecção crônica pelo vírus da Hepatite B ou C ou história prévia de infecção crônica fúngica, tuberculose ou HIV; indivíduos com fração de ejeção de ventrículo esquerdo inferior a 40% ou doenças valvares e miocárdicas graves associadas; pacientes com fibrilação atrial ou arritmia frequente que impeça a realização da angiotomografia; indivíduos com elevação dos níveis de transaminases hepáticas acima de 3 vezes o limite superior da normalidade; pacientes em uso crônico de corticoides, drogas imunossupressoras ou imunobiológicas ou portadores de doenças que interfiram na taxa de mortalidade, como câncer em atividade, doenças reumatológicas e outras; indivíduos com doença tireoidiana que contraindiquem uso de contraste iodado ou histórico de reação alérgica ao paclitaxel e pacientes com quadro de dissecação aguda ou crônica da aorta.

3.5 PROTOCOLO DO ESTUDO

3.5.1 Intervenções

Os pacientes permaneceram em tratamento clínico conforme as Diretrizes atuais para o Tratamento de Doença Coronária Crônica, fundamentalmente com estatinas, antiagregantes plaquetários, beta-bloqueadores, inibidores de enzima conversora ou similares, além do controle de fatores de risco como hipertensão, diabetes, obesidade e tabagismo.

Os pacientes foram randomicamente alocados em dois grupos (1:1), através de uma randomização simples baseada em uma tabela de números

aleatórios gerada por computador, sendo um grupo tratado com paclitaxel associado à nanoemulsão (LDE-paclitaxel) e outro grupo com a nanoemulsão associada a placebo (Placebo).

No grupo tratado com LDE-paclitaxel, os pacientes receberam por via endovenosa 175 mg/m² de paclitaxel. A infusão foi administrada no período de 60 minutos e a medicação foi administrada a cada 21 dias durante 6 vezes.

No grupo controle, os pacientes receberam por via endovenosa 175 mg/m² de placebo. A infusão foi administrada também no período de 60 minutos a cada 21 dias durante 6 vezes.

3.5.2 Seguimento dos indivíduos

Até 30 dias antes da administração da primeira dose e até 4 semanas após a administração da última dose, os participantes de ambos os grupos foram submetidos aos seguintes exames: angiotomografia computadorizada de coronária e dosagem dos níveis séricos de IL-1 β , IL-6, proteína C reativa ultra-sensível, TGO, TGP, ureia, creatinina, CPK e hemograma completos. Além disso, os pacientes foram submetidos a cada 21 dias à avaliação médica completa, incluindo questionário sobre efeitos colaterais e realização dos seguintes exames laboratoriais: TGO, TGP, ureia, creatinina e hemograma completos. As avaliações médicas, bem como a coleta dos exames bioquímicos e infusão das medicações foram realizadas no ambulatório de pesquisa clínica do InCor HC-FMUSP.

Os pacientes foram retirados do protocolo mediante a apresentação de sintomas ou sinais de toxicidade importante ou caso apresentassem episódios de infarto agudo do miocárdio ou insuficiência cardíaca descompensada.

3.6 DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS

As determinações séricas do triglicérides, colesterol total e frações foram realizadas a partir de amostras de sangue colhidas após jejum de 12 horas e utilizou instrumento automático (Cobas Mira Plus - Roche). O colesterol total e triglicérides foram determinados pelo método enzimático colorimétrico (CHO-PAD, Boehringer e Abbott, respectivamente). O HDL-C foi determinado pelo mesmo método após precipitação da LDL e VLDL, usando $MgCl_2$ e ácido fosfotúngstico. O valor LDL-C foi estimado pela equação de Friedewald, sendo obtido pela diferença entre o colesterol total e a somatória do colesterol de HDL-C e VLDL-C. As transaminases (TGO e TGP) e a CPK foram determinadas por método enzimático colorimétrico, já a dosagem de ureia e creatinina foram determinadas por método colorimétrico. A determinação da PCR ultra sensível foi realizada através do ensaio imunoturbidimétrico para a determinação quantitativa *in vitro* no plasma com kit específico disponível comercialmente (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha).

3.7 DETERMINAÇÃO DOS BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS

A análise das concentrações de IL-1 β e IL-6 foram realizadas em uma única etapa, com todas as amostras, após o término do seguimento do último paciente incluído no estudo. Foram pipetadas microesferas coloridas revestidas com anticorpos de captura contra os biomarcadores de interesse em uma placa com 96 poços. A seguir, foram pipetadas as amostras dos pacientes, a curva padrão, controles e branco posteriormente incubadas em agitador de placas. Após lavagens, o anticorpo de detecção foi adicionado à placa, que passou por novo período de incubação. As lavagens foram realizadas em uma lavadora magnética (Bio-plex PRO II Wash Station) e as microesferas permaneceram retidas na placa pela ação de um ímã. Posteriormente, foi adicionada a estreptavidina-ficoeritrina, que emitiu um sinal fluorescente quando excitado pelos LEDs do equipamento de leitura e

incubada por um breve período. Após a lavagem para remoção das proteínas não aderidas, foi adicionada aos poços uma solução tampão que possibilitou a análise pelo leitor de microesferas Magpix Milliplex (Luminex Corp, Austin, TX).

As concentrações das amostras desconhecidas foram estimadas a partir da curva padrão, utilizada com concentração conhecida fornecida na bula dos kits utilizados. Os níveis das citocinas são expressos em pg/mL de acordo com a curva padrão obtida na mesma placa.

3.8 DETERMINAÇÕES DOS PARÂMETROS RADIOLÓGICOS

Os pacientes foram submetidos à angiotomografia de coronárias por tomografia computadorizada de 320 colunas de detectores, com injeção de contraste não-iodado. Foram adquiridas até 40 imagens por segundo, com sistema de resolução temporal de 125-250 ms e espessura dos cortes de 0,5 mm.

Para a análise da carga de placa aterosclerótica coronariana, foram medidos os diâmetros, áreas e volume de todas as placas acima de 1 mm de espessura de todos os ramos coronários maiores que 1,5 mm baseados no modelo de 17 segmentos da Sociedade de Tomografia Computadorizada Cardiovascular (SCCT) ⁽⁸⁷⁾. Os achados angiotomográficos qualitativos associados a alto risco cardiovascular como o sinal de *napkin ring*, presença de microcalcificações e o remodelamento positivo do vaso foram definidos conforme discutido previamente ^(76, 80).

Para análise quantitativa do volume de placa aterosclerótica em mm³, foi realizado a soma de todos voxels entre a camada mais interna e externa do vaso. Esses valores foram gerados automaticamente pelo software e editados manualmente, quando necessários. A estação de trabalho Vitrea 2 (Vital Images) com software SurePlaque (Vital Images) foi utilizada para essas análises.

Inicialmente caracterizamos as placas de acordo com a radiodensidade de cada um de seus componentes medidos em UH (Unidades Housfield), conforme descrito previamente na literatura ⁽⁸⁸⁻⁹⁰⁾. As regiões com radiodensidade inferior a 30 UH foram classificadas como áreas de baixa atenuação, regiões com radiodensidade entre 30-150 UH como áreas fibrogordurosas, regiões com radiodensidade entre 151-350 UH como áreas fibróticas e, por último, regiões com radiodensidade >350 UH como regiões densamente calcificadas. O volume total da placa aterosclerótica, medido em mm³, foi calculado pela somatória do volume de todos os subcomponentes da placa previamente especificados.

Para avaliação da progressão da carga aterosclerótica durante o seguimento e posterior comparação entre os grupos foi calculado, por paciente, a média do volumes total de placa e dos volumes totais de cada subcomponente das placas nos momentos pré e pós-tratamento. A diferença absoluta no volume da placa após tratamento foi calculada pela diferença entre volume da placa final em mm³ menos o volume da placa inicial também em mm³. A porcentagem de variação do volume total e do volume de baixa atenuação em relação ao volume inicial foi calculada pela diferença entre as médias dos valores finais – valores iniciais dividido pela média do valor inicial e multiplicado por 100% [(Volume final -Volume inicial)/Volume inicial] x 100%. Os segmentos das artérias coronárias com stent, oclusão crônica e falha na reconstrução da imagem por artefatos foram automaticamente excluídas da análise.

Os pacientes foram expostos à radiação ionizante durante os exames de imagem, sendo estimado uma dosagem de até 14 mSv nos exames de tomografia, dentro dos limites impostos pela Comissão Internacional de Proteção Radiológica.

Todos os exames foram realizados pelo mesmo observador, que desconhecia os dados clínicos dos indivíduos avaliados. Os exames iniciais e finais foram analisados lado a lado a fim de reduzir a variabilidade entre os exames, mantendo o comprimento individual de cada placa analisada

constante entre os exames iniciais e finais. As imagens de angiotomografia computadorizada foram gravadas em mídia apropriada e a análise foi feita posteriormente pelo mesmo examinador cego quanto aos pacientes e à ordem dos exames.

3.9 PREPARO DA FORMULAÇÃO LDE-OLEATO DE PACLITAXEL

Para aumentar a lipofilicidade e melhorar sua incorporação à LDE, o paclitaxel foi inicialmente submetido a uma reação de derivatização, na qual foi adicionada uma cadeia de ácido oleico em sua molécula, sendo esse novo composto denominado de oleato de paclitaxel.

Para a síntese do oleato de paclitaxel, foram adicionados em diclorometano os reagentes na seguinte ordem: 1,2 mmol de ácido oleico, 2 mmol de DCC (N,N'-diciclohexilcarbodiimida), 1 mmol de DMAP (dimetilaminopiridina) e 1 mmol de paclitaxel. Esse processo foi realizado sob fluxo de nitrogênio e agitação magnética. Após duas horas, a reação foi verificada em cromatografia líquida de alta eficiência (UHPLC, Nexera X2, Shimadzu, MO, EUA) para análise da taxa de conversão de paclitaxel para oleato de paclitaxel. Após a síntese do composto, realizou-se um processo de purificação para retirada dos subprodutos, e o oleato de paclitaxel então foi obtido.

A LDE foi preparada a partir de uma mistura de lípides, constituída por 55% de fosfatidilcolina (Lipoid, Alemanha), 25% de éster de colesterol (Alfa Aesar, EUA), 1% de colesterol não esterificado (Fabrichem, EUA), 19% de triglicérides (Migyol 812N, Sasol Germany GmbH, Alemanha) com o oleato de paclitaxel, adicionado na proporção fármaco:lípides 1:10. A emulsificação dessa mistura foi realizada em homogeneizador de alta pressão (Emulsiflex C5, Avestin, Canadá). Após os ciclos de homogeneização, a formulação LDE-oleato de paclitaxel foi esterilizada pela passagem por um filtro de policarbonato com poros de 0,22 µm (Millipore, EUA), em fluxo laminar. A

preparação então foi armazenada em frascos estéreis, apirogênicos e mantida a 4°C.

3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As características basais foram ordenadas para todos os indivíduos como valores absolutos e porcentagens para variáveis categóricas, média \pm desvio padrão para dados com distribuição Gaussiana, e mediana (mínima:máxima ou intervalo interquartil) para os dados com distribuição não-Gaussiana. Para verificar a distribuição dos dados das variáveis contínuas, foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Para comparação entre os dados pré e pós-tratamento no mesmo grupo, foi utilizado o teste t-pareado ou teste Wilcoxon, de acordo com a distribuição dos dados. Para comparações das médias entre os grupos, foi utilizado o teste t-não pareado ou teste Mann-Whitney. As variáveis categóricas foram analisadas pelo teste qui-quadrado ou de Fischer. Para comparação entre medidas repetidas da mesma variável ao longo da intervenção, foi utilizado o teste de ANOVA com medidas repetidas. As análises estatísticas foram feitas usando SAS versão 9.4 e para as análises gráficas foi utilizado o software GraphPad Prism versão 10.0. Em todas as análises efetuadas, os parâmetros analisados serão considerados significativamente diferentes quando $p < 0,05$.

O tamanho da amostra foi calculado com base nos estudos e Vaidya K et al., onde foi observado uma redução de 40,9% no volume de placa de baixa atenuação no grupo tratado com colchicina⁽⁵²⁾. Estimamos que para haver uma redução de 25% do volume da placa aterosclerótica de baixa atenuação com um poder estatístico de 80% e um $p < 0,05$ seriam necessários 19 pacientes em cada grupo. Adicionalmente, consideramos uma taxa de abandono do tratamento de 5%, sendo então estipulado um total de 20 pacientes em cada grupo.

É importante ressaltar que o presente estudo é um projeto de vanguarda, não havendo, até o momento, paralelo na literatura de ensaios

clínicos randomizados com a formulação LDE-paclitaxel em humanos para tratamento da doença aterosclerótica coronariana. Com o conhecimento disso, torna-se imperativo a extrapolação dos resultados encontrados em intervenção com outras drogas anti-inflamatórias; no caso em questão, a colchicina, para o cálculo do tamanho da amostra.

3.11 FINANCIAMENTO

Esse estudo teve financiamento da FAPESP -Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – via projeto temático em medicina translacional, processo 14/03742-0.

3.12 REGISTRO

O estudo encontra-se registrado na plataforma Clinical Trials com número NCT04148833 (<https://clinicaltrials.gov/study/NCT04148833>)

4 Resultados

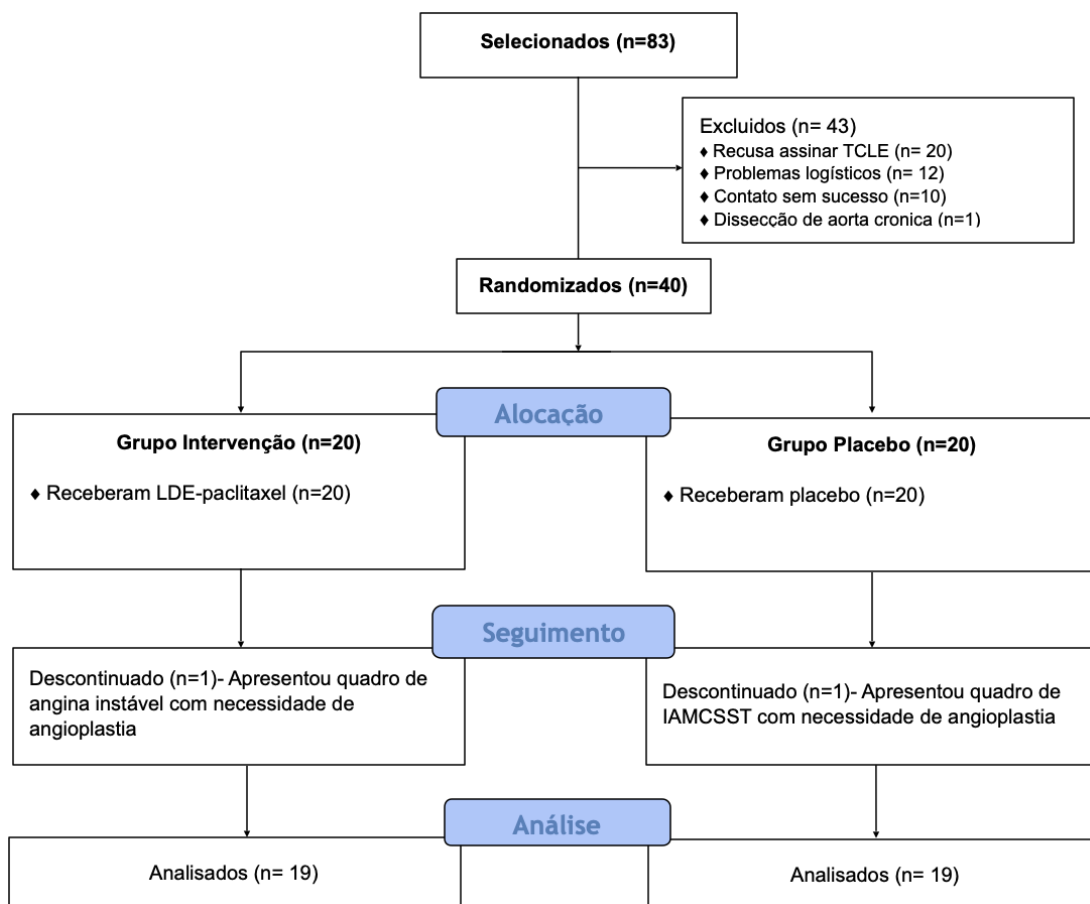
4 RESULTADOS

4.1 POPULAÇÃO DO ESTUDO

A partir dos critérios de inclusão e exclusão foram inicialmente selecionados 83 pacientes da Unidade de Aterosclerose do InCor-HCFMUSP para a visita de triagem. Desses, 43 foram excluídos: 20 pacientes recusaram a assinar o TCLE, 12 pacientes referiam problemas logísticos, pois não teriam condições para comparecer ao InCor a cada 3 semanas, 10 pacientes não compareceram à visita de triagem e 1 paciente teve diagnóstico de dissecção de aorta crônica durante a realização da angiotomografia pré-randomização (Figura 9).

Foram randomizados 40 indivíduos entre junho de 2019 e janeiro de 2020. Desses indivíduos, dois apresentaram eventos cardiovasculares, sendo o cegamento desses quebrados e descontinuados do protocolo e excluídos das análises. O primeiro desses dois pacientes pertencia ao grupo LDE-paclitaxel e apresentou quadro de dor torácica típica, sete dias após a infusão da primeira dose da medicação, sem alteração de marcadores cardíacos ou ECG. Foi feita a hipótese de angina instável, sendo a paciente submetida a cateterismo cardíaco, que não demonstrou grandes alterações em relação ao exame prévio, com lesão aproximada de 70% em terço médio da Artéria Descendente Anterior (ADA). Todavia, foi optado pela equipe assistente a realizar angioplastia de ADA. O segundo paciente, que pertencia ao grupo placebo, apresentou quadro de dor torácica típica, 3 semanas após a randomização, sendo diagnosticado com IAMCSST anterior e submetido à angioplastia de ADA.

Dos 38 pacientes que seguiram no protocolo, todos completaram o protocolo proposto e foram submetidos à infusão de 6 ciclos de LDE-paclitaxel ou placebo.

Figura 9 - Fluxograma da seleção dos indivíduos

4.2 CARACTERÍSTICAS BASAIS DEMOGRÁFICAS, ANTROPOMÉTRICAS, CLÍNICAS, E LABORATORIAIS DA POPULAÇÃO

A média de idade da população randomizada foi de $65,5 \pm 8$ anos, sendo que apenas 8 (21,1%) indivíduos eram do sexo feminino. Os pacientes apresentavam sobrepeso, representado por um IMC médio de $28,8 \pm 3,6$ Kg/m². Em relação a comorbidades, 22 (57,9%) eram diabéticos, porém somente 4 (10,5%) faziam uso de insulina. Em relação ao histórico clínico, 50% dos pacientes apresentaram IAM prévio, sendo que 47,4% foram submetidos à angioplastia e 63,2% da população incluída no estudo apresentava anatomia coronariana triarterial. Na sua maioria, os pacientes encontravam-se em terapia clínica otimizada, o que pode ser observado pelas altas taxas de uso de estatina e AAS, acima de 95% nesses indivíduos. Em relação à sintomatologia, somente 9 (23,7%) apresentavam angina e 12 (31,4%) apresentavam dispneia a randomização.

As demais características clínicas dos dois grupos estão sumarizadas na Tabela 1. Não foi observada nenhuma diferença entre os grupos no que diz respeito às características basais analisadas.

As características laboratoriais dos dois grupos estão sumarizadas na Tabela 2. Não foi observada nenhuma diferença entre os grupos, no que diz respeito aos parâmetros analisados. Podemos destacar, em relação às características basais laboratoriais, o adequado controle dos níveis lipídicos dos pacientes, representado por um colesterol total médio de $138,35$ mg/dL associados a valores de LDL de 73 ± 25 mg/dL.

Tabela 1 - Características basais da população

	Total (n=38)	LDE-paclitaxel (n=19)	Placebo (n=19)	p
Idade (anos)	65,5 ± 8,0	65,4 ± 8,9	64,3 ± 7,1	0,66
Sexo (feminino)	8 (21,1)	2 (10,5)	6 (31,6)	0,23
IMC (kg/m ²)	28,8 ± 3,6	29,1 ± 3,7	28,5 ± 3,6	0,65
Diabetes melittus	22 (57,9)	9 (47,4)	13 (68,4)	0,19
Insulina	4 (10,5)	2 (10,5)	2 (10,5)	1,0
Tabagismo	24 (63,2)	11 (57,9)	13 (68,4)	0,50
HAS	35 (92,1)	17 (89,5)	18 (94,7)	1,0
DRC	7 (18,4)	3 (15,8)	4 (21,1)	1,0
DPOC	2 (5,3)	1 (5,3)	1 (5,3)	1,0
IAM prévio	19 (50,0)	11 (57,9)	8 (42,1)	0,33
Angioplastia prévia	18 (47,4)	10 (52,6)	8 (42,1)	0,52
Medicações em uso				
• Estatina	37 (97,4)	19 (100)	18 (94,7)	1,0
• AAS	37 (97,4)	19 (100)	18 (94,7)	1,0
• IECA	32 (84,2)	17 (89,5)	15 (78,9)	0,66
• Beta-Bloqueadores	29 (76,3)	14 (73,7)	15 (78,9)	1,0
• Clopidogrel	11 (28,9)	5 (26,3)	6 (31,6)	0,72
Tempo seguimento (dias)	176 [147-236]	166 [147-229]	189 [148-236]	0,17
Anatomia coronariana				
• TCE	4 (10,5)	2 (10,5)	2 (10,5)	1,0
• Triarterial	24 (63,2)	13 (68,4)	11 (42,1)	0,50
Dispneia CF 1/2	12 (31,5)	7 (38,6)	5 (26,9)	0,48
Angina CCS 1	9 (23,7)	6 (31,6)	3 (15,8)	0,45

Os valores estão expressos como valor absoluto (porcentagem) , média ± desvio padrão e mediana [mínimo-maximo]. Abreviaturas: IMC - índice de massa corporal; HAS - hipertensão arterial sistêmica; DRC - doença renal crônica (Clearance creatina <60 ml/min pelo CKD-EPI); DPOC - doença pulmonar obstrutiva crônica; IAM - infarto agudo do miocárdio; AAS - ácido acetilsalicílico; IECA - inibidores da enzima conversora de angiotensina; TCE - tronco de coronária esquerda; CF - classe funcional pelo NYHA; CCS - Canadian Cardiovascular Society.

Tabela 2 - Características basais laboratoriais da população

	Total (n=38)	LDE-paclitaxel (n=19)	Placebo (n=19)	p
Colesterol total (mg/dL)	138 ±35	132±42	143±27	0,31
LDL-C (mg/dL)	73±25	69±30	78±19	0,31
HDL-C (mg/dL)	37 [34-50]	38±10	42±10	0,34
Triglicérides (mg/dL)	111 [42-371]	121±72	124±73	0,92
Creatinina (mg/dL)	0,98±0,1	0,97±0,1	0,98±0,2	0,85
Ureia (mg/dL)	38±10	37±10	38±11	0,66
TGO (U/L)	22 [13-65]	25±13	25±9	0,66
TGP (U/L)	32 [15-104]	40±22	34±14	0,31
CPK (U/L)	120 [40-454]	135±61	150±97	0,85
Hemoglobina (g/dL)	14,2±1,4	14,5±1,2	13,8±1,5	0,14
Leucócitos totais (mm³)	7597±1536	7389±1639	7805±1440	0,41
Plaquetas (mm³)	232894±55279	244157±57782	221631±51718	0,21

Os valores estão expressos em média±desvio padrão

4.3 BIOMARCADORES

4.3.1 Comparação da variação do perfil lipídico antes e após intervenção

Conforme sumarizado na Tabela 3, em relação aos níveis séricos de colesterol total e suas frações, não foi observada nenhuma diferença entre os tempos pré e pós-tratamento nos dois grupos.

Tabela 3 - Comparação da variação do perfil lipídico antes e após o tratamento entre os grupos

	LDE-paclitaxel (n=19)			Placebo (n=19)		
	Pré-tratamento	Pós-tratamento	p	Pré-tratamento	Pós-tratamento	p
Colesterol total (mg/dl)	132±42	135±36	0,67	143±27	139±31	0,47
LDL-C (mg/dl)	69±30	72±25	0,66	78±19	75±26	0,65
HDL-C (mg/dl)	38±10	39±10	0,61	42±10	42±10	0,75
Triglicérides (mg/dl)	121±72	121±67	0,98	124±73	107±50	0,27

Os valores estão expressos em média ±desvio padrão

4.3.2 Comparação da variação da função renal, hepática e CPK antes e após intervenção

Em relação aos níveis séricos de creatinina, ureia, transaminases hepáticas e creatinofosfoquinase (CPK), não foi observada nenhuma diferença entre períodos pré e pós-tratamento em ambos os grupos, conforme sumarizado na Tabela 4.

Calculou-se a variação percentual (D%) da transaminase oxalacética (TGO) e da transaminase pirúvica (TGP), subtraindo-se o valor final após tratamento pelo valor inicial, em seguida, dividindo o resultado pelo valor inicial e, por último, multiplicando-se por 100%. Quando avaliamos essa variação percentual, observamos um discreto aumento dos níveis de TGO (+18,8±79,6%) e TGP (+15,5±49,2%) no grupo LDE-paclitaxel. Já no grupo placebo não observamos aumento relativo nos níveis finais de TGO (+0,32±0,10) e TGP (+1,11±16,0%) em relação aos valores iniciais. Todavia, não houve diferença estatística significativa entre os grupos ($p=0,54$ para o delta de TGO e $p=0,32$ para o delta de TGP).

Tabela 4 - Comparação da variação da creatinina, ureia, transaminases hepáticas e CPK antes e após o tratamento entre os grupos

	LDE-paclitaxel (n=19)			Placebo (n=19)		
	Pré-tratamento	Pós-tratamento	p	Pré-tratamento	Pós-tratamento	p
Creatinina (mg/dl)	0,97±0,1	1,02±0,1	0,07	0,98±0,2	1,01±0,2	0,26
Ureia (mg/dl)	37±10	36±11	0,54	38±11	36±11	0,24
TGO (U/L)	25±13	44±88	0,31	25±9	25±11	0,85
TGP (U/L)	40±22	56±65	0,19	34±14	35±13	0,77
CPK (U/L)	135±61	152±75	0,18	150±97	146±106	0,84

Os valores estão expressos em média ±desvio padrão

4.3.3 Comparação da variação do hemograma antes e após intervenção

Em relação aos valores de hemoglobina, leucócitos totais e plaquetas, não foi observada nenhuma diferença entre pré e pós-tratamento nos grupos, conforme sumarizado na Tabela 5.

Tabela 5 - Comparação da variação do hemograma antes e após o tratamento entre os grupos

	LDE-paclitaxel (n=19)			Placebo (n=19)		
	Pré-tratamento	Pós-tratamento	p	Pré-tratamento	Pós-tratamento	p
Hemoglobina (g/dl)	14,6±1,2	14,7±1,1	0,52	13,9±1,6	13,9±1,4	0,91
Leucócitos totais (mm³)	7389±1639	7474±2132	0,81	7805±1440	7591±1833	0,69
Plaquetas (mm³)	244157±57782	242105±61754	0,83	221631±51718	230789±58870	0,82

Os valores estão expressos em média ±desvio padrão.

4.3.4 Comparação da variação dos biomarcadores inflamatórios antes e após tratamento

Em relação aos valores dos biomarcadores inflamatórios, não observamos diferença entre os grupos antes do início do tratamento, conforme sumarizado na Tabela 6. Os níveis basais de PCRus da população foram abaixo de 2 mg/L, com uma mediana de 1,59 mg/L. Apesar disso, podemos observar uma tendência de queda nos valores de PCRus no pós-tratamento em ambos os grupos, sendo esta mais expressiva no grupo paclitaxel, apesar de não ter havido diferença estatística significativa ($p=0,55$) (Figura 10). Em relação aos níveis de IL-6, observamos uma tendência de queda nos valores pós-tratamento apenas no grupo LDE-Paclitaxel (5,31 pg/ml vs 3,47 pg/ml), enquanto houve uma tendência de aumento nos níveis pós-tratamento no grupo placebo (4,33 pg/ml vs 5,31 pg/ml). Todavia, quando comparados entre os grupos, não houve diferença estatística significativa ($p=0,30$) (Figura 11).

Tabela 6 - Comparação da variação dos biomarcadores inflamatórios antes e após o tratamento entre os grupos

	LDE-paclitaxel (n=19)			Placebo (n=19)		
	Pré-tratamento	Pós-tratamento	p	Pré-tratamento	Pós-tratamento	p
PCRus (mg/L)	1,25 (0,57-2,96)	1,12 [0,41-1,59]	0,15	1,79 [0,55-3,35]	1,59 [0,66-3,71]	0,56
IL-6 (pg/mL)	5,31 (1.56-8.56)	3,47 [1.56-7.55]	0,14	4,33 [2.59-13.8]	5,31 [2.05-13.8]	0,89
IL-1β (pg/mL)	0,44 (0,37-0,44)	0,44 [0,37-0,52]	0,19	0,44 [0,37-0,89]	0,44 [0,37-0,70]	0,83

Os valores estão expressos em mediana (intervalo interquartil)

Figura 10 - Comparação da variação da PCRus antes e após o tratamento entre os grupos

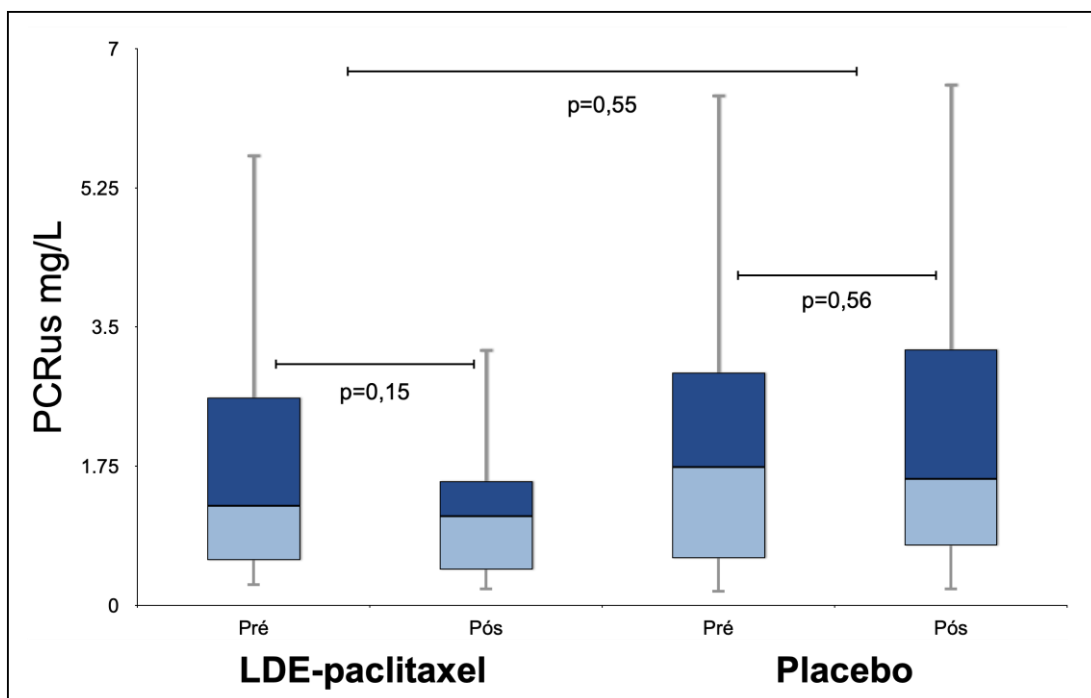
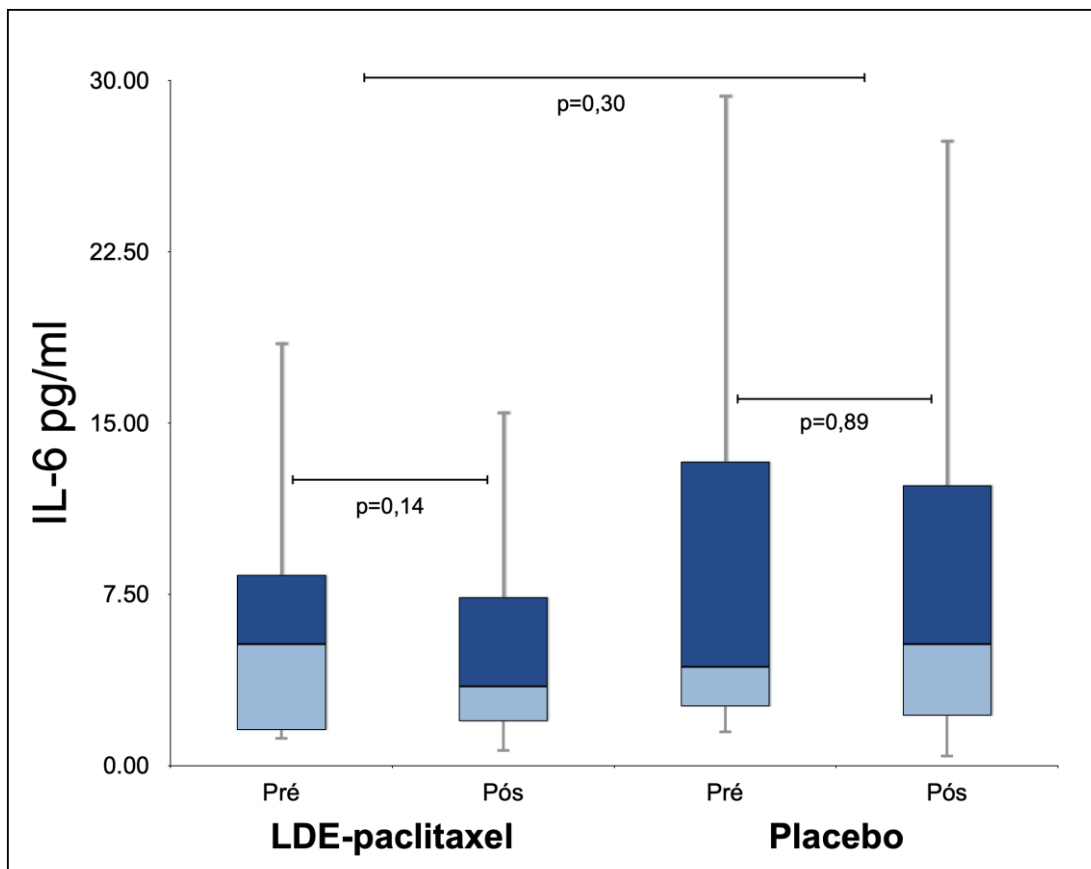


Figura 11 - Comparação da variação da Interleucina-6 antes e após o tratamento entre os grupos



4.3.5 Comparação da variação percentual ($\Delta\%$) dos biomarcadores inflamatórios

Calculou-se a variação percentual ($\Delta\%$) dos biomarcadores inflamatórios, subtraindo-se o valor final após tratamento pelo valor inicial, em seguida, dividindo o resultado pelo valor inicial e, por último, multiplicando-se por 100%, conforme sumarizado na Tabela 7.

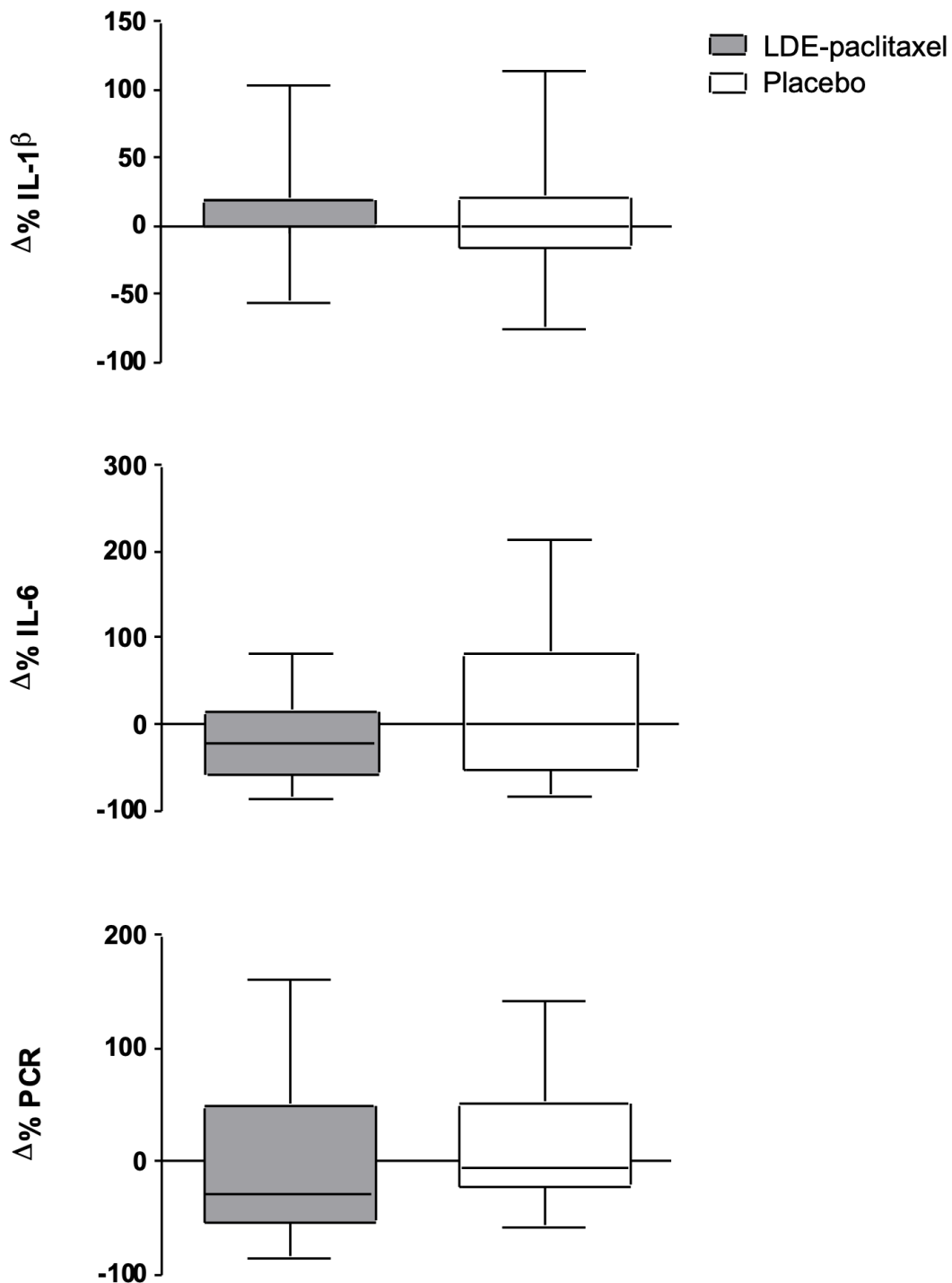
Observamos uma tendência de queda não significativa dos níveis de PCRus e IL-6 no grupo LDE-paclitaxel. Em relação aos níveis de PCRus, observamos uma queda mais acentuada no grupo LDE-paclitaxel (28,1%), quando comparado ao grupo placebo (5,9%). Já em relação aos níveis de IL-6, observamos uma redução de 16,1% no grupo LDE-paclitaxel contra uma estabilidade no grupo placebo. Em relação às variações percentuais dos níveis de IL-1 β , observamos um aumento não significativo no grupo LDE-paclitaxel e uma estabilidade no grupo placebo. (Figura 12)

Tabela 7 - Comparação da variação percentual ($\Delta\%$) dos valores dos biomarcadores inflamatórios

	LDE-paclitaxel (n=19)	Placebo (n=19)	p
PCRus (mg/L)	-28,1(-54,6 - +48,2)	-5,9[-21,8 - +50,0]	0,20
IL-6 (pg/mL)	-16,1[-56,5 - +38,0]	0[-52,7 - +82,8]	0,37
IL-1 β (pg/mL)	+18,2[0 - +18,9]	0[-15,9 - +23,3]	0,37

Os valores estão expressos em mediana [intervalo interquartil]. $\Delta\%$: (final - inicial)x 100% / inicial

Figura 12 - Comparação da variação percentual (delta%) dos níveis de IL-1 β , IL-6 e PCRus



$\Delta\%$: (final - inicial) x 100% / inicial

4.4 ANGIOTOMOGRAFIA DE CORONÁRIAS

4.4.1 Características basais angiotomográficas da população

A Tabela 8 sumariza as características basais de todas as placas ateroscleróticas avaliadas por angiotomografia computadorizada de coronárias. Para a análise qualitativa das placas ateroscleróticas, do total de 38 pacientes, 19 em cada grupo, foram analisadas 246 placas ateroscleróticas, das quais 111 no grupo placebo e 135 no grupo LDE-paclitaxel. Já para avaliação quantitativa do volume das placas ateroscleróticas, dos 38 pacientes, 3 foram excluídos da análise devido a artefactos nas imagens pós-tratamento que não permitiram análise adequada quantitativa das placas. Um total de 35 pacientes foram analisados, sendo 18 no grupo LDE-paclitaxel e 17 no grupo placebo, perfazendo um total de 199 placas, 192 no grupo intervenção e 92 no grupo placebo.

Em relação ao grau de estenose, não houve diferença entre os grupos, sendo observado uma maior prevalência (70%) de placas abaixo de 50% de estenose. Em relação às características qualitativas da placa aterosclerótica associadas a um maior risco cardiovascular, observamos uma prevalência de 24,3% de remodelamento positivo nas lesões analisadas, 27% de microcalcificações e 18,3% de presença do sinal do *napkin ring*, sendo este último achado mais comumente observado no grupo LDE-paclitaxel ($p=0,05$).

Tabela 8 - Características basais angiotomográficas da população

	Total (n=246)	LDE-paclitaxel (n=135)	Placebo (n=111)	p
Estenose				0,07
• 1-24%	77(31,3)	34(25,2)	43(38,7)	
• 25-49%	95(38,6)	52(38,5)	43(38,7)	
• 50-69%	26(10,6)	15(11,1)	11(10)	
• 70-99%	41(16,7)	29(21,5)	12(10,8)	
• oclusão	7(2,8)	5(3,7)	2(1,8)	
Remodelamento positivo	52(21,1)	25(18,5)	27(24,3)	0,34
Microcalcificações (Spotty calcification)	81(32,9)	51(37,8)	30(27,0)	0,10
Sinal de <i>Napkin ring</i>	45(18,3)	31(23,0)	14(12,6)	0,05

Os valores estão expressos como valor absoluto (porcentagem).

4.4.2 Comparação da variação das características da placa aterosclerótica associadas a alto risco cardiovascular antes e após a intervenção

Para as variáveis angiotomográficas que apresentaram como resposta “sim” ou “não”, foi realizada uma análise para verificar a mudança dessas características de alto risco da placa entre o pré e o pós-tratamento entre os dois grupos. Para isso, foi criada uma nova variável com os resultados “NN”, “NS”, “SN” e “SS”, em que a primeira letra corresponde a “sim” ou “não” no período pré-tratamento e a segunda letra corresponde a “sim” ou “não” no período pós-tratamento (Tabela 9).

Tabela 9 – Comparação da variação das características de alto risco na placa aterosclerótica antes e após a intervenção

	LDE-paclitaxel (n=135)	Placebo (n=111)	p
Remodelamento positivo			0,56
• SS	24(17,8)	26(23,4)	
• NN	110(81,5)	84(75,7)	
• SN	1(0,7)	1(0,9)	
• NS	0	0	
Microcalcificações (Spotty calcification)			0,12
• SS	50(37,0)	30(27,0)	
• NN	84(62,2)	81(73,0)	
• SN	1(0,7)	0	
• NS	0	0	
Sinal de <i>Napkin ring</i>			0,10
• SS	26(19,3)	13(17,7)	
• NN	103(76,3)	97(87,4)	
• SN	5(3,7)	1(0,9)	
• NS	1(0,7)	0	

Os valores estão expressos como valor absoluto (porcentagem). Abreviaturas: S- sim N- não, sendo que a primeira letra representa a característica no exame pré-intervenção e a segunda letra, no exame pós.

Podemos observar em relação às características de alto risco da placa aterosclerótica, não foi observado diferença estatística significativa entre os grupos. Todavia, quanto à presença do sinal de *napkin-ring* temos um maior número de lesões divergentes, ou seja, que apresentavam essa característica no pré-tratamento e ela não foi observada no pós-tratamento, no grupo LDE-paclitaxel (3,7%) em relação ao placebo (0,9%), porém sem significado estatístico ($p=0,10$).

4.4.3 Comparação da variação do volume da placa aterosclerótica antes e após a intervenção

Foram analisados um total de 35 pacientes, com 18 no grupo LDE-paclitaxel e 17 no grupo placebo. No total, foram analisadas 199 placas, sendo 107 no grupo LDE-paclitaxel e 92 no grupo placebo. Em relação a variáveis quantitativas relacionadas à placa aterosclerótica, não observamos diferença entre os grupos antes e após intervenção em relação à mediana do volume de placa de baixa atenuação, do volume de placa fibrogordurosa, do volume de placa fibrocalcificada, do volume de placa calcificada e do volume total de placa (Tabelas 10-11).

Tabela 10 - Comparação da mediana do volume das placas ateroscleróticas antes e após o tratamento entre os grupos

	Pré tratamento		p	Pós-tratamento		p
	Placebo (n=92)	LDE- paclitaxel (n=107)		Placebo (n=92)	LDE- paclitaxel (n=107)	
UH1 (mm³)	39,6 (29,4-57,4)	39,7 (32,7-58,1)	0,96	40,0 (29,8-57,1)	39,0 (27,5-54,5)	0,52
UH2 (mm³)	93,1 (73,7-108,9)	86,4 (56,5-132,4)	0,73	85,6 (74,0-122,0)	81,2 (60,5-121,6)	0,54
UH3 (mm³)	57,3 (41,7-63,2)	54,1 (31,0-75,3)	0,93	54,9 (39,8-67,1)	53,3 (31,1-79,4)	0,87
UH4 (mm³)	17,2 (7,8-25,2)	12,4 (6,2-21,3)	0,70	11,7 (7,4-25,8)	12,3 (6,4-24,8)	1,00
Volume total (mm³)	206,9 (170,0-252,8)	189,6 (142,5-267,1)	0,71	196,9 (175,7-325,0)	186,7 (137,1-264,1)	0,52

Os valores estão expressos em mediana (intervalo interquartil). Abreviaturas: UH1- volume de placa de baixa atenuação (<30 UH), UH2- volume de placa fibrogordurosa (30-150UH), UH3 – volume de placa fibrocalcificada (151-350UH), UH4- volume de placa calcificada (>350UH).

Tabela 11 - Comparação da variação da mediana do volume de placa aterosclerótica antes e após o tratamento em cada grupo

	LDE-paclitaxel (n=18)		p	Placebo (n=17)		p
	Pré- tratamento	Pós- tratamento		Pré- tratamento	Pós- tratamento	
UH1 (mm³)	39,7 (32,7-58,1)	39,0 (27,5-54,5)	0,37	39,6 [29,4-57,4]	40,0 (29,8-57,1)	0,82
UH2 (mm³)	86,4 (56,5-132,4)	81,2 (60,5-121,6)	0,35	93,1 (73,7-108,9)	85,6 (74,0-122,0)	0,85
UH3 (mm³)	54,1 (31,0-75,3)	53,3 (31,1-79,4)	0,28	57,3 (41,7-63,2)	54,9 (39,8-67,1)	0,11
UH4 (mm³)	12,4 (6,2-21,3)	12,3 (6,4-24,8)	0,14	17,2 (7,8-25,2)	11,7 (7,4-25,8)	0,23
Volume total (mm³)	189,6 (142,5-267,1)	186,7 (137,1-264,1)	0,77	206,9 (170,0-252,8)	196,9 (175,7-325,0)	0,40

Os valores estão expressos em mediana (intervalo interquartil). Abreviaturas: UH1- volume de placa de baixa atenuação (<30 UH), UH2- volume de placa fibrogordurosa (30-150UH), UH3 – volume de placa fibrocalcificada (151-350UH), UH4- volume de placa calcificada (>350UH).

4.5 DESFECHOS DE SEGURANÇA

Não foi observado nenhum efeito adverso grave, tanto clínico como laboratorial em ambos os grupos. A Tabela 12 sumariza a incidência de efeitos adversos clínicos reportados pelos pacientes.

Quando analisamos os desfechos laboratoriais de segurança mensurados a cada 3 semanas durante o tratamento, não foi observado diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação aos níveis de ureia, creatinina, TGO, TGP, hemoglobina, leucócitos totais e plaquetas, conforme observado nas Figuras 13 -19.

Tabela 12 - Comparação da incidência de efeitos adversos clínicos entre os grupos

	LDE-paclitaxel (n=19)	Placebo (n=19)	p
Alopécia	1(5,3)	0	0,31
Artralgia	2(10,5)	5(26,3)	0,21
Dermatite	2(10,5)	2(10,5)	1,0
Diarreia	5(26,3)	2(10,5)	0,21
Dispneia	4(21,1)	3(15,8)	0,68
Dor local	1(5,3)	1(5,3)	1,0
Fadiga	1(5,3)	3(15,8)	0,29
Febre	1(5,3)	5(26,3)	0,08
Infecções	1(5,3)	1(5,3)	1,0
Mialgia	0	0	-
Mucosite	2(10,5)	5(26,3)	0,21
Náusea	2(10,5)	2(10,5)	1,0
Neurotoxicidade	3(15,8)	4(21,1)	0,68
Prurido	3(15,8)	2(10,5)	0,63

Os valores estão expressos como valor absoluto (porcentagem)

Figura 13 - Variação dos níveis médios (IC 95%) de Ureia durante o seguimento entre os grupos

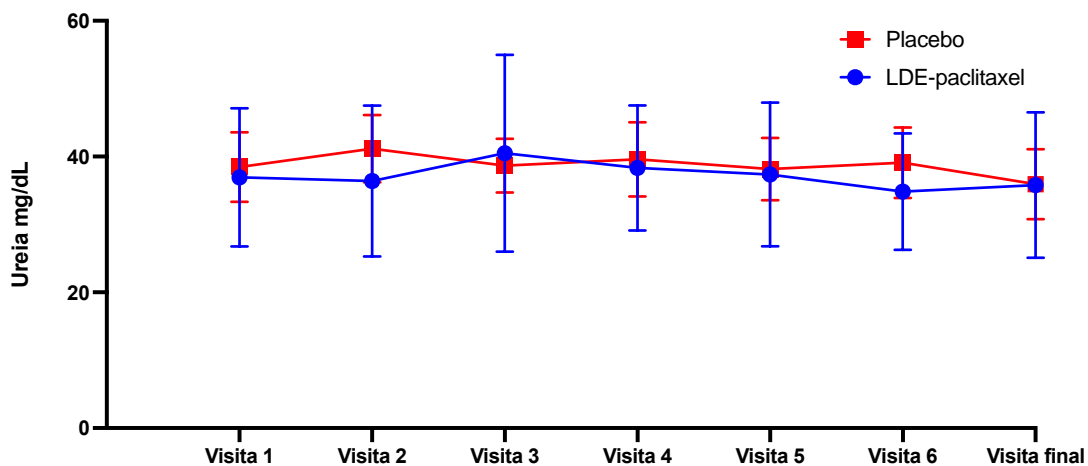


Figura 14 – Variação dos níveis de Creatinina (IC 95%) durante o seguimento entre os grupos

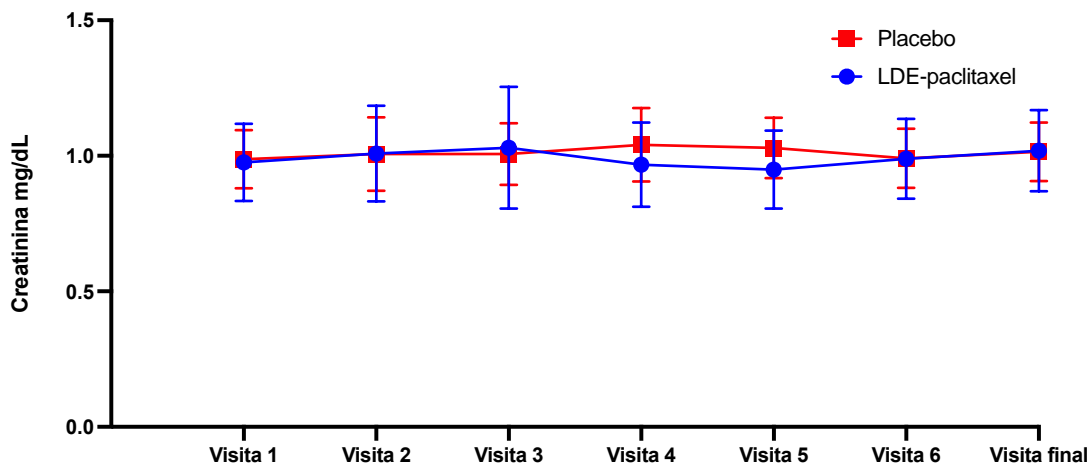


Figura 15 – Variação dos níveis de TGO (IC 95%) durante o seguimento entre os grupos

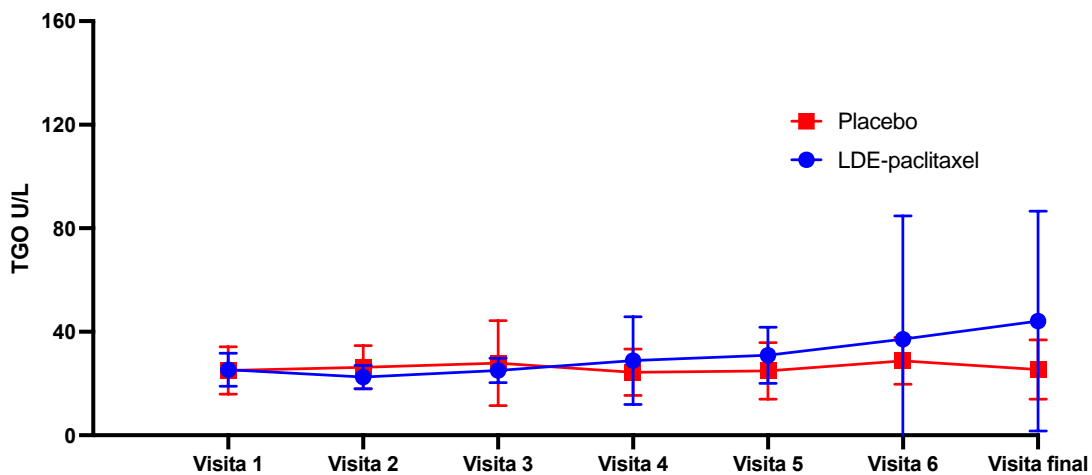


Figura 16 - Variação dos níveis de TGP (IC 95%) durante o seguimento entre os grupos

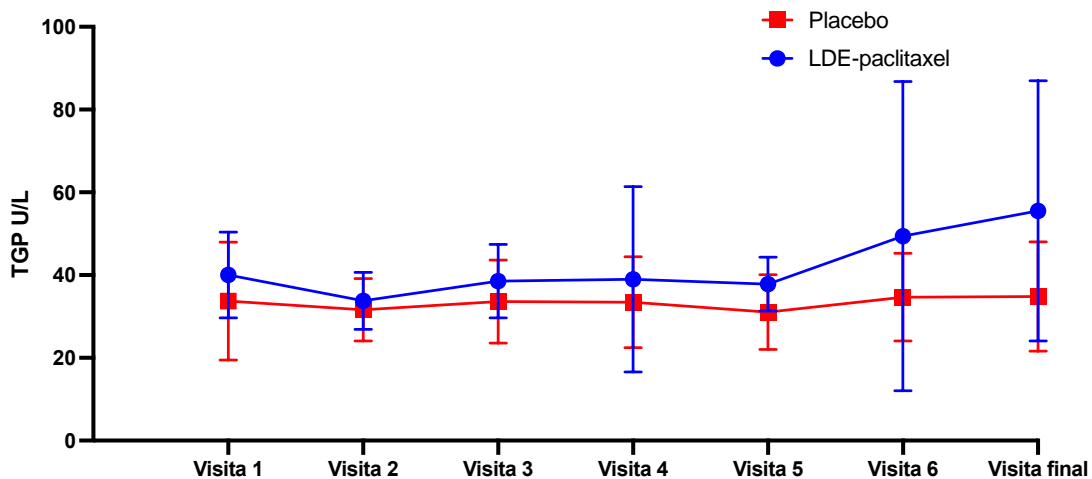


Figura 17 - Variação dos níveis de Hemoglobina (Hb) (IC 95%) durante o seguimento entre os grupos

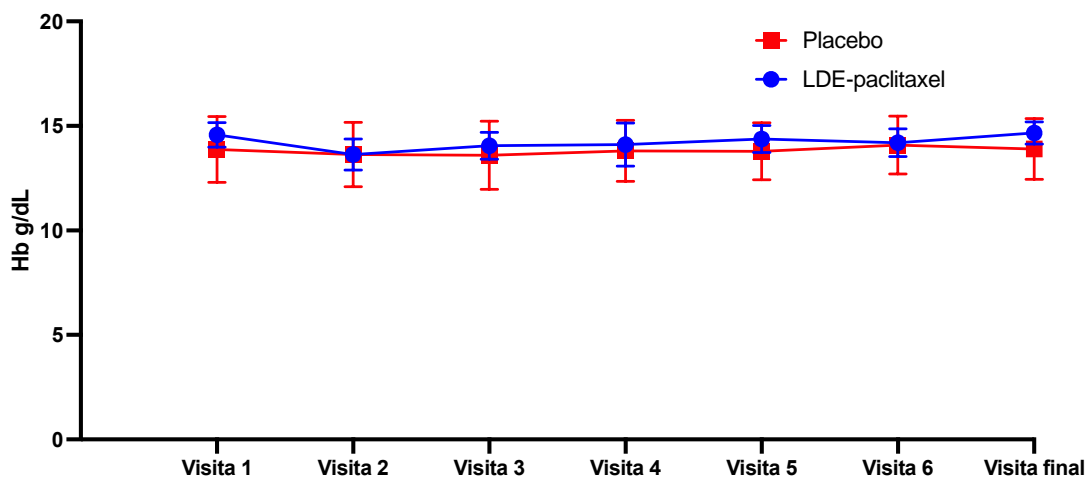


Figura 18 - Variação dos Leucócitos totais (IC 95%) durante o seguimento entre os grupos

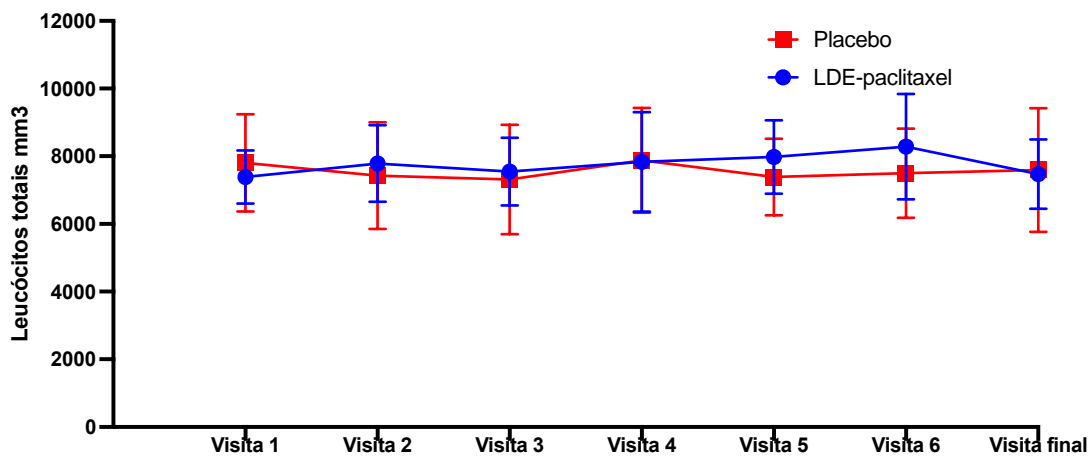
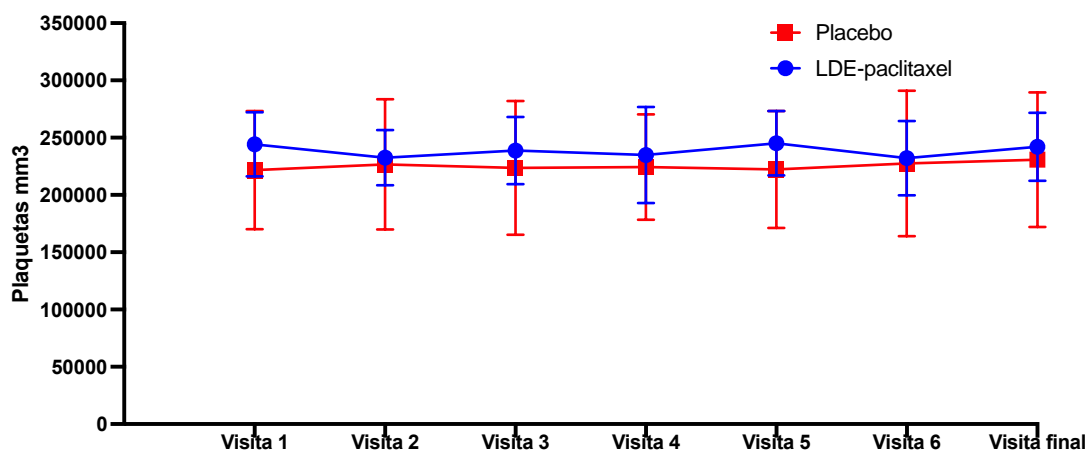


Figura 19 - Variação dos níveis de Plaquetas (IC 95%) durante o seguimento entre os grupos



5 Discussão

5 DISCUSSÃO

Este pioneiro ensaio clínico foi o primeiro estudo randomizado controlado por placebo com o intuito de avaliar a segurança e o efeito da nanoemulsão lipídica (LDE) associada ao paclitaxel na progressão da doença aterosclerótica coronariana e nos biomarcadores inflamatórios em indivíduos com DAC estabelecida e tratamento clínico otimizado. O uso da formulação LDE-paclitaxel mostrou-se seguro do ponto de vista clínico e laboratorial, além de ter evidenciado uma tendência de redução, apesar de não significativa estatisticamente, nos níveis de IL-6 e PCRus após 6 meses de seguimento.

Em relação aos biomarcadores inflamatórios, estas foram análises secundárias pré-especificadas, sendo que nosso estudo não possui poder estatístico para detectar uma variação significativa desses biomarcadores. Não obstante, tratando-se de estudo piloto, alguns achados despertam a atenção. O níveis finais de IL-6 no grupo tratado com LDE-paclitaxel foram 16% menores em relação aos valores basais, já no grupo placebo não foi observado nenhuma variação nesse biomarcador. Sabe-se que a IL-6 tem papel fundamental na fisiopatologia da doença aterosclerótica ⁽⁹¹⁾, sendo que a cada aumento de 1 desvio padrão dos níveis basais de IL-6 o risco de IAM ou morte cardiovascular aumenta em 25% ⁽⁹²⁾. Além disso, a magnitude de efeito da IL-6 no risco de eventos cardiovasculares parece ser superior a outros biomarcadores como IL-1 β , IL-18 e mesmo PCRus ^(23, 92, 93). Estudo clínico em pacientes de muito alto risco cardiovascular, avaliando o benefício da inibição dessa via com Ziltivekumabe, um inibidor direto da IL-6, está em andamento ⁽⁹⁴⁾. O efeito da formulação LDE-paclitaxel na redução dos níveis de IL-6, mesmo que não significativo em nosso estudo, desperta um interesse em relação a um possível efeito dessa formulação na modulação dessa importante via da aterogênese.

Os níveis de PCRus também reduziram-se de forma mais pronunciada no grupo LDE-paclitaxel em relação ao placebo (-28,1% vs -5,9%), apesar da ausência de significância estatística. O PCRus é um dos biomarcadores mais estudados na cardiologia. Sabe-se que este age na cascata infamatória, a jusante da IL-6, sendo que a IL-6 é de fundamental importância na sua expressão e função ^(95, 96). Entretanto, apesar da associação dos níveis elevados de PCRus com um maior risco de eventos cardiovasculares, inclusive sendo recomendado por diretrizes atuais para estratificação do risco cardiovascular ⁽⁹⁷⁾, ele não tem função de mediador direto do processo aterosclerótico, tendo mais uma função de biomarcador desse processo, sem efeito direto na aterogênese ^(98, 99).

Em relação a outro biomarcador inflamatório envolvido na via do inflamossomo NLRP3, a IL-1 β mostrou um comportamento não esperado após a intervenção. Observamos uma estabilidade da mediana dos valores pré e pós em ambos os grupos, porém, um aumento do delta em relação aos valores pré-intervenção no grupo LDE-paclitaxel (+18,2%) contra uma estabilidade no grupo placebo. Esse padrão, diferentemente do esperado, pode ser explicado pela grande variabilidade e valores muito baixos da IL-1 β . Sabe-se que os níveis de IL-1 β estão associados diretamente a um maior risco cardiovascular e seu bloqueio através do Canakinumabe reduziu em até 18% o risco de eventos cardiovasculares maiores ⁽⁴⁸⁾. Todavia, a maioria dos estudos epidemiológicos que associam níveis de IL-1 β com um maior risco cardiovascular são provenientes de observações dos níveis do receptor de IL-1 β , que apresenta níveis mais estáveis e menos erráticos que a IL-1 β isolada ⁽¹⁰⁰⁾.

Em relação à análise qualitativa da placa aterosclerótica, não observamos variação significativa nas características da placa relacionada a alto risco cardiovascular entre os grupos após a intervenção. Durante o seguimento, mais de 95% das placas não se modificaram quanto à presença ou ausência do sinais de *napkin ring*, remodelamento positivo ou presença de microcalcificações em relação ao início do estudo. Adicionalmente, observamos que aproximadamente 70% das lesões analisadas apresentavam

grau de estenose inferior a 50%. Sabemos que a alteração dinâmica das características da placa aterosclerótica para um perfil de mais alto risco, está associada a uma com maior taxa de eventos, sendo esse padrão inicialmente observado com estudos com IVUS em pacientes com lesões severas ⁽¹⁰¹⁾. Mais recentemente, subanálise do estudo PARADIGM, onde foram incluídas apenas lesões moderadas entre 25-50% de estenose, mostrou que durante um seguimento médio de 3,5 anos, os indivíduos em uso de estatinas apresentaram uma maior taxa de desaparecimento das características de alto risco da placa comparado ao grupo sem estatina ⁽¹⁰²⁾. Quando comparado ao nosso estudo, o tempo de seguimento dos pacientes e intervalo entre as tomografias foi aproximadamente seis vezes mais longo nessa subanálise. Não obstante, até o momento, o efeito de terapias imomoduladoras na modificação dessas características de placa de alto risco ainda é incerto, mesmo em pacientes com lesões obstrutivas importantes.

Em relação à análise dos dados tomográficos quantitativos, os volumes de placa de baixa atenuação (<30 UH) mantiveram-se praticamente estáveis comparado ao valores basais em ambos os grupos. Sabe-se que esta região de menor radiodensidade da placa aterosclerótica geralmente corresponde ao seu núcleo lipídico e sua presença está associada a um risco até 23 vezes maior de IAM quando comparado a pacientes sem essas características ⁽⁷⁶⁾. Em pacientes com DAC estável, a carga da placa de baixa atenuação está associada a um maior risco de IAM, sendo que quando esse volume corresponde a mais de 4% do volume total do vaso, o risco de IAM aumenta em aproximadamente 5 vezes ⁽⁷⁸⁾.

Em relação ao volume de placa fibrogordurosa (31-150UH), observamos uma queda inferior a 10% em ambos os grupos quando comparados aos valores basais, porém sem atingir significância estatística. Assim como o volume de baixa atenuação, as placas não calcificadas fibrogordurosas também representam um espectro de placas associados a um maior risco de síndrome coronariana aguda ⁽¹⁰³⁾. Sabe-se que durante a aterogênese, a medida que as placas se tornam mais calcificadas, elas se tornam mais estáveis, geralmente por apresentarem menor núcleo lipídico e

uma capa fibrótica mais espessa, fator estes associados a um menor risco de IAM ^(104, 105). Em relação ao volume de placa fibrótica (151-350UH), observamos uma tendência de estabilidade nos dois grupos, sem variações significativas no pré e pós-tratamento.

A associação da presença de placas não calcificadas (≤ 350 UH) com um maior risco cardiovascular já é algo bem estabelecido. A regressão e atenuação da progressão das placas não calcificadas já foram demonstradas em estudos com fármacos hipolipemiantes ^(106, 107). Todavia, o mesmo achado de regressão da doença aterosclerótica com terapias imunomoduladoras ainda é escasso. Estudo piloto com Canakinumabe, em pacientes com doença arterial periférica, não evidenciou redução do volume das placas nas artérias femorais superficiais após 12 meses de tratamento, mensuradas por ressonância magnética ⁽¹⁰⁸⁾. Sabe-se que os leucotrienos também tem importante função na resposta inflamatória. Estudo com o inibidor de 5-lipooxigenase (Atreleuton, VIA-2291), que sabidamente reduz a produção dos leucotrienos, mostrou que, pacientes em uso da medicação pós-síndrome coronariana aguda apresentaram uma redução significativa na progressão do volume de placa não calcificada comparado com o grupo placebo em 6 meses de seguimento ⁽¹⁰⁹⁾. Mais recentemente, estudo observacional não randomizado com colchicina em dose 0,5 mg/dia mostrou um redução do volume de placa de baixa atenuação de 41% no grupo intervenção comparado com redução de apenas 17% no grupo controle, sendo que esta diferença entre os grupos manteve-se significativamente estatística, mesmo após ajuste para os principais fatores de risco cardiovascular ⁽⁵²⁾.

Assim como a colchicina, o paclitaxel também atua no nível de microtúbulos; todavia não observamos redução do volume de placa de baixa atenuação, o que pode ser justificado por algumas limitações do nosso estudo. Em primeiro lugar, o tempo de seguimento dos pacientes foi de aproximadamente 6 meses, enquanto no estudo com a colchicina foi de 12 meses. Em segundo lugar, apesar da similaridade das médias do volume de baixa atenuação no nosso estudo, comparando ao estudo com a colchicina (45,1 mm³ vs 39,0 mm³), o desvio padrão da nossa amostra foi duas vezes

maior (24,6 mm³ vs 10,9 mm³)⁽⁵²⁾. Esses mesmos achados também foram observados em relação à média do volume total de placa. Assim sendo, o poder estatístico do nosso estudo foi drasticamente afetado para avaliação da diferença entre o volume de placa não calcificada entre os grupos.

Em relação ao volume de placa densamente calcificado (>350UH), também observamos uma estabilidade no grupo LDE-paclitaxel e uma redução em torno de 45% no grupo placebo, porém sem significância estatística. Achado este, de redução de volume de placa, densamente calcificado não esperado, podendo ser justificado pela grande variação do método. Sabe-se que durante a progressão da placa aterosclerótica, principalmente no processo de cicatrização da placa, sua composição se modifica, com uma tendência de aumento do volume do componente calcificado da placa. Estudos recentes apontam que pacientes com maior carga aterosclerótica, que apresentam placas mais densamente calcificadas (>1000UH) apresentam menor risco de IAM comparado aos pacientes com menor carga de placa⁽¹¹⁰⁾. Não obstante, sabemos que a terapia com estatinas apesar de reduzir a progressão do volume total da placa, está associada a um aumento significativo do volume de placa calcificada⁽¹¹¹⁾, o que reforça o conceito de estabilização das placas pelas estatinas através do aumento do componente calcificado da placa.

Já em relação ao volume total de placa, não observamos variações significativas entre os grupos no pré e pós-tratamento, com uma redução nos valores finais inferior a 5% em ambos os grupos. Sabe-se que a cada 1% de redução no volume total de placa avaliado por IVUS, observa-se uma redução de até 25% na incidência de eventos adversos cardiovasculares maiores⁽¹¹²⁾.

Em relação aos desfechos de segurança, observamos a ausência de efeitos adversos clínicos ou laboratoriais importantes no grupo intervenção, o que reforça a segurança do uso da nanoemulsão associada ao paclitaxel em um cenário também de pacientes não oncológicos, como também já observado em estudo não randomizado observacional com apenas 8 pacientes com ateromatose aórtica⁽⁵⁶⁾. O desenvolvimento de novas

formulações utilizando nanotecnologia já é uma realidade na oncologia ⁽¹¹³⁾. No entanto, o mecanismo exato pelo qual essas nanopartículas associadas a drogas imunomoduladoras apresentam uma menor incidência de eventos adversos não é completamente compreendido. Acredita-se que as nanopartículas lipídicas (LDE) concentram-se em locais com maior expressão do receptor de LDL, como as células cancerígenas e a placa aterosclerótica, poupando demais tecidos e órgãos ^(7, 58). Assim como em estudos em modelos animais e ensaios clínicos em oncologia, também observamos a segurança da formulação LDE-Paclitaxel em pacientes com doença cardiovascular estabelecida.

Em resumo, observamos que a formulação LDE-paclitaxel mostrou-se segura e apresentou uma redução mesmo que não significativa sobre os biomarcadores inflamatórios no grupo intervenção. Não obstante, trata-se de um estudo piloto, sem poder estatístico para mostrar diferença significativa nos níveis dos biomarcadores inflamatórios. Esses achados associados ao perfil de segurança da formulação suportam futuros ensaios clínicos com um maior número de pacientes, a fim de avaliar a eficácia da LDE-paclitaxel na modulação da resposta inflamatória em pacientes com DAC estabelecida e terapia clínica otimizada.

6 Conclusão

6 CONCLUSÃO

Em estudo piloto, a formulação LDE-paclitaxel, administrada a cada 21 dias por 6 ciclos, mostrou-se segura em pacientes com DAC e terapia clínica otimizada, além de ter evidenciado uma tendência estatisticamente não significativa de redução nos níveis de IL-6 e PCRus após 6 meses de seguimento. Esses achados suportam novos estudos clínicos para avaliar o efeito da formulação LDE-paclitaxel na modulação da resposta inflamatória na aterosclerose.

7 Referências

7 REFERÊNCIAS *

1. Collaborators GBDCoD. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018;392(10159):1736-88.
2. Roth GA, Johnson C, Abajobir A, Abd-Allah F, Abera SF, Abyu G, Ahmed M, Aksut B, Alam T, Alam K, Alla F, Alvis-Guzman N, Amrock S, Ansari H, Arnlov J, Asayesh H, Atey TM, Avila-Burgos L, Awasthi A, Banerjee A, Barac A, Barnighausen T, Barregard L, Bedi N, Belay Ketema E, Bennett D, Berhe G, Bhutta Z, Bitew S, Carapetis J, Carrero JJ, Malta DC, Castaneda-Orjuela CA, Castillo-Rivas J, Catala-Lopez F, Choi JY, Christensen H, Cirillo M, Cooper L, Jr., Criqui M, Cundiff D, Damasceno A, Dandona L, Dandona R, Davletov K, Dharmaratne S, Dorairaj P, Dubey M, Ehrenkranz R, El Sayed Zaki M, Faraon EJA, Esteghamati A, Farid T, Farvid M, Feigin V, Ding EL, Fowkes G, Gebrehiwot T, Gillum R, Gold A, Gona P, Gupta R, Habtewold TD, Hafezi-Nejad N, Hailu T, Hailu GB, Hankey G, Hassen HY, Abate KH, Havmoeller R, Hay SI, Horino M, Hotez PJ, Jacobsen K, James S, Javanbakht M, Jeemon P, John D, Jonas J, Kalkonde Y, Karimkhani C, Kasaeian A, Khader Y, Khan A, Khang YH, Khera S, Khoja AT, Khubchandani J, Kim D, Kolte D, Kosen S, Krohn KJ, Kumar GA, Kwan GF, Lal DK, Larsson A, Linn S, Lopez A, Lotufo PA, El Razek HMA, Malekzadeh R, Mazidi M, Meier T, Meles KG, Mensah G, Meretoja A, Mezgebe H, Miller T, Mirrakhimov E, Mohammed S, Moran AE, Musa KI, Narula J, Neal B, Ngalesoni F, Nguyen G, Obermeyer CM, Owolabi M, Patton G, Pedro J, Qato D, Qorbani M, Rahimi K, Rai RK, Rawaf S, Ribeiro A, Safiri S, Salomon JA, Santos I, Santric Milicevic M, Sartorius B, Schutte A, Sepanlou S, Shaikh MA, Shin MJ, Shishehbor M,

* De acordo com o Estilo Vancouver.

Shore H, Silva DAS, Sobngwi E, Stranges S, Swaminathan S, Tabares-Seisdedos R, Tadele Atnafu N, Tesfay F, Thakur JS, Thrift A, Topor-Madry R, Truelsen T, Tyrovolas S, Ukwaja KN, Uthman O, Vasankari T, Vlassov V, Vollset SE, Wakayo T, Watkins D, Weintraub R, Werdecker A, Westerman R, Wiysonge CS, Wolfe C, Workicho A, Xu G, Yano Y, Yip P, Yonemoto N, Younis M, Yu C, Vos T, Naghavi M, Murray C. Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70(1):1-25.

3. Malta DC, Teixeira R, Oliveira GMM, Ribeiro ALP. Cardiovascular disease mortality according to the Brazilian Information System on mortality and the global burden of disease study estimates in Brazil, 2000-2017. *Arq Bras Cardiol.* 2020;115(2):152-60.

4. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature.* 2011;473(7347):317-25.

5. Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol.* 2006;6(7):508-19.

6. Bertrand MJ, Tardif JC. Inflammation and beyond: new directions and emerging drugs for treating atherosclerosis. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2017;22(1):1-26.

7. Maranhao RC, Vital CG, Tavoni TM, Graziani SR. Clinical experience with drug delivery systems as tools to decrease the toxicity of anticancer chemotherapeutic agents. *Expert Opin Drug Deliv.* 2017;14(10):1217-26.

8. Maranhao RC, Tavares ER. Advances in non-invasive drug delivery for atherosclerotic heart disease. *Expert Opin Drug Deliv.* 2015;12(7):1135-47.

9. Lawler PR, Bhatt DL, Godoy LC, Luscher TF, Bonow RO, Verma S, Ridker PM. Targeting cardiovascular inflammation: next steps in clinical translation. *Eur Heart J*. 2021;42(1):113-31.
10. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, McCagg A, White JA, Theroux P, Darius H, Lewis BS, Ophuis TO, Jukema JW, De Ferrari GM, Ruzyllo W, De Lucca P, Im K, Bohula EA, Reist C, Wiviott SD, Tershakovec AM, Musliner TA, Braunwald E, Califf RM, Investigators I-I. Ezetimibe added to statin therapy after acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2015;372(25):2387-97.
11. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, Kuder JF, Wang H, Liu T, Wasserman SM, Sever PS, Pedersen TR, Committee FS, Investigators. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2017;376(18):1713-22.
12. Eikelboom JW, Connolly SJ, Bosch J, Dagenais GR, Hart RG, Shestakovska O, Diaz R, Alings M, Lonn EM, Anand SS, Widimsky P, Hori M, Avezum A, Piegas LS, Branch KRH, Probstfield J, Bhatt DL, Zhu J, Liang Y, Maggioni AP, Lopez-Jaramillo P, O'Donnell M, Kakkar AK, Fox KAA, Parkhomenko AN, Ertl G, Stork S, Keltai M, Ryden L, Pogossova N, Dans AL, Lanan F, Commerford PJ, Torp-Pedersen C, Guzik TJ, Verhamme PB, Vinereanu D, Kim JH, Tonkin AM, Lewis BS, Felix C, Yusuf S, Steg PG, Metsarinne KP, Cook Bruns N, Misselwitz F, Chen E, Leong D, Yusuf S, Investigators C. Rivaroxaban with or without aspirin in stable cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2017;377(14):1319-30.
13. Steg PG, Bhatt DL, Simon T, Fox K, Mehta SR, Harrington RA, Held C, Andersson M, Himmelmann A, Ridderstrale W, Leonsson-Zachrisson M, Liu Y, Opolski G, Zateyshchikov D, Ge J, Nicolau JC, Corbalan R, Cornel JH, Widimsky P, Leiter LA, Committee TS, Investigators. Ticagrelor in patients with stable coronary disease and diabetes. *N Engl J Med*. 2019;381(14):1309-20.

14. Tselepis AD. Treatment of Lp(a): Is it the future or are we ready today? *Curr Atheroscler Rep.* 2023.
15. Marso SP, Bain SC, Consoli A, Eliaschewitz FG, Jodar E, Leiter LA, Lingvay I, Rosenstock J, Seufert J, Warren ML, Woo V, Hansen O, Holst AG, Pettersson J, Vilsboll T, Investigators S-. Semaglutide and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2016;375(19):1834-44.
16. Jastreboff AM, Aronne LJ, Ahmad NN, Wharton S, Connery L, Alves B, Kiyosue A, Zhang S, Liu B, Bunck MC, Stefanski A, Investigators S-. Tirzepatide once weekly for the treatment of obesity. *N Engl J Med.* 2022;387(3):205-16.
17. Johnson B. Weight-loss drug lowers cardiovascular disease risk in new trial of Novo Nordisk's Wegovy. *Nat Med.* 2023;29(10):2381-2.
18. Ridker PM. Residual inflammatory risk: addressing the obverse side of the atherosclerosis prevention coin. *Eur Heart J.* 2016;37(22):1720-2.
19. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med.* 1997;336(14):973-9.
20. Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation.* 2000;101(15):1767-72.
21. Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe CH, Pfeffer MA, Braunwald E, Pravastatin or Atorvastatin E, infection therapy-thrombolysis in myocardial infarction I. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med.* 2005;352(1):20-8.

22. Ridker PM, MacFadyen JG, Thuren T, Libby P. Residual inflammatory risk associated with interleukin-18 and interleukin-6 after successful interleukin-1beta inhibition with canakinumab: further rationale for the development of targeted anti-cytokine therapies for the treatment of atherothrombosis. *Eur Heart J*. 2020;41(23):2153-63.
23. Marinho L, Aday AW, Cook NR, Morrison AR, Narula N, Narula J, Bartoli-Leonard F, Aikawa E, Beach JM, Ridker PM, Pradhan AD. Abstract 140: Plasma interleukin-6 levels and cardiovascular events In The Cirt Trial: consistent associations for incident coronary, cerebrovascular, and peripheral artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2022;42(Suppl_1):A140-A.
24. Ridker PM, Bhatt DL, Pradhan AD, Glynn RJ, MacFadyen JG, Nissen SE, Prominent R-I, Investigators S. Inflammation and cholesterol as predictors of cardiovascular events among patients receiving statin therapy: a collaborative analysis of three randomised trials. *Lancet*. 2023;401(10384):1293-301.
25. Ridker PM. Clinician's Guide to reducing inflammation to reduce atherothrombotic risk: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(25):3320-31.
26. Ridker PM. How common is residual inflammatory risk? *Circ Res*. 2017;120(4):617-9.
27. Pradhan AD, Aday AW, Rose LM, Ridker PM. Residual inflammatory risk on treatment with PCSK9 inhibition and statin therapy. *Circulation*. 2018;138(2):141-9.
28. Kleemann R, Zadelaar S, Kooistra T. Cytokines and atherosclerosis: a comprehensive review of studies in mice. *Cardiovasc Res*. 2008;79(3):360-76.

29. Libby P, Bonow R, Mann D, Tomaselli G, Bhatt D, Solomon S. Braunwald's heart disease : a textbook of cardiovascular medicine. 12. ed. Philadelphia: Elsevier; 2021. volumes cm p.
30. Libby P. The changing landscape of atherosclerosis. *Nature*. 2021;592(7855):524-33.
31. Ait-Oufella H, Taleb S, Mallat Z, Tedgui A. Recent advances on the role of cytokines in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(5):969-79.
32. Kirii H, Niwa T, Yamada Y, Wada H, Saito K, Iwakura Y, Asano M, Moriwaki H, Seishima M. Lack of interleukin-1beta decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(4):656-60.
33. Huber SA, Sakkinen P, Conze D, Hardin N, Tracy R. Interleukin-6 exacerbates early atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(10):2364-7.
34. Branen L, Hovgaard L, Nitulescu M, Bengtsson E, Nilsson J, Jovinge S. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha reduces atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(11):2137-42.
35. Mallat Z, Besnard S, Duriez M, Deleuze V, Emmanuel F, Bureau MF, Soubrier F, Esposito B, Duez H, Fievet C, Staels B, Duverger N, Scherman D, Tedgui A. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ Res*. 1999;85(8):e17-24.
36. Caligiuri G, Rudling M, Ollivier V, Jacob MP, Michel JB, Hansson GK, Nicoletti A. Interleukin-10 deficiency increases atherosclerosis, thrombosis,

and low-density lipoproteins in apolipoprotein E knockout mice. *Mol Med.* 2003;9(1-2):10-7.

37. Micha R, Imamura F, Wyler von Ballmoos M, Solomon DH, Hernan MA, Ridker PM, Mozaffarian D. Systematic review and meta-analysis of methotrexate use and risk of cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* 2011;108(9):1362-70.

38. Roldan CA, Joson J, Sharrar J, Qualls CR, Sibbitt WL, Jr. Premature aortic atherosclerosis in systemic lupus erythematosus: a controlled transesophageal echocardiographic study. *J Rheumatol.* 2010;37(1):71-8.

39. Lertratanakul A, Sun J, Wu PW, Lee J, Dyer A, Pearce W, McPherson D, Sutton-Tyrrell K, Thompson T, Barinas-Mitchell E, Ramsey-Goldman R. Risk factors for changes in carotid intima media thickness and plaque over 5 years in women with systemic lupus erythematosus. *Lupus Sci Med.* 2021;8(1):E000548.

40. Ahlehoff O, Skov L, Gislason G, Lindhardsen J, Kristensen SL, Iversen L, Lasthein S, Gniadecki R, Dam TN, Torp-Pedersen C, Hansen PR. Cardiovascular disease event rates in patients with severe psoriasis treated with systemic anti-inflammatory drugs: a Danish real-world cohort study. *J Intern Med.* 2013;273(2):197-204.

41. Kirchgessner J, Nyboe Andersen N, Carrat F, Jess T, Beaugerie L, group Bs. Risk of acute arterial events associated with treatment of inflammatory bowel diseases: nationwide French cohort study. *Gut.* 2020;69(5):852-8.

42. Solomon DH, Karlson EW, Rimm EB, Cannuscio CC, Mandl LA, Manson JE, Stampfer MJ, Curhan GC. Cardiovascular morbidity and mortality in women diagnosed with rheumatoid arthritis. *Circulation.* 2003;107(9):1303-7.

43. Garshick MS, Ward NL, Krueger JG, Berger JS. Cardiovascular risk in patients with psoriasis: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol.* 2021;77(13):1670-80.
44. Cainzos-Achirica M, Glassner K, Zawahir HS, Dey AK, Agrawal T, Quigley EMM, Abraham BP, Acquah I, Yahya T, Mehta NN, Nasir K. Inflammatory bowel disease and atherosclerotic cardiovascular disease: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(24):2895-905.
45. Giles JT, Sattar N, Gabriel S, Ridker PM, Gay S, Warne C, Musselman D, Brockwell L, Shittu E, Klearman M, Fleming TR. Cardiovascular safety of tocilizumab versus etanercept in rheumatoid arthritis: A randomized controlled trial. *Arthritis Rheumatol.* 2020;72(1):31-40.
46. Kleveland O, Kunszt G, Bratlie M, Ueland T, Broch K, Holte E, Michelsen AE, Bendz B, Amundsen BH, Espevik T, Aakhus S, Damas JK, Aukrust P, Wiseth R, Gullestad L. Effect of a single dose of the interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab on inflammation and troponin T release in patients with non-ST-elevation myocardial infarction: a double-blind, randomized, placebo-controlled phase 2 trial. *Eur Heart J.* 2016;37(30):2406-13.
47. Broch K, Anstensrud AK, Woxholt S, Sharma K, Tollefsen IM, Bendz B, Aakhus S, Ueland T, Amundsen BH, Damas JK, Berg ES, Bjorkelund E, Bendz C, Hopp E, Kleveland O, Stensaeth KH, Opdahl A, Klow NE, Seljeflot I, Andersen GO, Wiseth R, Aukrust P, Gullestad L. Randomized trial of interleukin-6 receptor inhibition in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2021;77(15):1845-55.
48. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, Fonseca F, Nicolau J, Koenig W, Anker SD, Kastelein JJP, Cornel JH, Pais P, Pella D, Genest J, Cifkova R, Lorenzatti A, Forster T, Kobalava Z, Vida-Simiti L, Flather M, Shimokawa H, Ogawa H, Dellborg M,

Rossi PRF, Troquay RPT, Libby P, Glynn RJ, Group CT. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N Engl J Med*. 2017;377(12):1119-31.

49. Ridker PM, MacFadyen JG, Everett BM, Libby P, Thuren T, Glynn RJ, Group CT. Relationship of C-reactive protein reduction to cardiovascular event reduction following treatment with canakinumab: a secondary analysis from the CANTOS randomised controlled trial. *Lancet*. 2018;391(10118):319-28.

50. Ridker PM, Libby P, MacFadyen JG, Thuren T, Ballantyne C, Fonseca F, Koenig W, Shimokawa H, Everett BM, Glynn RJ. Modulation of the interleukin-6 signalling pathway and incidence rates of atherosclerotic events and all-cause mortality: analyses from the Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcomes Study (CANTOS). *Eur Heart J*. 2018;39(38):3499-507.

51. Ridker PM, Everett BM, Pradhan A, MacFadyen JG, Solomon DH, Zaharris E, Mam V, Hasan A, Rosenberg Y, Iturriaga E, Gupta M, Tsigoulis M, Verma S, Clearfield M, Libby P, Goldhaber SZ, Seagle R, Ofori C, Saklayen M, Butman S, Singh N, Le May M, Bertrand O, Johnston J, Paynter NP, Glynn RJ, Investigators C. Low-dose methotrexate for the prevention of atherosclerotic events. *N Engl J Med*. 2019;380(8):752-62.

52. Vaidya K, Arnott C, Martinez GJ, Ng B, McCormack S, Sullivan DR, Celermajer DS, Patel S. Colchicine therapy and plaque stabilization in patients with acute coronary syndrome: A CT Coronary Angiography Study. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2018;11(2 Pt 2):305-16.

53. Tardif JC, Kouz S, Waters DD, Bertrand OF, Diaz R, Maggioni AP, Pinto FJ, Ibrahim R, Gamra H, Kiwan GS, Berry C, Lopez-Sendon J, Ostadal P, Koenig W, Angoulvant D, Gregoire JC, Lavoie MA, Dube MP, Rhainds D, Provencher M, Blondeau L, Orfanos A, L'Allier PL, Guertin MC, Roubille F. Efficacy and safety of low-dose colchicine after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2019;381(26):2497-505.

54. Bouabdallaoui N, Tardif JC, Waters DD, Pinto FJ, Maggioni AP, Diaz R, Berry C, Koenig W, Lopez-Sendon J, Gamra H, Kiwan GS, Blondeau L, Orfanos A, Ibrahim R, Gregoire JC, Dube MP, Samuel M, Morel O, Lim P, Bertrand OF, Kouz S, Guertin MC, L'Allier PL, Roubille F. Time-to-treatment initiation of colchicine and cardiovascular outcomes after myocardial infarction in the Colchicine Cardiovascular Outcomes Trial (COLCOT). *Eur Heart J*. 2020;41(42):4092-9.
55. Nidorf SM, Fiolet ATL, Mosterd A, Eikelboom JW, Schut A, Opstal TSJ, The SHK, Xu XF, Ireland MA, Lenderink T, Latchem D, Hoogslag P, Jerzewski A, Nierop P, Whelan A, Hendriks R, Swart H, Schaap J, Kuijper AFM, van Hessen MWJ, Saklani P, Tan I, Thompson AG, Morton A, Judkins C, Bax WA, Dirksen M, Alings M, Hankey GJ, Budgeon CA, Tijssen JGP, Cornel JH, Thompson PL, LoDoCo2 Trial I. Colchicine in patients with chronic coronary disease. *N Engl J Med*. 2020;383(19):1838-47.
56. Shiozaki AA, Senra T, Morikawa AT, Deus DF, Paladino-Filho AT, Pinto IM, Maranhao RC. Treatment of patients with aortic atherosclerotic disease with paclitaxel-associated lipid nanoparticles. *Clinics (Sao Paulo)*. 2016;71(8):435-9.
57. Maranhao RC, Garicochea B, Silva EL, Llacer PD, Pileggi FJ, Chamone DA. Increased plasma removal of microemulsions resembling the lipid phase of low-density lipoproteins (LDL) in patients with acute myeloid leukemia: a possible new strategy for the treatment of the disease. *Braz J Med Biol Res*. 1992;25(10):1003-7.
58. Azevedo CH, Carvalho JP, Valduga CJ, Maranhao RC. Plasma kinetics and uptake by the tumor of a cholesterol-rich microemulsion (LDE) associated to etoposide oleate in patients with ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol*. 2005;97(1):178-82.

59. Maranhao RC, Graziani SR, Yamaguchi N, Melo RF, Latrilha MC, Rodrigues DG, Couto RD, Schreier S, Buzaid AC. Association of carmustine with a lipid emulsion: in vitro, in vivo and preliminary studies in cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2002;49(6):487-98.
60. Dias ML, Carvalho JP, Rodrigues DG, Graziani SR, Maranhao RC. Pharmacokinetics and tumor uptake of a derivatized form of paclitaxel associated to a cholesterol-rich nanoemulsion (LDE) in patients with gynecologic cancers. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2007;59(1):105-11.
61. Couto RD, Dallan LA, Lisboa LA, Mesquita CH, Vinagre CG, Maranhao RC. Deposition of free cholesterol in the blood vessels of patients with coronary artery disease: a possible novel mechanism for atherogenesis. *Lipids.* 2007;42(5):411-8.
62. Wani MC, Taylor HL, Wall ME, Coggon P, McPhail AT. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J Am Chem Soc.* 1971;93(9):2325-7.
63. Rowinsky EK, Donehower RC. Paclitaxel (taxol). *N Engl J Med.* 1995;332(15):1004-14.
64. Naaz F, Haider MR, Shafi S, Yar MS. Anti-tubulin agents of natural origin: Targeting taxol, vinca, and colchicine binding domains. *Eur J Med Chem.* 2019;171:310-31.
65. Marupudi NI, Han JE, Li KW, Renard VM, Tyler BM, Brem H. Paclitaxel: a review of adverse toxicities and novel delivery strategies. *Expert Opin Drug Saf.* 2007;6(5):609-21.
66. Herdeg C, Oberhoff M, Baumbach A, Blattner A, Axel DI, Schroder S, Heinle H, Karsch KR. Local paclitaxel delivery for the prevention of restenosis: biological effects and efficacy in vivo. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35(7):1969-76.

67. Axel DI, Kunert W, Goggelmann C, Oberhoff M, Herdeg C, Kuttner A, Wild DH, Brehm BR, Riessen R, Koveker G, Karsch KR. Paclitaxel inhibits arterial smooth muscle cell proliferation and migration in vitro and in vivo using local drug delivery. *Circulation*. 1997;96(2):636-45.
68. Liistro F, Stankovic G, Di Mario C, Takagi T, Chieffo A, Moshiri S, Montorfano M, Carlino M, Briguori C, Pagnotta P, Albiero R, Corvaja N, Colombo A. First clinical experience with a paclitaxel derivate-eluting polymer stent system implantation for in-stent restenosis: immediate and long-term clinical and angiographic outcome. *Circulation*. 2002;105(16):1883-6.
69. Gada H, Kirtane AJ, Newman W, Sanz M, Hermiller JB, Mahaffey KW, Cutlip DE, Sudhir K, Hou L, Koo K, Stone GW. 5-year results of a randomized comparison of XIENCE V everolimus-eluting and TAXUS paclitaxel-eluting stents: final results from the SPIRIT III trial (clinical evaluation of the XIENCE V everolimus eluting coronary stent system in the treatment of patients with de novo native coronary artery lesions). *JACC Cardiovasc Interv*. 2013;6(12):1263-6.
70. Nordanstig J, James S, Andersson M, Andersson M, Danielsson P, Gillgren P, Delle M, Engstrom J, Fransson T, Hamoud M, Hilbertson A, Johansson P, Karlsson L, Kragsterman B, Lindgren H, Ludwigs K, Mellander S, Nyman N, Renlund H, Sigvant B, Skoog P, Starck J, Tegler G, Toivola A, Truedson M, Wahlgren CM, Wallinder J, Ojersjo A, Falkenberg M. Mortality with paclitaxel-coated devices in peripheral artery disease. *N Engl J Med*. 2020;383(26):2538-46.
71. Maranhao RC, Tavares ER, Padoveze AF, Valduga CJ, Rodrigues DG, Pereira MD. Paclitaxel associated with cholesterol-rich nanoemulsions promotes atherosclerosis regression in the rabbit. *Atherosclerosis*. 2008;197(2):959-66.

72. Lourenco-Filho DD, Maranhao RC, Mendez-Contreras CA, Tavares ER, Freitas FR, Stolf NA. An artificial nanoemulsion carrying paclitaxel decreases the transplant heart vascular disease: a study in a rabbit graft model. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2011;141(6):1522-8.
73. Rodrigues DG, Covolan CC, Coradi ST, Barboza R, Maranhao RC. Use of a cholesterol-rich emulsion that binds to low-density lipoprotein receptors as a vehicle for paclitaxel. *J Pharm Pharmacol.* 2002;54(6):765-72.
74. Dawson LP, Lum M, Nerleker N, Nicholls SJ, Layland J. Coronary atherosclerotic plaque regression: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2022;79(1):66-82.
75. Serruys PW, Hara H, Garg S, Kawashima H, Norgaard BL, Dweck MR, Bax JJ, Knuuti J, Nieman K, Leipsic JA, Mushtaq S, Andreini D, Onuma Y. Coronary computed tomographic angiography for complete assessment of coronary artery disease: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2021;78(7):713-36.
76. Motoyama S, Sarai M, Harigaya H, Anno H, Inoue K, Hara T, Naruse H, Ishii J, Hishida H, Wong ND, Virmani R, Kondo T, Ozaki Y, Narula J. Computed tomographic angiography characteristics of atherosclerotic plaques subsequently resulting in acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(1):49-57.
77. Feuchtner G, Kerber J, Burghard P, Dichtl W, Friedrich G, Bonaros N, Plank F. The high-risk criteria low-attenuation plaque <60 HU and the napkin-ring sign are the most powerful predictors of MACE: a long-term follow-up study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2017;18(7):772-9.
78. Williams MC, Kwiecinski J, Doris M, McElhinney P, D'Souza MS, Cadet S, Adamson PD, Moss AJ, Alam S, Hunter A, Shah ASV, Mills NL, Pawade T, Wang C, Weir McCall J, Bonnici-Mallia M, Murrills C, Roditi G, van Beek EJR,

Shaw LJ, Nicol ED, Berman DS, Slomka PJ, Newby DE, Dweck MR, Dey D. Low-attenuation noncalcified plaque on coronary computed tomography angiography predicts myocardial infarction: Results from the Multicenter SCOT-HEART Trial (Scottish Computed Tomography of the HEART). *Circulation*. 2020;141(18):1452-62.

79. Voros S, Rinehart S, Qian Z, Joshi P, Vazquez G, Fischer C, Belur P, Hulten E, Villines TC. Coronary atherosclerosis imaging by coronary CT angiography: current status, correlation with intravascular interrogation and meta-analysis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2011;4(5):537-48.

80. Maurovich-Horvat P, Hoffmann U, Vorpahl M, Nakano M, Virmani R, Alkadhi H. The napkin-ring sign: CT signature of high-risk coronary plaques? *JACC Cardiovasc Imaging*. 2010;3(4):440-4.

81. Otsuka K, Fukuda S, Tanaka A, Nakanishi K, Taguchi H, Yoshikawa J, Shimada K, Yoshiyama M. Napkin-ring sign on coronary CT angiography for the prediction of acute coronary syndrome. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6(4):448-57.

82. van Velzen JE, de Graaf FR, de Graaf MA, Schuijf JD, Kroft LJ, de Roos A, Reiber JH, Bax JJ, Jukema JW, Boersma E, Schalij MJ, van der Wall EE. Comprehensive assessment of spotty calcifications on computed tomography angiography: comparison to plaque characteristics on intravascular ultrasound with radiofrequency backscatter analysis. *J Nucl Cardiol*. 2011;18(5):893-903.

83. Motoyama S, Kondo T, Sarai M, Sugiura A, Harigaya H, Sato T, Inoue K, Okumura M, Ishii J, Anno H, Virmani R, Ozaki Y, Hishida H, Narula J. Multislice computed tomographic characteristics of coronary lesions in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(4):319-26.

84. Manubolu VS, Roy SK, Budoff MJ. Prognostic value of serial coronary CT angiography in atherosclerotic plaque modification: what have we learnt? *Curr Cardiovasc Imaging Rep.* 2022;15(2):1.
85. Perez de Isla L, Diaz-Diaz JL, Romero MJ, Muniz-Grijalvo O, Mediavilla JD, Argueso R, Sanchez Munoz-Torrero JF, Rubio P, Alvarez-Banos P, Ponte P, Manas D, Suarez Gutierrez L, Cepeda JM, Casanas M, Fuentes F, Guijarro C, Angel Barba M, Saltijeral Cerezo A, Padro T, Mata P, Group SS. Alirocumab and coronary atherosclerosis in asymptomatic patients with familial hypercholesterolemia: The ARCHITECT Study. *Circulation.* 2023;147(19):1436-43.
86. Budoff MJ, Bhatt DL, Kinninger A, Lakshmanan S, Muhlestein JB, Le VT, May HT, Shaikh K, Shekar C, Roy SK, Tayek J, Nelson JR. Effect of icosapent ethyl on progression of coronary atherosclerosis in patients with elevated triglycerides on statin therapy: final results of the EVAPORATE trial. *Eur Heart J.* 2020;41(40):3925-32.
87. Raff GL, Abidov A, Achenbach S, Berman DS, Boxt LM, Budoff MJ, Cheng V, DeFrance T, Hellinger JC, Karlsberg RP, Society of Cardiovascular Computed T. SCCT guidelines for the interpretation and reporting of coronary computed tomographic angiography. *J Cardiovasc Comput Tomogr.* 2009;3(2):122-36.
88. Papadopoulou SL, Neefjes LA, Garcia-Garcia HM, Flu WJ, Rossi A, Dharampal AS, Kitslaar PH, Mollet NR, Veldhof S, Nieman K, Stone GW, Serruys PW, Krestin GP, de Feyter PJ. Natural history of coronary atherosclerosis by multislice computed tomography. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2012;5(3 Suppl):S28-37.
89. de Graaf MA, Broersen A, Kitslaar PH, Roos CJ, Dijkstra J, Lelieveldt BP, Jukema JW, SchaliJ MJ, Delgado V, Bax JJ, Reiber JH, Scholte AJ. Automatic quantification and characterization of coronary atherosclerosis with

computed tomography coronary angiography: cross-correlation with intravascular ultrasound virtual histology. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2013;29(5):1177-90.

90. Nakanishi R, Ceponiene I, Osawa K, Luo Y, Kanisawa M, Megowan N, Nezarat N, Rahmani S, Broersen A, Kitslaar PH, Dailing C, Budoff MJ. Plaque progression assessed by a novel semi-automated quantitative plaque software on coronary computed tomography angiography between diabetes and non-diabetes patients: A propensity-score matching study. *Atherosclerosis*. 2016;255:73-9.

91. Ridker PM, Rane M. Interleukin-6 signaling and anti-interleukin-6 therapeutics in cardiovascular disease. *Circ Res*. 2021;128(11):1728-46.

92. Kaptoge S, Seshasai SR, Gao P, Freitag DF, Butterworth AS, Borglykke A, Di Angelantonio E, Gudnason V, Rumley A, Lowe GD, Jorgensen T, Danesh J. Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis. *Eur Heart J*. 2014;35(9):578-89.

93. Ridker PM, MacFadyen JG, Glynn RJ, Bradwin G, Hasan AA, Rifai N. Comparison of interleukin-6, C-reactive protein, and low-density lipoprotein cholesterol as biomarkers of residual risk in contemporary practice: secondary analyses from the Cardiovascular Inflammation Reduction Trial. *Eur Heart J*. 2020;41(31):2952-61.

94. Novo Nordisk AS. ZEUS - A research study to look at how ziltivekimab works compared to placebo in people with cardiovascular disease, chronic kidney disease and inflammation. First posted: August 26, 2021. Last Update posted: November 7, 2023.

95. Ridker PM. C-reactive protein: eighty years from discovery to emergence as a major risk marker for cardiovascular disease. *Clin Chem*. 2009;55(2):209-15.
96. Ridker PM. From C-reactive protein to interleukin-6 to interleukin-1: moving upstream to identify novel targets for atheroprotection. *Circ Res*. 2016;118(1):145-56.
97. Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ, Himmelfarb CD, Khera A, Lloyd-Jones D, McEvoy JW, Michos ED, Miedema MD, Munoz D, Smith SC, Jr., Virani SS, Williams KA, Sr., Yeboah J, Ziaeian B. 2019 ACC/AHA Guideline on the primary prevention of cardiovascular disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2019;140(11):e563-e95.
98. Lane T, Wassef N, Poole S, Mistry Y, Lachmann HJ, Gillmore JD, Hawkins PN, Pepys MB. Infusion of pharmaceutical-grade natural human C-reactive protein is not proinflammatory in healthy adult human volunteers. *Circ Res*. 2014;114(4):672-6.
99. Noveck R, Stroes ES, Flaim JD, Baker BF, Hughes S, Graham MJ, Crooke RM, Ridker PM. Effects of an antisense oligonucleotide inhibitor of C-reactive protein synthesis on the endotoxin challenge response in healthy human male volunteers. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(4):e001084..
100. Herder C, de Las Heras Gala T, Carstensen-Kirberg M, Huth C, Zierer A, Wahl S, Sudduth-Klinger J, Kuulasmaa K, Peretz D, Ligthart S, Bongaerts BWC, Dehghan A, Ikram MA, Jula A, Kee F, Pietila A, Saarela O, Zeller T, Blankenberg S, Meisinger C, Peters A, Roden M, Salomaa V, Koenig W, Thorand B. Circulating levels of interleukin 1-receptor antagonist and risk of cardiovascular disease: Meta-Analysis of Six Population-Based Cohorts. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37(6):1222-7.

101. Kubo T, Maehara A, Mintz GS, Doi H, Tsujita K, Choi SY, Katoh O, Nasu K, Koenig A, Pieper M, Rogers JH, Wijns W, Bose D, Margolis MP, Moses JW, Stone GW, Leon MB. The dynamic nature of coronary artery lesion morphology assessed by serial virtual histology intravascular ultrasound tissue characterization. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(15):1590-7.
102. Park HB, Arsanjani R, Sung JM, Heo R, Lee BK, Lin FY, Hadamitzky M, Kim YJ, Conte E, Andreini D, Pontone G, Budoff MJ, Gottlieb I, Chun EJ, Cademartiri F, Maffei E, Marques H, Goncalves PA, Leipsic JA, Lee SE, Shin S, Choi JH, Virmani R, Samady H, Chinnaiyan K, Stone PH, Berman DS, Narula J, Shaw LJ, Bax JJ, Min JK, Chang HJ. Impact of statins based on high-risk plaque features on coronary plaque progression in mild stenosis lesions: results from the PARADIGM study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2023;24(11):1536-43.
103. Andreini D, Conte E, Mushtaq S, Magatelli M, Traversari F, Gigante C, Belmonte M, Gaudenzi-Asinelli M, Annoni A, Formenti A, Mancini ME, Guglielmo M, Baggiano A, Melotti E, Muscogiuri G, Rondinelli M, Pontone G, Bartorelli AL, Pepi M, Genovese S. Plaque assessment by coronary CT angiography may predict cardiac events in high risk and very high risk diabetic patients: A long-term follow-up study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2022;32(3):586-95.
104. van Rosendaal AR, van den Hoogen IJ, Gianni U, Ma X, Tantawy SW, Bax AM, Lu Y, Andreini D, Al-Mallah MH, Budoff MJ, Cademartiri F, Chinnaiyan K, Choi JH, Conte E, Marques H, de Araujo Goncalves P, Gottlieb I, Hadamitzky M, Leipsic JA, Maffei E, Pontone G, Shin S, Kim YJ, Lee BK, Chun EJ, Sung JM, Lee SE, Virmani R, Samady H, Sato Y, Stone PH, Berman DS, Narula J, Blankstein R, Min JK, Lin FY, Shaw LJ, Bax JJ, Chang HJ. Association of statin treatment with progression of coronary atherosclerotic plaque composition. *JAMA Cardiol.* 2021;6(11):1257-66.

105. Ahmadi A, Argulian E, Leipsic J, Newby DE, Narula J. From subclinical atherosclerosis to plaque progression and acute coronary events: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*. 2019;74(12):1608-17.
106. Inoue K, Motoyama S, Sarai M, Sato T, Harigaya H, Hara T, Sanda Y, Anno H, Kondo T, Wong ND, Narula J, Ozaki Y. Serial coronary CT angiography-verified changes in plaque characteristics as an end point: evaluation of effect of statin intervention. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2010;3(7):691-8.
107. Li Z, Hou Z, Yin W, Liu K, Gao Y, Xu H, Yu F, Ma Z, Yu W, Yang L, Lu B. Effects of statin therapy on progression of mild noncalcified coronary plaque assessed by serial coronary computed tomography angiography: A multicenter prospective study. *Am Heart J*. 2016;180:29-38.
108. Russell KS, Yates DP, Kramer CM, Feller A, Mahling P, Colin L, Clough T, Wang T, LaPerna L, Patel A, Lawall H, Shennak MM, Fulmer J, Nikol S, Smith WB, Muller OJ, Ratchford EV, Basson CT. A randomized, placebo-controlled trial of canakinumab in patients with peripheral artery disease. *Vasc Med*. 2019;24(5):414-21.
109. Matsumoto S, Ibrahim R, Gregoire JC, L'Allier PL, Pressacco J, Tardif JC, Budoff MJ. Effect of treatment with 5-lipoxygenase inhibitor VIA-2291 (atreleuton) on coronary plaque progression: a serial CT angiography study. *Clin Cardiol*. 2017;40(4):210-5.
110. van Rosendaal AR, Narula J, Lin FY, van den Hoogen IJ, Gianni U, Al Hussein Alawamih O, Dunham PC, Pena JM, Lee SE, Andreini D, Cademartiri F, Chinnaiyan K, Chow BJW, Conte E, Cury RC, Feuchtner G, Hadamitzky M, Kim YJ, Leipsic J, Maffei E, Marques H, de Araujo Goncalves P, Plank F, Pontone G, Raff GL, Villines TC, Weirich HG, Al'Aref SJ, Baskaran L, Cho I, Danad I, Han D, Heo R, Lee JH, Rivzi A, Stuijzand WJ, Gransar H, Lu Y, Sung JM, Park HB, Samady H, Stone PH, Virmani R, Budoff MJ, Berman DS, Chang

HJ, Bax JJ, Min JK, Shaw LJ. Association of high-density calcified 1K plaque with risk of acute coronary syndrome. *JAMA Cardiol.* 2020;5(3):282-90.

111. Andelius L, Mortensen MB, Norgaard BL, Abdulla J. Impact of statin therapy on coronary plaque burden and composition assessed by coronary computed tomographic angiography: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2018;19(8):850-8.

112. Iatan I, Guan M, Humphries KH, Yeoh E, Mancini GBJ. Atherosclerotic coronary plaque regression and risk of adverse cardiovascular events: A systematic review and updated meta-regression analysis. *JAMA Cardiol.* 2023;8(10):937-45.

113. de la Puente P, Azab AK. Nanoparticle delivery systems, general approaches, and their implementation in multiple myeloma. *Eur J Haematol.* 2017;98(6):529-41.