

ARTIGO ORIGINAL

Avaliação do Polimorfismo -174 G/C do gene *IL-6* na Síndrome Coronariana Aguda no Nordeste do Brasil

Evaluation of IL-6 (-174 G/C) Polymorphism in Acute Coronary Syndrome in the Northeast of Brazil

Viviane do Carmo Vasconcelos de Carvalho¹, Lílian Caroliny Amorim Silva¹, Roberto Pereira Werkhauser¹, Sérgio Tavares Montenegro², Carlos Gustavo Regis da Silva³, Adriana Vieira Gomes⁴, Clarice Neuenschwander Lins de Morais⁵, Sílvia Maria Lucena Montenegro^{1*}

Laboratório de Imunopatologia e Biologia Molecular, Departamento de Imunologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (Fiocruz – PE)¹; Real Hospital do Coração, Real Hospital Português (RHP)²; Laboratório de Biologia Parasitária, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (Fiocruz – BA)³; Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Universidade de Pernambuco (UPE)⁴; Laboratório de Virologia e Terapia Experimental (LaViTE), Departamento de Virologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (Fiocruz – PE)⁵; Recife, PE – Brasil

Resumo

Fundamento: A síndrome coronariana aguda (SCA) é a principal causa de morbidade e mortalidade no mundo. É uma doença multifatorial causada por obstrução das artérias coronárias por placa aterosclerótica que leva à isquemia cardíaca. Diversos estudos sugerem que alguns polimorfismos genéticos alteram os níveis de citocinas e influenciam o desenvolvimento de SCA.

Objetivo: Neste estudo, avaliamos o polimorfismo -174 G/C do gene *IL-6*, níveis séricos de citocina e sua relação com SCA e escore de risco de *thrombolysis in myocardial infarction* (TIMI).

Materiais e métodos: Foram selecionados 200 pacientes com SCA [risco de TIMI – Baixo (70), Intermediário (89), Alto (41)] na população brasileira. A genotipagem foi feita pela reação em cadeia da polimerase (PCR), seguida de sequenciamento de DNA.

Resultados: Não houve diferenças significativas na distribuição dos genótipos ($p = 0,53$) e dos alelos ($p = 0,32$) entre grupos de pacientes com SCA e sem SCA no polimorfismo alélico do *IL-6*, nem entre os três escores de risco TIMI ($p > 0,05$). Além disso, o polimorfismo do *IL-6* não afetou os níveis de citocina, os quais não estavam relacionados ao escore de TIMI.

Conclusões: Com esses resultados, sugerimos que o polimorfismo -174 G/C do gene *IL-6*, até agora, não está relacionado à SCA e não alterou os níveis de citocina na população estudada. Novos estudos em populações diferentes devem ser feitos para verificar esses resultados. É importante enfatizar que, como a SCA é uma doença multifatorial, outros fatores de risco e outras citocinas pró-inflamatórias devem ser avaliadas para o conhecimento dessa patologia. (Int J Cardiovsc Sci. 2016;29(4):288-294)

Palavras-chave: Síndrome Coronariana Aguda, Isquemia Miocárdica, Polimorfismo Genético, Interleucina-6.

Abstract

Background: Acute coronary syndrome (ACS) is a leading cause of morbidity and mortality worldwide. It is a multifactorial disease caused by obstruction of the coronary arteries by atherosclerotic plaques and leads to heart ischemia. Several studies suggest that some genetic polymorphisms change the cytokines levels and influence ACS development.

Objective: In this study, we evaluated the *IL-6* polymorphism -174 G/C, serum levels of cytokine and its relationship with ACS and the *thrombolysis in myocardial infarction* (TIMI) risk score.

Correspondência: Sílvia Maria Lucena Montenegro

Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Departamento de Imunologia
Av. Professor Moraes Rego, s/n. CEP: 50.740-465, Recife, PE – Brasil
E-mail: silvia@cpqam.fiocruz.br

Materials and Methods: A sample of 200 patients with ACS [TIMI risk – Low (70); Intermediate (89); High (41)] in Brazilian population was used. Genotyping was carried out by polymerase chain reaction, followed by DNA sequencing.

Results: There was no significant differences in genotype ($p = 0.53$) and allele ($p = 0.32$) distributions between ACS patient and without ACS patients groups on IL-6 allelic polymorphism and between the three different TIMI risk score ($p > 0.05$). Moreover IL-6 polymorphism did not affect the cytokine levels and these levels were not related to the TIMI score.

Conclusions: With these results, we suggest that the IL-6 (-174 G/C) polymorphism, until now, is not related to ACS and did not change the levels of the cytokine in studied population. Further studies with different populations should be done to verify those results. It is important to emphasize that, since ACS is a multifactorial disease, other risk factors and other pro-inflammatory cytokines should be assessed to better understand this pathology. (Int J Cardiovasc Sci. 2016;29(4):288-294)

Keywords: Acute Coronary Syndrome; Myocardial Ischemia; Polymorphism, Genetic; Interleukin-6.

(Full texts in English - <http://www.onlineijcs.org>)

Introdução

A SCA é uma doença cardiovascular de grande importância mundial devido à sua alta mortalidade, resultando em 30% dos óbitos no mundo.¹ A SCA inclui infarto agudo do miocárdio (IAM) e angina instável (AI) causados por obstrução das artérias coronárias por placas ateroscleróticas que levam à isquemia do miocárdio.^{2,3}

Pacientes com SCA podem ser classificados de acordo com o risco de morte pelo escore TIMI. Essa classificação seleciona pacientes com risco de morte baixo, intermediário ou alto, de acordo com biomarcadores clínicos, anormalidades eletrocardiográficas e lesões miocárdicas.⁴

Essa doença tem um fenótipo multifatorial determinado por fatores genéticos e influenciado por fatores de risco como idade, gênero, tabagismo, diabetes, hipertensão arterial e dislipidemia.⁵

Na verdade, há evidências de que marcadores genéticos podem estar relacionados à susceptibilidade, expressão e desfecho de SCA, incluindo respostas terapêuticas.⁶ O polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) em certas regiões gênicas está associado a algumas doenças.^{7,8}

O SNP -174 G/C (rs1800795) na região promotora do gene da interleucina-6 (IL-6) foi associada à SCA.^{9,10} Alguns autores dizem que há atividade transcricional elevada na presença do alelo G e altos níveis de IL-6 sérica com consequente exacerbação da resposta inflamatória.^{9,11} Para outros, o alelo variante C é responsável pelo aumento de níveis séricos de IL-6,¹⁰⁻¹² e o genótipo CC está associado a doenças cardiovasculares.¹²

Devido a controvérsias encontradas na relação entre o gene IL-6 e SCA, estudos sobre esses polimorfismos são

uma ferramenta importante na prevenção primária da doença. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar a associação entre polimorfismos de IL-6 e risco de SCA.

Materiais e métodos

Estudo populacional

Através de um estudo transversal, analítico prospectivo, com comparações entre grupos, foram recrutados 200 pacientes (idade média: $61,8 \pm 10,3$) com SCA internados no Real Hospital Português (RHP), em Recife – Pernambuco, Brasil, entre 2012 e 2015. Pacientes usando medicamentos anti-inflamatórios, com trauma recente, processo inflamatório ou câncer foram excluídos do estudo.

O segundo grupo incluiu 50 pacientes (idade média: $58 \pm 15,9$) internados no RHP, mas sem diagnóstico de SCA.

Dados sobre fatores de risco e escore de TIMI foram coletados.

O Comitê de Ética do RHP aprovou o estudo (CAAE 03187512.2.0000.5202), de acordo com a Declaração de Helsinki. Todos os participantes assinaram formulários de consentimento livre e esclarecido. Avaliação por etnia não foi feita, pois estudos prévios sobre a população brasileira mostraram que cor da pele ou origem étnica auto-referida não são precisas como biomarcadores de descendência no Brasil.¹³

Genotipagem

Após extração de DNA com “illustra genomicPrep blood Mini Spin kit”, foi feita a amplificação do gene IL-6 pela polymerase chain reaction (PCR) com Platinum Taq DNA polymerase (Invitrogen Life Technologies).

Foram utilizados os seguintes pares de iniciadores: Forward 5'AGC CTC AAT GAC GAC AGC ATC3' e Reverse 5'GTC ACT GGA TGA GAT GGC TCA TT3'. As condições de amplificação foram: desnaturação inicial (94°C por 2 minutos), e depois 35 ciclos de desnaturação (94°C, 1 minuto), anelamento (65°C, 1 minuto), extensão (68°C, 1 minuto) e extensão final de 68°C por 5 minutos. Como controle negativo, foram usados reagentes sem DNA. Os fragmentos foram visualizados em gel de agarose (1%) e submetidos ao sequenciamento de DNA no Núcleo de Plataformas Tecnológicas do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM- Fiocruz-PE), com ABI 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) para exibir os alelos.

Níveis séricos de IL-6

A citocina IL-6 foi medida no plasma dos pacientes por *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA; Quantikine kit R&D Systems, Minneapolis, MN), de acordo com a instruções do manual (mínimo detectável < 0,70 pg/mL).

Análise Estatística

O teste do qui-quadrado (χ^2) foi usado para verificar o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Diferenças nas frequências de genótipos e alelos entre grupos foram comparadas por meio do teste G de Williams. Odds ratios (ORs) e intervalo de confiança (IC) também foram calculados. Foi usada uma regressão logística multinomial, com TIMI de baixo risco como referência, para comparar a distribuição dos genótipos e alelos dentre os diferentes escores TIMI. Para comparar níveis plasmáticos de IL-6 entre os grupos, foi utilizado o teste Kruskal Wallis. Foi utilizado o software BioEstat, versão 5.3 (Belém, PA, Brasil).¹⁴ Dados foram considerados estatisticamente significativos quando valor de $p < 0,05$.

Resultados e discussão

Neste estudo, a idade média foi de 67,5 ($\pm 14,2$) e 60 ($\pm 12,2$) anos de idade para mulheres e homens, respectivamente. De acordo com Magee et al.,¹⁵ a idade média de risco para SCA é a partir dos 60 anos para homens e a partir dos 70 anos para mulheres, em concordância com nossos resultados. Já para Overbaugh,¹⁶ a idade média de risco é a partir dos 45 anos para homens e 55 anos para mulheres.

A maioria dos pacientes eram homens, totalizando 56,0% no grupo sem SCA e 76,5% no grupo com SCA ($p = 0,006$) (Tabela 1). Esses resultados confirmam os dados relatados na literatura,^{5,17} que sugerem que homens têm maior probabilidade de desenvolver doenças cardiovasculares. A prevalência de homens no grupo com SCA, assim como vemos em um estudo de Lemos et al.⁵ (63,8%), pode ser explicada pelo fato de mulheres terem mais cuidados com a saúde, e homens serem mais expostos a fatores de risco para SCA, como tabagismo e obesidade.¹⁵ Ademais, o hormônio feminino estrógeno parece exercer maior proteção contra aterosclerose.¹⁷

Enquanto no grupo sem SCA, fumantes, diabéticos e dislipidêmicos representaram 10,0%, 26,0% e 15,2%, respectivamente, esses valores eram mais altos no grupo com SCA (30,5%, 45,5% e 63,0%, respectivamente), com diferenças significativas entre os grupos ($p = 0,01$, $p = 0,02$ e $p < 0,0001$, respectivamente) (Tabela 1).

Um estudo de Piegas et al.,¹⁸ com 2.693 pacientes brasileiros com SCA, encontrou um perfil de 26,5% de fumantes, 27,8% de diabéticos e 45,7% de dislipidêmicos. Embora estes sejam considerados fatores de risco clássicos para doenças cardiovasculares, é notável neste estudo que a maioria dos pacientes com SCA eram não fumantes e não eram diabéticos, indicando que outros fatores estão envolvidos nesta doença.

A importância da dislipidemia, presente em 63% dos pacientes com SCA neste estudo, é devido ao fato de que o colesterol pode ser depositado na parede vascular e é uma molécula potencialmente inflamatória e aterogênica.¹⁹

A maioria dos indivíduos, com e sem SCA, apresentou hipertensão arterial: 78,5% e 69,6% respectivamente ($p = 0,27$). Também no estudo de Piegas et al. (2013),¹⁸ a hipertensão estava presente em 69,8% dos pacientes. Este fator de risco, mesmo isolado, é um preditor importante de doença cardiovascular.²⁰ Um estudo feito por Rhéaume et al.,²¹ que acompanhou 9.580 homens e 12.250 mulheres europeias durante 11 anos, relatou que pacientes com hipertensão tinham aproximadamente 3,0 vezes mais chance de desenvolver doença cardíaca coronária.

A população do estudo estava dentro do equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$). As frequências de genótipos de pacientes com SCA foram: 109 (54,4%) GG, 80 (40,0%) GC e 11 (5,5%) CC. A frequência do alelo C foi de 25,5%. O grupo de pacientes sem SCA teve a seguinte distribuição: 23 (46,0%) GG e GC, 4 (8,0%) CC e 31,0%

Tabela 1
Características biológicas, clínicas e estilo de vida dos pacientes com e sem SCA

CARACTERÍSTICAS	SCA (n = 200)		Sem SCA (n = 50)		OR	95% IC	p
	n	%	n	%			
Gênero							
Homens	153	76,5	28	56,0	1		
Mulheres	47	23,5	22	44,0	0,39	0,20-0,74	0,006
*Tabagismo							
Não	139	69,5	41	82,0	1		
Sim	61	30,5	5	10,0	3,6	1,35-9,55	0,01
*Diabetes							
Não	109	54,5	34	74,0	1		
Sim	91	45,5	12	26,0	2,36	1,15-4,83	0,02
*Hipertensão							
Não	43	21,5	14	30,4	1		
Sim	157	78,5	32	69,6	1,59	0,78-3,25	0,27
*Dislipidemia							
Não	75	37,5	39	84,8	1		
Sim	126	63,0	7	15,2	9,36	3,98-21,98	< 0,0001

*n: número de pacientes estudados; OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança; p < 0,05; *Quatro pacientes sem informação foram excluídos da análise estatística*

do alelo C. A frequência genotípica dos portadores do alelo C (GC + CC) não diferiram dos pacientes GG ($p = 0,35$) (Tabela 2).

Da mesma forma, Ghazouani et al.,²² em estudo com 418 pacientes, não encontraram associação entre genótipo de IL-6 e o risco de doença arterial coronariana (DAC) em pacientes tunisianos. Ao contrário, Satti et al.,¹² em estudo com 36 pacientes paquistaneses, e Tonet et al.⁹ com 175 pacientes da região centro-oeste do Brasil, observaram que existe uma associação entre o polimorfismo em IL-6 e o risco de desenvolvimento de DAC, demonstrando a importância do estudo em populações específicas. Embora esses dois estudos apresentem associação de risco, o baixo número amostral sugere a necessidade de mais estudos para confirmação dos resultados.

Níveis séricos medianos de IL-6 produzidos por pacientes com SCA não foram diferentes entre pacientes GG e portadores do alelo C (18,91 pg/ml,

12,56 pg/ml, respectivamente; $p = 0,21$ - teste Kruskal-Wallis). Resultados similares foram encontrados por Nauck et al.²³ em estudo conduzido com 942 pacientes alemães. Isso talvez possa ser explicado pela produção localizada de IL-6 em tecido específico, ao passo que concentrações de IL-6 sistêmicas permanecem inalteradas.²⁴ Enquanto Satti et al.¹² viram que o genótipo CC estava associado a altos níveis séricos de IL-6 em pacientes paquistaneses, e que este genótipo estava associado a um risco elevado de DAC, Tonet et al.⁹ observaram uma associação desta doença com o alelo G em pacientes brasileiros.

Dos 200 pacientes do presente estudo, 70 tinham baixo risco TIMI, 89 tinham risco intermediário e 41 tinham alto risco. As frequências de genótipos de pacientes com baixo risco eram: 45 (64,3%) GG, 21 (30,0%) GC, 4 (5,7%) CC e 20,7% do alelo C. Para pacientes com risco intermediário, as frequências eram: 42 (47%) GG, 41 (46,1%) GC, 6 (6,7%) CC e 29,8%

do alelo C. Finalmente, para o grupo de alto risco, 22 (53,6%) apresentaram o genótipo GG, 18 (44,0%) GC, 1 (2,4%) genótipo CC e 24,4% o alelo C.

Quando o grupo de baixo risco foi usado com referência numa regressão logística multinomial, portadores do alelo C (GC + CC) eram mais frequentes no grupo de risco intermediário (52,8%) do que no grupo de baixo risco (35,7%) ($p = 0,046$) (Tabela 3). Apesar disso, níveis séricos medianos de IL-6 em grupos de risco baixo, intermediário e alto foram similares (13,5 pg/mL, 16,20 pg/mL and 18,65 pg/mL,

respectivamente; $p = 0,83$ - Kruskal-Wallis) e não foram influenciados pelo genótipo.

Além disso, não foi encontrada associação entre níveis séricos de IL-6 e SCA, mas portadores do alelo C apareceram mais frequentemente no grupo de risco intermediário do que no grupo de baixo risco. Wypasek et al.²⁵ mostraram que pacientes com DAC portadores do alelo C podem produzir altos níveis séricos de proteína C-reativa, importante proteína hepática que também influencia o processo inflamatório e pode aumentar o risco relativo de DAC.

Tabela 2
Frequência dos genótipos de pacientes com e sem SCA

Genótipo	SCA (n = 200)		Sem SCA (n = 50)		p*	OR	95% IC	p
	n	%	n	%				
<i>IL6 (rs1800795)</i>								
GG	109	54,5	23	46,0	0,53	1	referência	-
GC/CC	91	45,5	27	54,0	0,35	0,71	0,38 – 1,32	0,35
Alelos								
G	298	74,5	69	69,0				
C	102	25,5	31	31,0				

n: número de pacientes estudados; *p: teste G de Williams; OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança; $p < 0,05$.

Tabela 3
Regressão logística multinomial para distribuição de genótipos em escores de TIMI

Genótipo	Intermediário (n = 89)		OR	95% IC	Valor de p	Alto (n = 41)		OR	95% IC	Valor de p
	n	%				n	%			
<i>IL6</i>										
GG	42	47,2	1,00	-	-	22	53,7	1,00	-	-
GC/CC	47	52,8	0,49	0,26 – 0,94	0,046	19	46,3	0,64	0,29 – 1,41	0,366
Alelo										
G	125	70,2				62	75,6			
C	53	29,8				20	24,4			

n: número de pacientes estudados; OR: odds ratio; IC: intervalo de confiança; $p < 0,05$.

De fato, considerando que se trata de uma doença multifatorial, outras variáveis como fatores de risco e o estudo de mais citocinas pró-inflamatórias são importantes para o entendimento dessa patologia. Devido a todos os contratemplos envolvidos em polimorfismos de citocinas e desenvolvimento de doenças, é notável que populações devam ser avaliadas individualmente. É importante enfatizar que nenhum polimorfismo isolado pode dar o diagnóstico ou a exclusão de SCA, e sua presença deve sempre ser considerada dentro do contexto clínico.

Este é o primeiro estudo que verifica se há associação entre a distribuição do genótipo de *IL-6* e os riscos TIMI. Portanto, mais estudos serão necessários para permitir uma comparação entre os resultados.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz -PE) pelo uso de suas tecnologias.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Carvalho VCV, Werkhauser RP, Montenegro ST, Silva CGR, Morais CNL, Montenegro SML. Obtenção de dados: Carvalho VCV, Silva LCA, Montenegro ST, Silva CGR, Morais CNL, Montenegro SML. Análise e interpretação dos

dados: Carvalho VCV, Silva LCA, Werkhauser RP, Montenegro ST, Silva CGR, Gomes AV, Morais CNL, Montenegro SML. Análise estatística: Carvalho VCV, Werkhauser RP, Gomes AV, Montenegro SML. Obtenção de financiamento: Werkhauser RP, Silva CGR, Morais CNL, Montenegro SML. Redação do manuscrito: Carvalho VCV, Silva CGR, Montenegro SML. Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Carvalho VCV, Werkhauser RP, Montenegro ST, Silva CGR, Gomes AV, Morais CNL, Montenegro SML.

Potencial Conflito de Interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado por Proep APQ 1620 4.01/15.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Viviane do Carmo Vasconcelos de Carvalho pelo Programa de Pós Graduação em Biociências e Biotecnologia em Saúde do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – FIOCRUZ, PE.

Referências

- World Health Organization. (WHO). The top 10 causes of death. [Cited in 2015 Apr 10]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index-4.html>
- Birnbaum Y, Wilson JM, Fiol M, de Luna AB, Eskola M, Nikus K. ECG Diagnosis and Classification of Acute Coronary Syndromes. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2014;19(1):4-14.
- Crea F, Liuzzo G. Pathogenesis of acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(1):1-11.
- Eagle KA, Lim MJ, Dabbous OH, Pieper KS, Goldberg RJ, Van de Werf F, et al; GRACE Investigators. A validated prediction model for all forms of acute coronary syndrome: estimating the risk of 6-month postdischarge death in an international registry. *JAMA.* 2004;291(22):2727-33.
- Lemos KF, Davis R, Moraes MA, Azzolin K. [Prevalence of risk factors for acute coronary syndrome in patients treated in an emergency service]. *Rev Gaucha Enferm.* 2010;31(1):129-35.
- Vasan RS. Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations. *Circulation.* 2006;113(19):2335-62.
- do Carmo Vasconcelos de Carvalho V, de Macedo JL, de Lima CA, da Conceição Gomes de Lima M, de Andrade Heraclio SD, Amorim M, et al. IFN-gamma and IL-12B polymorphisms in women with cervical intraepithelial neoplasia caused by human papillomavirus. *Mol Biol Rep.* 2012;39(7):7627-34.
- de Miranda DO, Barros JE, Vieira MM, Lima EL, Moraes VL, da Silva HA, et al. Reduced folate carrier-1 G80a gene polymorphism is associated with neuroblastoma's development. *Mol Biol Rep.* 2014;41(8):5069-75.
- Tonet AC, Karnikowski M, Moraes CF, Gomes L, Karnikowski MG, Cordova C, et al. Association between the -174 G/C promoter polymorphism of the interleukin-6 gene and cardiovascular disease risk factors in Brazilian older women. *Braz J Med Biol Res.* 2008;41(1):47-53.
- Bruunsgaard H, Christiansen L, Pedersen AN, Schroll M, Jorgensen T, Pedersen BK. The *IL-6*-174G > C polymorphism is associated with cardiovascular diseases and mortality in 80-year-old humans. *Exp Gerontol.* 2004;39(2):255-61.
- Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (*IL-6*) gene on *IL-6* transcription and plasma *IL-6* levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest.* 1998;102(7):1369-76.
- Satti HS, Hussain S, Javed Q. Association of interleukin-6 gene promoter polymorphism with coronary artery disease in Pakistani families. *Scientific World Journal.* 2013;2013:538365.
- Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100(1):177-82.
- Ayres M, Ayres M Jr, Ayres DL, Santos AA. *BioEstat5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas.* Belém (PA):Brasil. 2007. p. 1-324.

15. Magee RF, Lacerda EC, Borges GF, Daher GA, Macedo RG, Nogueira AC, et al. Síndrome coronariana aguda: uma revisão. *Rev Med Saude Brasilia*. 2012;1(3):174-89.
16. Overbaugh KJ. Acute coronary syndrome. *Am J Nurs*. 2009;109(5):42-52.
17. Mendelsohn ME. Protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *Am J Cardiol*. 2002;89(12A):12E-7E.
18. Piegas LS, Avezum A, Guimaraes HP, Muniz AJ, Reis HJ, dos Santos ES, et al. Acute coronary syndrome behavior: results of a Brazilian registry. *Arq Bras Cardiol*. 2013;100(6):502-10.
19. Grundy SM, Cleeman JJ, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB, et al; National Heart, Lung, and Blood Institute; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*. 2004;110(2):227-39. Erratum in: *Circulation*. 2004;110(6):763.
20. Kannel WB, Dawber TR, McGee DL. Perspectives on systolic hypertension: the Framingham study. *Circulation*. 1980;61(6):1179-82.
21. Rheaume C, Arsenault BJ, Despres JP, Faha, Boekholdt SM, Wareham NJ, et al. Impact of abdominal obesity and systemic hypertension on risk of coronary heart disease in men and women: the EPIC-Norfolk Population Study. *J Hypertens*. 2014;32(11):2224-30.
22. Ghazouani L, Abboud N, Ben Hadj Khalifa S, Added F, Ben Khalfallah A, Nsiri B, et al. -174G > C interleukin-6 gene polymorphism in Tunisian patients with coronary artery disease. *Ann Saudi Med*. 2011;31(1):40-4.
23. Nauck M, Winkelmann BR, Hoffmann MM, Bohm BO, Wieland H, Marz W. The interleukin-6 G(-174)C promoter polymorphism in the LURIC cohort: no association with plasma interleukin-6, coronary artery disease, and myocardial infarction. *J Mol Med (Berl)*. 2002;80(8):507-13.
24. Endler G, Marsik C, Joukhadar C, Marculescu R, Mayr F, Mannhalter C, et al. The interleukin 6 G(-174)C promoter polymorphism does not determine plasma Interleukin 6 concentrations in experimental endotoxemia in humans. *Clin Chem*. 2004;50(1):195-200.
25. Wypasek E, Undas A, Sniezek-Maciejewska M, Kapelak B, Plicner D, Stepień E, et al. The increased plasma C-reactive protein and interleukin-6 levels in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery are associated with the interleukin-6-174G > C gene polymorphism. *Ann Clin Biochem*. 2010;47(Pt 4):343-9.