

Uma Meta-Análise de Microvesículas Circulantes em Pacientes com Infarto do Miocárdio

A Meta-Analysis of Circulating Microvesicles in Patients with Myocardial Infarction

Zhida Wang,^{1#} Wang Cai,^{2#} Shaolan Hu,¹ Yufei Xia,³ Yao Wang,⁴ Qi Zhang,^{5*} Liming Chen^{1*}

Key Laboratory of Hormones and Development (Ministry of Health) – Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases – Tianjin Metabolic Diseases Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology – Tianjin Medical University;¹ Department of Surgery – Tianjin Nankai Hospital – Tianjin Medical University;² Tianjin, China; School of Nursing – Tianjin Medical University;³ Tianjin; Department of Pharmacology - School of Basic Medical Science – Tianjin Medical University;⁴ Institute of Integrative Medicines for Acute Abdominal Diseases – Nankai Hospital,⁵ Tianjin – China

Zhida Wang e Wang Cai contribuíram igualmente e são os primeiros autores; * Qi Zhang e Liming Chen contribuíram igualmente e são os autores correspondentes

Resumo

Fundamentos: As microvesículas derivadas de células (MVs) são vesículas liberadas de células ativadas ou apoptóticas. No entanto, os níveis de MVs no infarto do miocárdio foram encontrados inconsistentes nas pesquisas.

Objetivo: Avaliar a associação entre MV e infarto do miocárdio por meio de uma meta-análise.

Métodos: Foi realizada uma pesquisa sistemática na literatura em PubMed, Embase, Cochran e no banco de dados eletrônico do Google Scholar. Uma comparação dos níveis de MV entre pacientes com infarto do miocárdio e pessoas saudáveis foi incluída no nosso estudo. A Diferença Média Padrão (DMP) e o intervalo de confiança (IC) de 95% nos grupos foram calculadas e meta-analisadas.

Resultados: Foram incluídos 11 estudos com um total de 436 participantes. Em comparação com as pessoas saudáveis, as MVA [DMP = 3,65, IC 95% (1,03, 6,27)], MVPs [DMP = 2,88, IC 95% (1,82, 3,93)] e MVEs [DMP = 2,73, IC 95% (1,13, 4.34)], foram maiores em pacientes com infarto do miocárdio. No entanto, os níveis de MVL [DMP = 0,73, IC 95% (-0,57, 2,03)] não foram alterados significativamente em pacientes com infarto do miocárdio.

Conclusões: MVAs, MVPs e MVEs podem ser biomarcadores potenciais para o infarto do miocárdio. (Arq Bras Cardiol. 2017; 109(2):156-164)

Palavras-chave: Infarto do Miocárdio; Micropartículas Derivadas de Células; Anexina A5; Plaquetas; Leucócitos; Endotélio.

Abstract

Background: Cell-derived microvesicles (MVs) are vesicles released from activated or apoptotic cells. However, the levels of MVs in myocardial infarction have been found inconsistent in researches.

Objective: To assess the association between MVs and myocardial infarction by conducting a meta-analysis.

Methods: A systematic literature search on PubMed, Embase, Cochran, Google Scholar electronic database was conducted. Comparison of the MVs levels between myocardial infarction patients and healthy persons were included in our study. Standard Mean Difference (SMD) and 95% confidence interval (CI) in groups were calculated and meta-analyzed.

Results: 11 studies with a total of 436 participants were included. Compared with the health persons, AMVs [SMD = 3.65, 95% CI (1.03, 6.27)], PMVs [SMD = 2.88, 95% CI (1.82, 3.93),] and EMVs [SMD = 2.73, 95% CI (1.13, 4.34)], levels were higher in patients with myocardial infarction. However, LMVs levels [SMD = 0.73, 95% CI (-0.57, 2.03)] were not changed significantly in patients with myocardial infarction.

Conclusions: AMVs, PMVs and EMVs might be potential biomarkers for myocardial infarction. (Arq Bras Cardiol. 2017; 109(2):156-164)

Keywords: Myocardial Infarction; Biomarkers; Cell-Derived Microparticles; Annexin A5; Blood Platelets; Leukocytes; Endothelium.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Qi Zhang*; Liming Chen* •

Institute of Integrative Medicines for Acute Abdominal Diseases–Nankai Hospital, Tianjin–China (Qi Zhang); Hormones and Development (Ministry of Health)–Tianjin Key Laboratory of Metabolic Diseases–Tianjin Metabolic Diseases Hospital & Tianjin Institute of Endocrinology – Tianjin Medical University, Tianjin–China (Liming Chen).

E-mail: zhangqi8501@126.com; xfx22081@vip.163.com;

Artigo recebido em 19/09/2016, revisado em 20/01/2017, aceito em 15/03/2017

DOI: 10.5935/abc.20170102

Introdução

A doença cardíaca isquêmica (DIC) é uma das doenças cardiovasculares que prejudica a saúde humana.¹ Aterotrombose, disfunção endotelial e apoptose celular estão na base patológica nestas doenças. Os estudos relevantes nesta área sugerem que as microvesículas derivadas de células (MVs) estão relacionadas com a ativação plaquetária, danos endoteliais e inflamação associada à existência de fatores de risco cardiovasculares.²⁻⁴ Uma vez que eles estão envolvidos no processo fisiopatológico de doenças, a atenção tem sido focada na relação entre MVs e infarto do miocárdio (IM).⁵⁻⁸ Evidências crescentes implicam que MVs podem ser consideradas como biomarcadores ou mediadores novos úteis na compreensão dos mecanismos das doenças cardiovasculares.

As MVs são utilizadas para descrever uma população de vesículas subcelulares liberadas da membrana plasmática durante a ativação ou apoptose das células e identificadas por um intervalo de tamanhos de 100 nm a 1,0 μ m de diâmetro. MVs constituem uma população heterogênea, diferente em origem celular, números, tamanho, composição antigênica e propriedades funcionais. Alterações nas quantidades de diferentes MVs derivadas de células podem fornecer informações sobre as alterações fisiopatológicas. Embora muitos estudos tenham demonstrado que o infarto do miocárdio está associado às MVs, a informação obtida mostra resultados heterogêneos, com alta variação quanto ao tamanho da MV, ao tipo de MV, aos níveis de MV, aos critérios de inclusão e aos métodos. Assim, realizou-se uma meta-análise das alterações de MVs de anexina V positiva (MVAs), MVs de plaquetas (MVPs), MVs endoteliais (MVEs) e MV de leucócitos (MVLs) em pacientes com infarto do miocárdio e pessoas saudáveis.

Métodos

Fontes de dados e pesquisas

Pesquisamos as bases de dados de MEDLINE (pubmed), Embase, Cochrane e Google Scholar para artigos de 2000 a 2013. Todas as buscas foram aplicadas com os seguintes títulos médicos: "infarto do miocárdio", "intervenção coronária percutânea primária", "stenting", "angioplastia com balão", "síndrome coronariana aguda" ou "isquemia coronária", "micropartículas", "micropartículas derivadas de células", "micropartículas em circulação", "microvesículas". Essas pesquisas foram restritas a publicações limitadas à pesquisa em seres humanos. Uma pesquisa manual para referências citadas nos estudos publicados e artigos de revisão relevantes também foi realizada para identificar investigações adicionais adequadas para o nosso propósito. Para estudos não publicados e publicados que não foram divulgados exaustivamente, foi feita a tentativa por e-mail para contatar os investigadores principais, a fim de recuperar os dados em falta. Finalmente, especialistas conhecidos nesta área foram contatados para garantir que todos os dados relevantes foram extraídos.

Seleção de estudos

Dois de nós realizamos a identificação de resumos relevantes e a seleção de estudos com base nos critérios descritos

abaixo em forma independente, e um terceiro investigador resolveu qualquer discrepância. Foram selecionados estudos comparando os níveis de diferentes MVs: total, plaquetário, endotelial, leucocitário entre pessoas saudáveis e pacientes com infarto do miocárdio.

Os estudos foram incluídos se preenchessem os seguintes critérios: (i) Estudo intitulado MV circulante correlacionado com IM; (ii) O desenho do estudo foi estudo de caso-controle ou estudo de coorte; (iii) O IM como um subgrupo de investigação que extrai de forma independente informação relevante sobre IM. Excluímos o seguinte: (i) Revisão; (ii) Texto não completo, apenas um resumo; (iii) Ensaio em animais.

Extração e síntese de dados

Extraímos informações, incluindo estudo e características da população, tamanho da amostra, desenho do estudo e resultados relevantes para este estudo. Médias e desvios padrão dos níveis de MVs foram extraídos. Quando um artigo obedecia aos critérios de inclusão, mas não dispunha de informações sobre parâmetros para análise, ou quando os resultados foram relatados, mas não relacionados ao infarto do miocárdio, contatamos os autores para obter dados brutos. A qualidade dos estudos foi avaliada utilizando a lista de verificação Downs e Black.

Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o software estatístico RevMan 5.0 fornecido pela Cochrane Collaboration. DMP e 95% de IC foram utilizados como estimativas sumárias. A presença de heterogeneidade entre os estudos foi testada com o teste de heterogeneidade χ^2 e a estatística de I^2 . Heterogeneidade foi significativa quando $p < 0,05$ ou I^2 foi superior a 50%. Foi utilizado um modelo de efeitos aleatórios em todas as análises para testar a estabilidade dos resultados à escolha do modelo estatístico. Se houver heterogeneidade significativa, são utilizados os resultados do modelo de efeitos aleatórios. Definimos a priori a análise de sensibilidade de estudos de alta qualidade para cada resultado clínico. O potencial de viés de publicação foi avaliado utilizando a abordagem do gráfico de funil.

Resultados

Resultados da busca

Foram analisados 172 artigos identificados a partir da MEDLINE (pubmed), Embase, Cochrane e Google Scholar; E, em seguida, 140 foram excluídos com base no título e resumo. Após uma avaliação detalhada da elegibilidade potencial, 11 estudos preencheram todos os critérios de inclusão e foram recuperados para meta-análise.⁹⁻¹⁹ O fluxograma de ensaio está resumido na Figura 1.

Características básicas dos estudos

As características de todos os estudos incluídos estão apresentadas na Tabela 1. Estes estudos foram publicados de 2004 a 2013. O tamanho da amostra variou de 5 a 61. Um total de 436 participantes (186 controles saudáveis e 250 pacientes com IM) foram incluídos. Entre estes estudos,

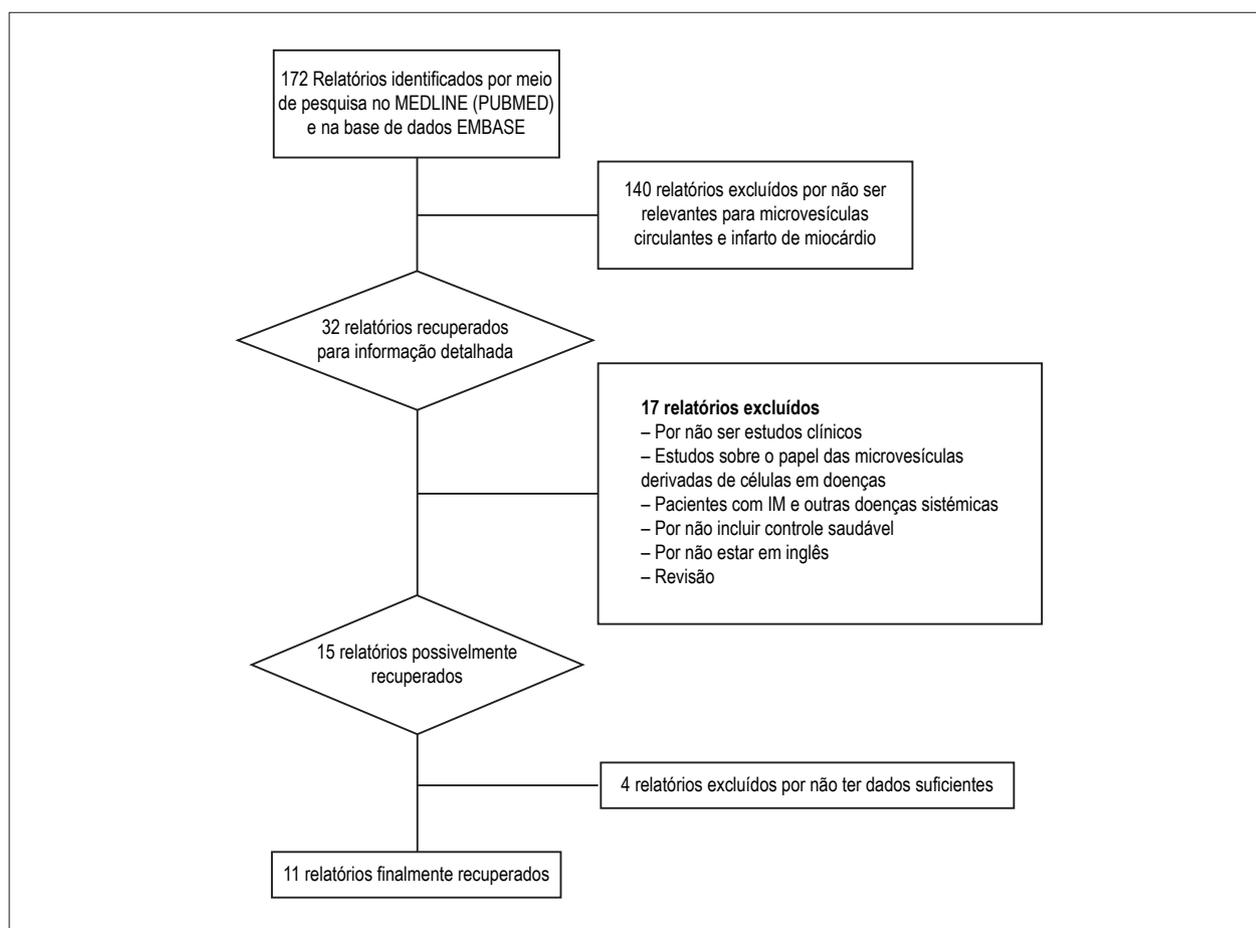


Figura 1 – Diagrama de fluxo da estratégia de busca e seleção do estudo

Tabela 1 – Características dos estudos incluídos

Autor/Ano	Objeto de estudo		Método de medição de MVs	Unidades de MVs	Tamanho da amostra
	IM	Controle			IM/Controle
Cui Y/2013	STEMI/NSTEMI	Saúde	Citometria de fluxo	10 ⁹ /mL	40/20
Del Turco S/2008	IM	Saúde	Citometria de fluxo	10 ⁶ /L	46/10
Leong H S/2011	IAM	Saúde	Citometria de fluxo	/μL	6/5
Matsumoto N/2004	SCA	Saúde	Citometria de fluxo	10 ⁴ / contagem de plaquetas	41/20
Michelsen A E/2008	IM	Saúde	Proteína BCA Ensaio de Proteínas	μg/L	61/61
Min P K/2013	STEMI	Saúde	ELISA	nM (equivalente fosfatidilserina)	45/16
Morel O/2004	STEMI	Saúde	ELISA	nM (Equivalente PhtdSer)	50/50
Morel O/2005	STEMI	Saúde	ELISA	nM (Equivalente PhtdSer)	9/50
Skeppholm M/2012	STEMI/NSTEMI	Saúde	Citometria de fluxo	10 ⁹ /L	51/61
Stepien E/2012	IAM	Saúde	Citometria de fluxo	/μL	12/9
Tan K T/2005	SCA	Saúde	Citometria de fluxo	10 ⁹ /mL	54/35

os resultados dos MVs foram expressos de forma diferente. Seis relatórios foram expressos como o número de MVs no plasma por microlitro, mililitro e litro. Três relatórios foram expressos como PS eq (equivalentes de fosfatidilserina), um relatório foi expresso como número de MVs na

contagem de plaquetas e um relatório foi expresso como concentrações plasmáticas de MVs. Houve quatro relatórios que só informavam a mediana, alcance e tamanho do ensaio. Para estimar a média e a variância desses artigos, utilizamos o número de desigualdades amostrais e elementares.²⁰

Índice de Qualidade

A maioria dos estudos obteve alta pontuação na notificação das intervenções utilizadas e nas medidas de resultados. Apenas um relatório teve pontuações baixas pelo pequeno tamanho da amostra. A pontuação média de todos os estudos foi de 15,8 (Tabela 2).

Microvesículas Anexina V + no controle da saúde e pacientes com infarto do miocárdio

Quatro dos onze estudos mostraram alterações nos níveis de MVA entre pacientes com infarto do miocárdio e controles saudáveis. Em três destes relatórios, os níveis de MVA em pacientes com infarto do miocárdio foram superiores aos controles saudáveis. Apenas em um estudo, os pacientes com infarto do miocárdio não diferiram dos controles saudáveis em relação aos níveis de MVAs. Quando os resultados de todos os estudos foram combinados, houve uma diferença significativa entre os grupos com níveis mais elevados de MVA em pacientes com infarto do miocárdio [DMP = 3,65, 95% IC (1,03, 6,27), Z = 2,73 (p < 0,00001; Figura 2A)]. Além disso, houve heterogeneidade estatística significativa entre os estudos ($\chi^2 = 95,64$, df = 3, p < 0,00001, I² = 97%). Como é mostrado na Figura 2B, não foi encontrado viés de publicação.

Microvesículas de plaquetas no controle da saúde e pacientes com infarto do miocárdio

Todos os onze estudos encontraram níveis de MVPs variados entre pacientes com infarto do miocárdio e controles

saudáveis. Nove estudos relataram que o nível de MVPs foi maior em pacientes com IM, enquanto que os outros estudos não mostraram diferença em grupos. Combinando os resultados de todos os estudos, o nível de MVP estava significativamente aumentado em pacientes com infarto do miocárdio [DMP = 2,88, 95% IC (1,82, 3,93), Z = 5,35 (p < 0, 00001, Figura 3A)]. Houve também heterogeneidade estatística significativa entre os estudos ($\chi^2 = 235,02$, df = 0, p < 0,00001, I² = 96%). Conforme é ilustrado na Figura 3B, foi encontrado um pequeno viés de publicação.

Tabela 2 – Índice de qualidade dos estudos incluídos

Autor/Ano	Índice de Qualidade
Cui Y/2013	16
Del Turco S/2008	16
Leong H S/2011	14
Matsumoto N/2004	16
Michelsen A E/2008	16
Min P K/2013	16
Morel O/2004	16
Morel O/2005	16
Skeppholm M/2012	16
Stepien E/2012	16
Tan K T/2005	16

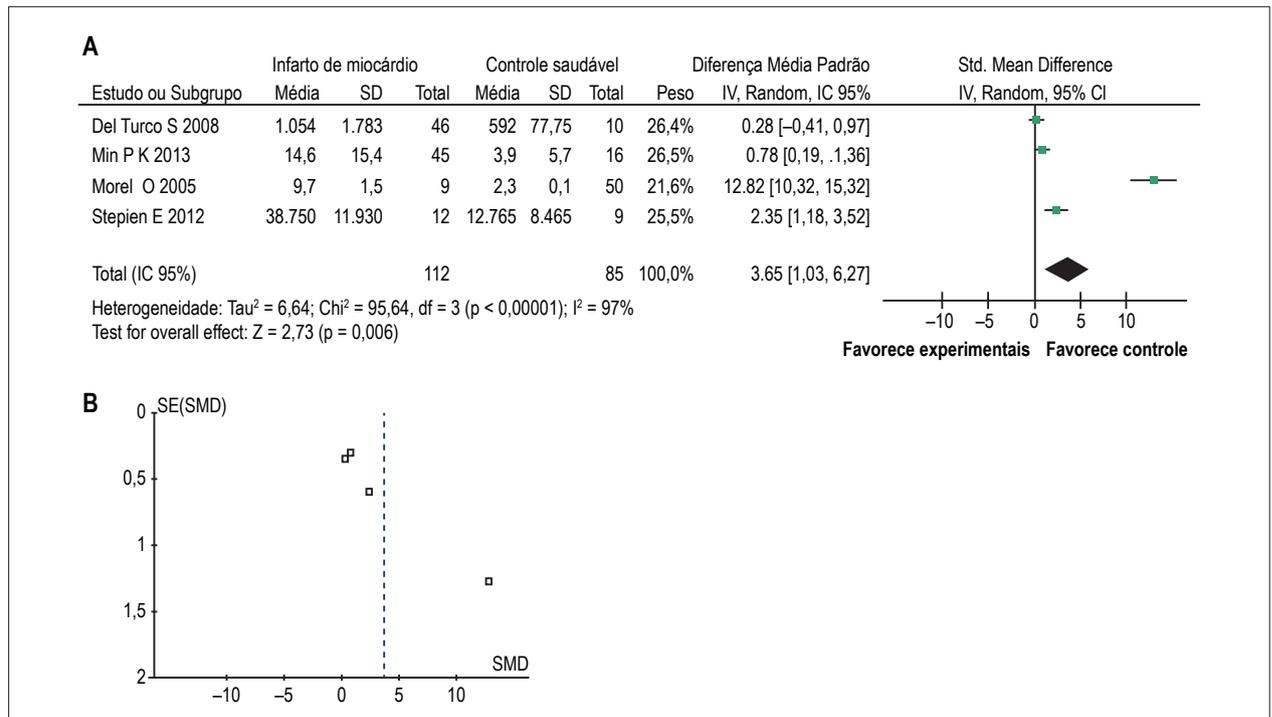


Figura 2 – O gráfico de meta-análise (A) e o gráfico de funil (B) da meta-análise das microvesículas de anexina V + no infarto do miocárdio.

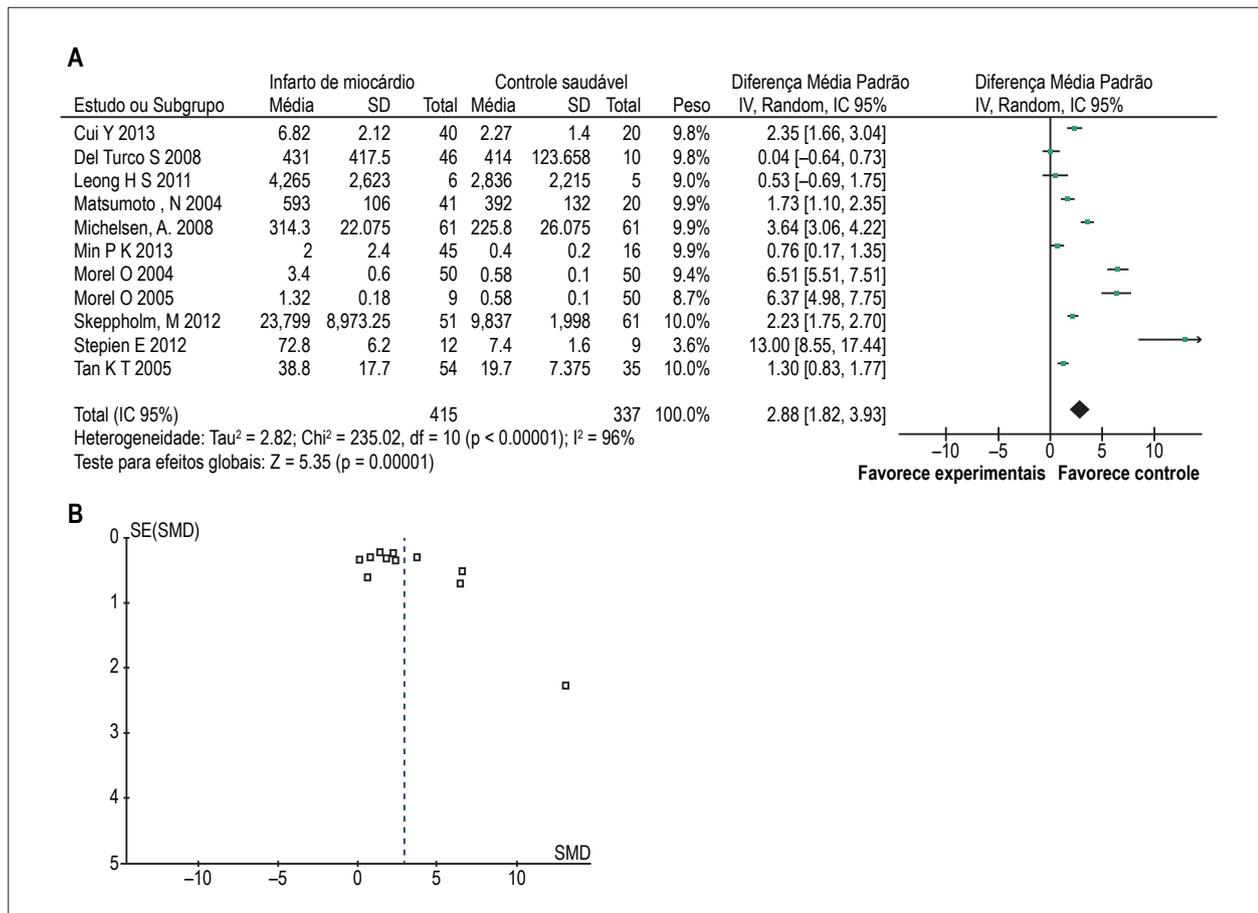


Figura 3 – O gráfico de meta-análise (A) e o gráfico de funil (B) da meta-análise de microvesículas de plaquetas no infarto do miocárdio.

Microvesículas endoteliais no controle da saúde e pacientes com infarto do miocárdio

Seis dos onze estudos relataram alternância nos níveis de MVEs entre os dois grupos. Quatro relatórios concluíram que uma proporção de pacientes com IM apresentam níveis elevados de MVEs. Mas os outros estudos não mostraram diferença significativa. Combinando todos os resultados desses estudos, os pacientes com IM apresentaram maior nível de MVEs. [DMP = 2,73, 95% IC (1,13, 4,34), $Z = 3,33$ ($p = 0,0009$, Figura 4A)]. A heterogeneidade estatística foi significativa entre os estudos ($\chi^2 = 155,28$, $df = 6$, $p < 0,00001$, $I^2 = 96\%$). Conforme ilustrado na Figura 4B, não foi encontrado qualquer viés de publicação.

Microvesículas de leucócitos no controle da saúde e pacientes com infarto do miocárdio

Cinco dos onze estudos exibiram diferenças nos níveis de MVLs entre pacientes com infarto do miocárdio e controles de saúde. Quatro relatórios mostraram que os níveis de MVLs em pacientes com infarto do miocárdio foram superiores aos controles de saúde. O achado de um relatório foi, contudo, na direção oposta, com pacientes com níveis de MVLs significativamente menores do que os controles. Quando os resultados de todos os estudos foram

combinados, não houve diferença significativa entre os dois grupos [DMP = 0,73, IC 95% (-0,57; 2,03), $Z = 1,11$ ($p = 0,27$; Figura 5A)]. Houve também heterogeneidade estatística significativa entre os estudos ($\chi^2 = 90,69$, $df = 4$, $p < 0,00001$, $I^2 = 96\%$). Conforme é ilustrado na Figura 5B, não foi encontrado qualquer viés de publicação.

Discussão

Realizamos uma exaustiva pesquisa para identificar os estudos relacionados à nossa pergunta e apresentamos a visão mais abrangente das MVs no IM até a data. Métodos sistemáticos foram aplicados para reduzir o viés na identificação de estudos, extração e síntese de dados e avaliação da qualidade do estudo. Esta meta-análise mostrou que níveis mais elevados de MVAs, MVPs e MVEs no sangue periférico podem estar associados a pacientes com IM, indicando que esses MVs podem ser úteis no diagnóstico de IM. No entanto, o resultado para MVLs foi negativo.

Microvesículas (MVS) ou micropartículas (MPS) têm relação não só com processos inflamatórios e trombóticos, mas com tecido de processo regenerativo e angiogênese, o que pode ser uma função protetora. Além disso MVS podem ser um sinalizador de estímulo celular da homeostase e apoptose.

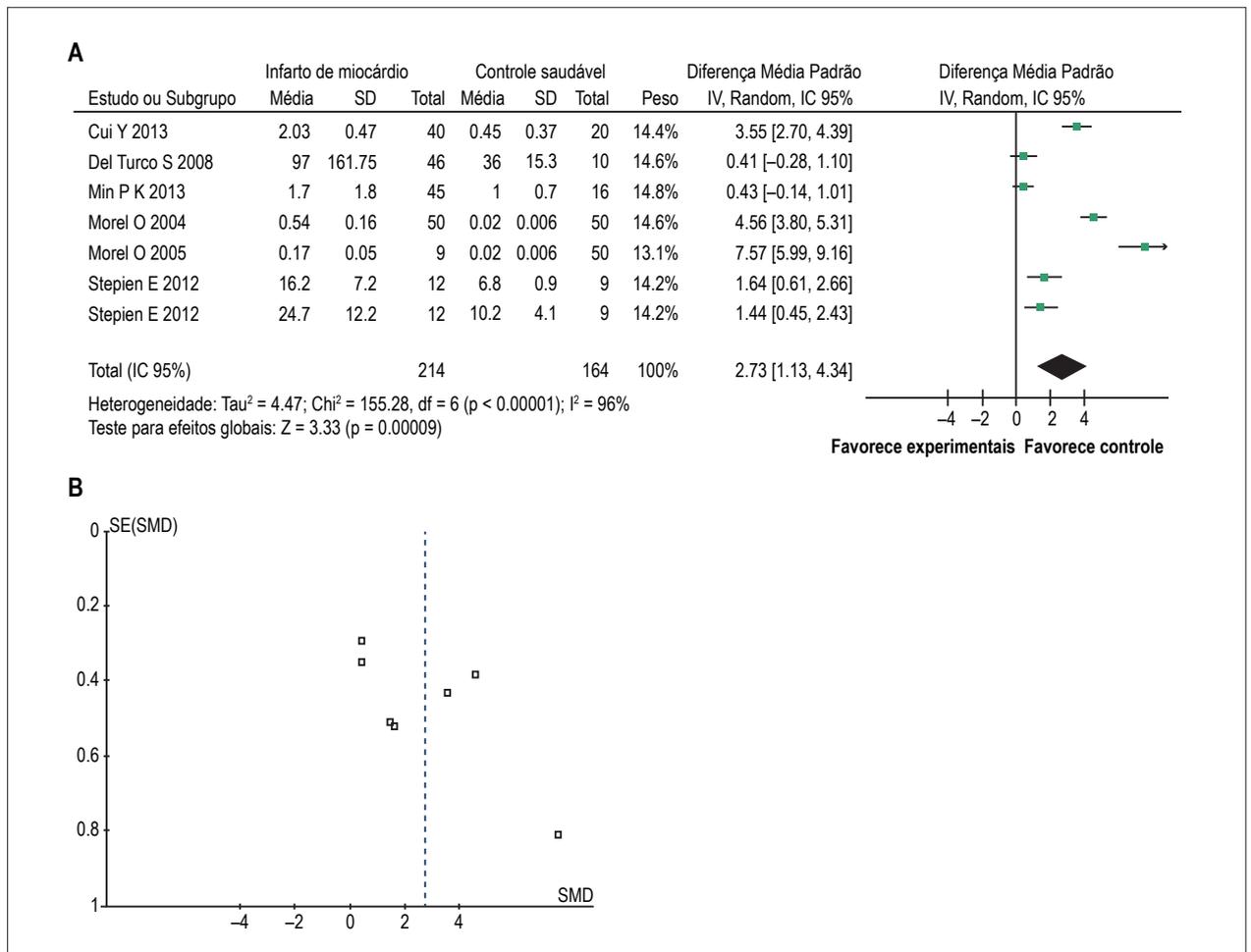


Figura 4 – O gráfico de meta-análise (A) e o gráfico de funil (B) da meta-análise de microvesículas endoteliais no infarto do miocárdio.

Pacientes diabéticos têm aumento da liberação de MVS e isso pode ser um biomarcador da progressão diabética por retinopatia. A abordagem farmacológica é útil devido à disfunção endotelial. O bloqueador do sistema angiotensina-retiniana e o bloqueador dos canais de cálcio podem ser boas opções no diabetes mellitus tipo 2.²¹ Pinheiro et al.²² avaliaram o efeito do fármaco antiplaquetário clopidogrel associado ou não à rosuvastatina (40 mg) nos níveis de MPE e MPP em pacientes com doença coronária estável em estatinas durante pelo menos três meses. Esses autores identificaram um aumento nos níveis de MPP após suspensão da rosuvastatina e manutenção de apenas clopidogrel por quatro semanas e uma tendência para maior liberação de MPE nesses pacientes. Eles sugeriram que ocorreu um aumento na apoptose das plaquetas e que a rosuvastatina pode ter um efeito protetor no endotélio quando associado ao clopidogrel.²² Em estudo semelhante, França et al.,²³ avaliaram a influência da atorvastatina (80 mg) associada ou não ao clopidogrel em pacientes com doença coronária estável. Esses autores sugerem maior estabilidade vascular promovida pela atorvastatina após a identificação de uma relação inversa entre a concentração plasmática de atorvastatina e os níveis de MPP.²³

MVs têm uma membrana fosfolipídica bicamada.²⁴ A presença de PS externalizada nas superfícies das MVs indica um perfil de distribuição de fosfolípidos alterado em comparação com a membrana plasmática de uma célula de mamífero em repouso. Além disso, as moléculas presentes na superfície externa, uma vez definidas, fornecem marcadores acessíveis para a detecção e caracterização de MVs usando sondas moleculares.²⁵ As MVA expressam fosfatidilserina (PS) na sua superfície e são atualmente definidas como MVs apoptóticas. É mostrado que os níveis de AMVs foram significativamente mais elevados em pacientes com IM do que nos controles saudáveis. Isso é assim provavelmente devido à isquemia miocárdica e hipóxia que geram apoptose celular, liberando assim grandes quantidades de MVAs. Em cada caso, a variação nos níveis de MVAs mostra que ocorre apoptose celular. Um estudo in vitro descobriu que MVs extraídas do sangue circulante de um paciente com infarto do miocárdio e aplicadas aos anéis aórticos isolados de um rato, levaram a danos severos da função endotelial.²⁶ Assim, o alto nível de MVAs e seu efeito pode ser a causa da progressão do infarto do miocárdio.

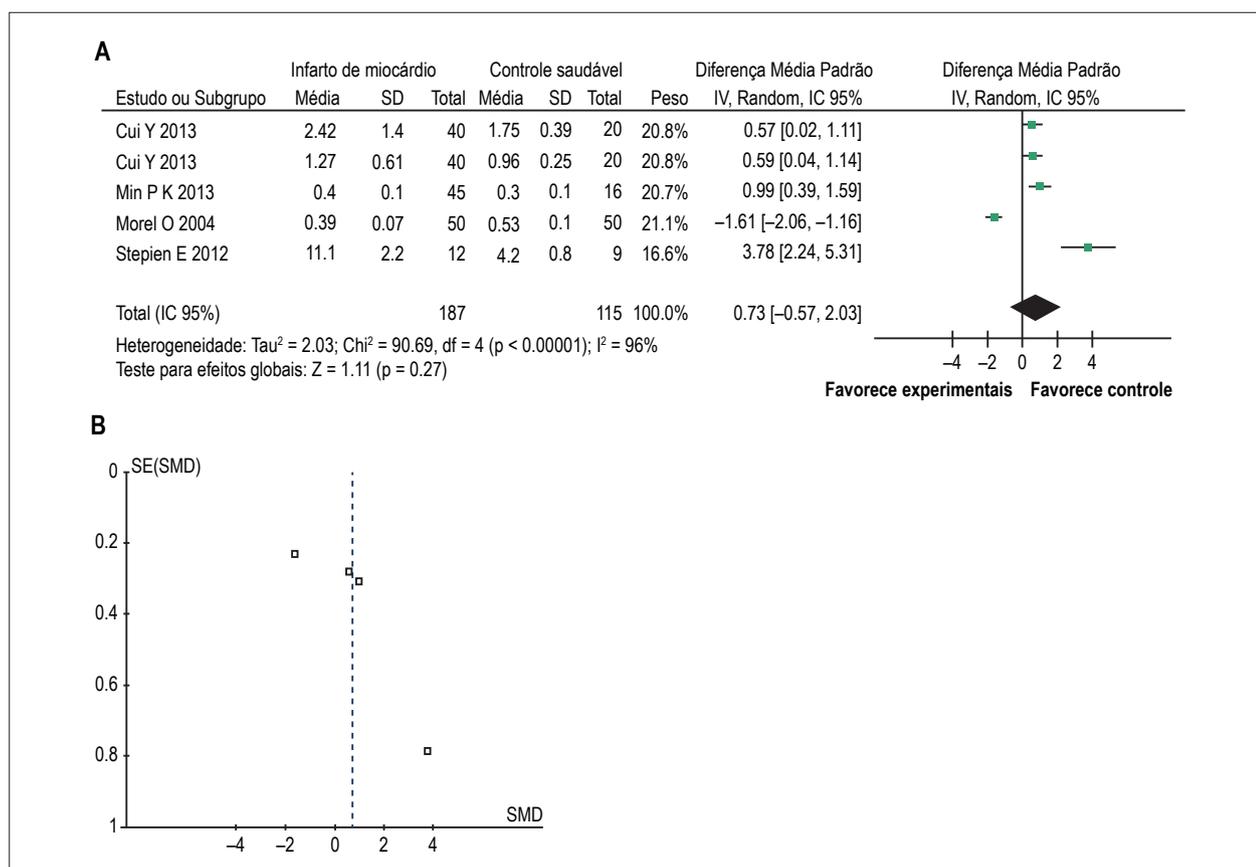


Figura 5 – O gráfico de meta-análise (A) e o gráfico de funil (B) da meta-análise de microvesículas de leucócitos no infarto do miocárdio.

As MVPs são definidas como vesículas membranosas derivadas das plaquetas que são definidas e identificadas pelas moléculas de superfície CD62P e CD63.²⁷ Com a capacidade de se ligar aos fatores de coagulação VIII, Va e IX, as MVPs não apenas refletem a ativação das plaquetas como também contribuem para a ativação da via de coagulação e da trombogênese.^{28,29} Verificou-se que existia um alto nível de MVPs no sangue periférico dos pacientes com IM. A causa principal pode ser a mudança da força de cisalhamento do fluxo sanguíneo induzida por alterações patológicas nos vasos sanguíneos dos pacientes com IM. Estas alterações promovem a agregação e ativação das plaquetas, conduzindo assim à geração de um grande número de MVPs. Isto sugere que o aumento de MVPs pode ser ainda mais expandido pela reação de coagulação dos vasos sanguíneos nos pacientes com IM.

A disfunção das células endoteliais desempenha um papel importante no IM. MVEs são vesículas da membrana subcelular liberadas da célula endotelial durante a ativação ou apoptose.³⁰ As MVEs carregam marcadores específicos que se originam das células maternas, incluindo CD31, CD51, CD54, CD62E, CD105, CD144 ou CD146. Verificou-se que as MVEs foram significativamente mais elevadas no grupo IM. Isso pode ser devido à disfunção das células endoteliais, que liberam abundantes MVEs no sangue. Quando as MVEs foram incubadas com células endoteliais de veias umbilicais humanas

(HUVECs), a proliferação de células endoteliais diminuiu e sua apoptose aumentou, então a capacidade de angiogênese caiu drasticamente.³¹ O alto nível de MVEs é considerado como uma causa da piora da condição induzindo disfunção endotelial nos estados de IM.

Ao contrário da única fonte de MVEs ou MVPs, as MVLs podem se originar de neutrófilos, monócitos/macrófagos e linfócitos.³² Elas também expressam marcadores de suas células parentais. Foram utilizados vários anticorpos para capturar MVLs, incluindo CD4, CD14, CD11a, etc. Combinada com os resultados clínicos, esta meta-análise constatou que não houve variação significativa no nível de MVLs entre os controles de saúde e pacientes com IM. Mas os estudos que usaram anticorpos CD4 e CD14, mostraram que o nível de MVLs foi maior em pacientes com IM. Quando o anticorpo CD11a foi usado, foi encontrada uma confusão de resultados contraditórios. Portanto, estudos adicionais são necessários para investigar mais o nível de MVLs em IM. Entretanto, a medição de MVLs, devido à sua falta de padronização, ainda requer técnicas elaboradas.

Limitações desta meta-análise devem ser consideradas. Em primeiro lugar, a qualidade dos estudos individuais nem sempre foi ótima, como é demonstrado pela falta geral de informação sobre alguns estudos. Assim, utilizamos desigualdades simples e elementares para estimar a média e a

variância desses estudos. Mas não é exatamente o suficiente. Em segundo lugar, há heterogeneidade de DMP entre os estudos, correspondendo em parte à heterogeneidade nas definições do estudo. Em terceiro lugar, embora a qualidade dos estudos incluídos tenha sido considerada globalmente adequada, os resultados do presente estudo precisam ser interpretados com cautela, uma vez que nem todos os estudos relataram potenciais variáveis de confusão e seu ajuste nas análises. Finalmente, os dados meta-analíticos também precisam ser cautelosamente interpretados, dada a heterogeneidade substancial entre os estudos.

Conclusão

Esta meta-análise mostrou que níveis mais elevados de MVAs, MVPs e MVEs no sangue periférico podem estar associados a pacientes com IM, indicando que essas MVs podem ser úteis no diagnóstico de IM. No entanto, o resultado de MVLs foi negativo.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa e Redação do manuscrito: Wang Z, Cai W; Obtenção de dados: Hu S;

Análise e interpretação dos dados: Xia Y; Análise estatística: Wang Y; Obtenção de financiamento e Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Zhang Q, Chen L.

Potencial conflito de interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo foi financiado pelo National Natural Science Foundation of China through grant n°. 81602496; Science and Technology Foundation of Administration of Traditional Chinese Medicine of Tianjin, China, nos 2015022 and 13047; Science and Technology Foundation of Tianjin Municipal Commission of Health and Family planning, n°. 2013KZ054.

Vinculação acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

Referências

1. Dahlof B. Cardiovascular disease risk factors: epidemiology and risk assessment. *Am J Cardiol*. 2010;105(1 Suppl):3A-9A.
2. Mastrorandi ML, Mostefai HA, Mezziani F, Martinez MC, Asfar P, Andriantsitohaina R. Circulating microparticles from septic shock patients exert differential tissue expression of enzymes related to inflammation and oxidative stress. *Crit Care Med* 2011;39(7):1739-48.
3. Boulanger CM, Scoazec A, Ebrahimian T, Henry P, Mathieu E, Tedgui A, et al. Circulating microparticles from patients with myocardial infarction cause endothelial dysfunction. *Circulation*. 2001;104(22):2649-52.
4. Mezentsev A, Merks RM, O'Riordan E, Chen J, Mendelev N, Goligorsky MS, et al. Endothelial microparticles affect angiogenesis in vitro: role of oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289(3):H1106-14.
5. Bernal-Mizrachi L, Jy W, Jimenez JJ, Pastor J, Mauro LM, Horstman LL, et al. High levels of circulating endothelial microparticles in patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J*. 2003;145(6):962-70.
6. Bulut D, Maier K, Bulut-Streich N, Borgel J, Hanefeld C, Mugge A. Circulating endothelial microparticles correlate inversely with endothelial function in patients with ischemic left ventricular dysfunction. *J Card Fail*. 2008;14(4):336-40.
7. Zielinska M, Koniarek W, Goch JH, Cebula B, Tybura M, Robak T, Smolewski P. Circulating endothelial microparticles in patients with acute myocardial infarction. *Kardiol Pol*. 2005;62(6):531-42.
8. van der Zee PM, Biro E, Ko Y, de Winter RJ, Hack CE, Sturk A, Nieuwland R. P-selectin- and CD63-exposing platelet microparticles reflect platelet activation in peripheral arterial disease and myocardial infarction. *Clin Chem*. 2006;52(4):657-64.
9. Cui Y, Zheng L, Jiang M, Jia R, Zhang X, Quan Q, et al. Circulating microparticles in patients with coronary heart disease and its correlation with interleukin-6 and C-reactive protein. *Mol Biol Rep*. 2013;40(11):6437-42.
10. Min PK, Kim JY, Chung KH, Lee BK, Cho M, Lee DL, et al. Local increase in microparticles from the aspirate of culprit coronary arteries in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2013;227(2):323-8.
11. Skeppholm M, Mobarrez F, Malmqvist K, Wallen H. Platelet-derived microparticles during and after acute coronary syndrome. *Thromb Haemost*. 2012;107(6):1122-9.
12. Stepien E, Stankiewicz E, Zalewski J, Godlewski J, Zmudka K, Wybranska I. Number of microparticles generated during acute myocardial infarction and stable angina correlates with platelet activation. *Arch Med Res*. 2012;43(1):31-5.
13. Leong HS, Podor TJ, Manocha B, Lewis JD. Validation of flow cytometric detection of platelet microparticles and liposomes by atomic force microscopy. *J Thromb Haemost*. 2011;9(12):2466-76.
14. Del Turco S, Basta G, Lazzarini G, Evangelista M, Rainaldi G, Tanganelli P, et al. Effect of the administration of n-3 polyunsaturated fatty acids on circulating levels of microparticles in patients with a previous myocardial infarction. *Haematologica*. 2008;93(6):892-9.
15. Morel O, Jesel L, Freyssinet JM, Toti F. Elevated levels of procoagulant microparticles in a patient with myocardial infarction, antiphospholipid antibodies and multifocal cardiac thrombosis. *Thromb J*. 2005;3:15.
16. Tan KT, Tayebjee MH, Macfadyen RJ, Lip GY, Blann AD. Elevated platelet microparticles in stable coronary artery disease are unrelated to disease severity or to indices of inflammation. *Platelets*. 2005;16(6):368-71.
17. Morel O, Hugel B, Jesel L, Mallat Z, Lanza F, Douchet MP, et al. Circulating procoagulant microparticles and soluble GPV in myocardial infarction treated by primary percutaneous transluminal coronary angioplasty: a possible role for GPIIb-IIIa antagonists. *J Thromb Haemost*. 2004;2(7):1118-26.
18. Matsumoto N, Nomura S, Kamihata H, Kimura Y, Iwasaka T. Increased level of oxidized LDL-dependent monocyte-derived microparticles in acute coronary syndrome. *Thromb Haemost*. 2004;91(1):146-54.

19. Michelsen AE, Brodin E, Brosstad F, Hansen JB. Increased level of platelet microparticles in survivors of myocardial infarction. *Scand J Clin Lab Invest*. 2008;68(5):386-92.
20. Hozo SP, Djulbegovic B, Hozo I. Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample. *BMC Med Res Methodol* 2005;5:13.
21. França CN, Izar MC, Amaral JB, Tegani DM, Fonseca FA. Microparticles as potential biomarkers of cardiovascular disease. *Arq Bras Cardiol*. 2015;104(2):169-74.
22. Pinheiro LF, França CN, Izar MC, Barbosa SP, Bianco HT, Kasma SH, et al. Pharmacokinetic interactions between clopidogrel and rosuvastatin: effects on vascular protection in subjects with coronary heart disease. *Int J Cardiol*. 2012;158(1):125-9.
23. França CN, Pinheiro LF, Izar MC, Brunialti MK, Salomão R, Bianco HT, et al. Endothelial progenitor cell mobilization and platelet microparticle release are influenced by clopidogrel plasma levels in stable coronary artery disease. *Circ J*. 2012;76(3):729-36.
24. Morel O, Jesel L, Freyssinet JM, Toti F. Cellular mechanisms underlying the formation of circulating microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(1):15-26.
25. Gyorgy B, Szabo TG, Pasztoi M, Pal Z, Misjak P, Aradi B, et al. Membrane vesicles, current state-of-the-art: emerging role of extracellular vesicles. *Cell Mol Life Sci*. 2011;68(16):2667-88.
26. Boulanger CM, Scoazec A, Ebrahimian T, Henry P, Mathieu E, Tedgui A, et al. Circulating microparticles from patients with myocardial infarction cause endothelial dysfunction. *Circulation*. 2001;104(22):2649-52.
27. Zwicker JJ, Lacroix R, Dignat-George F, Furie BC, Furie B. Measurement of platelet microparticles. *Methods Mol Biol*. 2012;788:127-39.
28. Morel O, Morel N, Freyssinet JM, Toti F. Platelet microparticles and vascular cells interactions: a checkpoint between the haemostatic and thrombotic responses. *Platelets*. 2008;19(1):9-23.
29. Sinauridze EI, Kireev DA, Popenko NY, Pichugin AV, Pantelev MA, Krymskaya OV, et al. Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb Haemost*. 2007;97(3):425-34.
30. Dignat-George F, Boulanger CM. The many faces of endothelial microparticles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(1):27-33.
31. Mezentsev A, Merks RM, O'Riordan E, Chen J, Mendelev N, Goligorsky MS, et al. Endothelial microparticles affect angiogenesis in vitro: role of oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289(3):H1106-14.
32. Angelillo-Scherrer A. Leukocyte-derived microparticles in vascular homeostasis. *Circ Res*. 2012;110(2):356-69.