

O PAPEL DA MONOCITOSE NO INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO DE RATOS WISTAR CAUSADO POR ISOPROTERENOL.

THE ROLE OF MONOCYTOSIS IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION IN WISTAR RATS CAUSED BY ISOPROTERENOL.

Guilherme Delponte **SAGRILLO**¹, Laura Maria Viscardi **BRIGHENTI**¹, Lucca Felipe L. C. de Macedo **CAMPOS**¹, Luiz Felipe De Mio **GEARA**¹, Matheus Tiseu **RUGGERI**¹, Vinícius Bocchino **SELEME**¹, Luiz Fernando **KUBRUSLY**², Odair de Floro **MARTINS**², Luiz Felipe K. **MENDES**².

Rev. Méd. Paraná/1420

Sagrillo GD, Brighenti LMV, Campos LFLCM, Geara LFM, Ruggeri MT, Seleme VB, Kubrusly LF, Martins OF, Mendes LF. O Papel da Monocitose no Infarto Agudo do Miocárdio de Ratos Wistar Causado por Isoproterenol. Rev. Méd. Paraná, Curitiba, 2016;74(2):55-61.

RESUMO - Objetivo deste estudo é avaliar a relação entre IAM com a elevação de monócitos e avaliar os níveis de monócitos com os níveis dos marcadores de necrose miocárdica (CPK, TcT US). No grupo Teste (10 ratos) foi administrado isoproterenol 150mg/kg/dia por 2 dias consecutivos (via SC). No Controle (10 ratos), 2ml de solução salina. Após 24h da última aplicação, foi feita a eutanásia. Foi coletado sangue para análise laboratorial. A média de monócitos no grupo Controle foi de 5,6/100 células e no grupo Teste foi de 8,8/100 células ($p=0,009$). A taxa de mortalidade foi de 50%. Quanto ao peso, os grupos não tiveram diferença significativa. Feita análise da CPK, não houve diferença significativa entre os grupos, assim como na troponina T US. A maioria dos animais do grupo Teste (80%) obtiveram valores de TcT US maiores que o valor de referência. Houve um aumento monocitário significativo após o IAM.

DESCRITORES - Monocitose, Infarto Agudo do Miocárdio, Experimental.

INTRODUÇÃO

O infarto agudo do miocárdio (IAM) é definido como foco de necrose resultante de baixa perfusão tecidual, com sinais e sintomas consequentes da morte celular cardíaca. ⁽¹⁾

Na maioria dos países a doença isquêmica do coração representa uma das principais causas de óbito em homens e mulheres acima de trinta anos de idade. ⁽²⁾

Antigamente essas comorbidades eram consideradas causa importante de óbito somente em países desenvolvidos. Hoje, com um maior controle das doenças infecto-parasitárias e consequente aumento da longevidade nos países em desenvolvimento, essa doença tem atingido um número cada vez maior de pessoas em uma faixa etária cada vez mais baixa. ⁽³⁾

Os monócitos, em uma fase inicial, parecem atuar como mediadores de lesão miocárdica, uma

vez que a resposta de atenuação de monócitos inflamatórios com RNA curto de interferência (siRNA), inibidores da enzima de conversão da angiotensina, ou esplenectomia reduziu significativamente o tamanho do enfarte em modelos experimentais. ⁽⁴⁾

A caracterização da resposta de monócitos de ratos após IAM foi amplamente dependido da análise de proteínas de superfície celular. Durante o IAM em ratos e, possivelmente, seres humanos, monócitos do baço e da medula óssea são recrutados para miocárdio isquêmico através do sangue de uma forma coordenada e produzem citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral e interleucina-1 β . ⁽⁵⁾

Este estudo irá avaliar a relação independente entre infarto agudo do miocárdio em ratos com a elevação de monócitos isoladamente.

Além de avaliar também os níveis absolutos de monócitos com os níveis dos marcadores de necrose miocárdica (CPK, troponina T ultrasensível).

Trabalho realizado no Hospital Universitário Evangélico de Curitiba e Instituto de Pesquisa Denton Cooley, Curitiba, PR, Brasil.

1 - Acadêmico do Curso de Medicina da Faculdade Evangélica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

2 - Professor do Curso de Medicina da Faculdade Evangélica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

MATERIAL E MÉTODO

ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade Evangélica de Curitiba.

Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com os padrões éticos estabelecidos pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Faculdade Evangélica do Paraná.

AMOSTRA

Foram utilizados 20 ratos jovens, machos, com peso entre 200 e 250 gramas (média 230), da linhagem Wistar, provenientes do Biotério da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, criados e mantidos sob condições ambientais e alimentares semelhantes. Eles foram divididos em dois grupos com 10 animais cada, o primeiro grupo denominado CONTROLE, e o segundo denominado TESTE.

AMBIENTE DE EXPERIMENTAÇÃO

Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, alojadas em dependências refrigeradas ($24 \pm 2^\circ\text{C}$). Foi observada a alternância dos ciclos claro/escuro a cada 12 horas. Os ratos foram alimentados com uma dieta industrializada específica para o uso em laboratórios. A higienização das gaiolas e o exame dos animais foram realizados diariamente pelo técnico responsável e pelo pesquisador, respectivamente. Os animais permaneceram em jejum e sem oferta de água, a partir de 12 horas antecedentes à aplicação da anestesia, a qual precedeu o sacrifício, para coleta do sangue.

INDUÇÃO DO INFARTO

Com a finalidade de induzir o infarto agudo do miocárdio, foi realizada a administração subcutânea de isoproterenol nos animais do grupo Teste, numa dose de 150 mg/kg/dia diluída em 2 ml de solução salina durante dois dias consecutivos, com intervalo de 24 horas entre as aplicações. Já no grupo Controle foi realizada a aplicação, por meio da administração subcutânea, de 2 ml de solução salina durante dois dias consecutivos, também com um intervalo de 24 horas entre as aplicações. As doses administradas no grupo Teste foram calculadas com base no peso dos animais. Para aferição da quantidade exata de isoproterenol (150 mg/kg do animal) foi utilizada uma balança analítica.

ANESTESIA

Vinte e quatro horas após a última aplicação subcutânea foi aplicado a anestesia para realização do sacrifício dos animais. A técnica anestésica envolveu o uso de cloridrato de cetamina na dose de 50 mg/kg do

animal e cloridrato de xilasina na dose de 10 mg/kg do animal, ambas aplicadas por via intraperitoneal.

COLETA DO SANGUE

Vinte e quatro horas após a última aplicação do isoproterenol no grupo Infarto e de soro fisiológico no grupo Controle, foi realizado o sacrifício, seguido da coleta de sangue. A coleta do sangue foi efetuada por meio de uma punção cardíaca com um jelco descartável de número 24 (24 gauge). Com o uso de uma seringa descartável de 5 mL, acoplada ao jelco, foram colhidos 5 mL de sangue. Desse volume, 2 mL foram armazenados em um tubo para realização de leucograma com contagem diferencial de monócitos (num campo de 100 células) e 3 mL em um tubo para as dosagens bioquímicas (troponina T ultrasensível e CPK). Os tubos, devidamente identificados, foram então postos em um isopor com gelo e enviados ao laboratório.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Foram analisados os pesos dos animais antes do experimento, o valor de CPK de cada animal, a quantidade de monócitos num campo de 100 células e o valor da troponina T ultrasensível de cada animal após o experimento, além do número de óbitos no grupo Infarto durante o experimento. Para descrição das variáveis quantitativas foram consideradas as estatísticas de média, 1º quartil, mediana, 3º quartil, valor mínimo, valor máximo e desvio padrão. Para descrição da evolução do número de óbitos foram consideradas frequências e percentuais. Para comparação dos dois grupos considerados no estudo, em relação a variáveis quantitativas, foram considerados os testes t de Student para amostras independentes e não paramétrico de Mann-Whitney. Para avaliação da condição de normalidade das variáveis quantitativas foi considerado o teste de Jarque-Béra. Valores de p menores do que 0,05 indicaram significância estatística.

RESULTADOS

PESO DOS ANIMAIS DO EXPERIMENTO

Testou-se a hipótese nula de peso médio dos ratos do grupo controle igual ao peso médio dos ratos do grupo teste versus a hipótese alternativa de médias diferentes. O peso médio dos animais do grupo controle foi de 243 gramas e o do grupo teste foi de 247,4 gramas, com valor de p demonstrando que não houve diferença significativa entre os grupos. Na tabela 1 são apresentadas as estatísticas descritivas desta variável nos dois grupos, bem como o valor de p do teste estatístico.

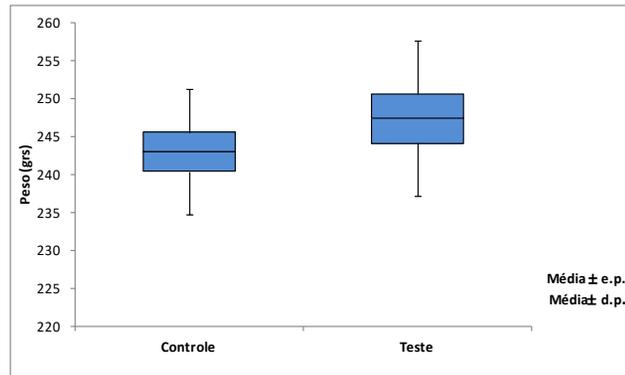
TABELA 1 – PESO DOS ANIMAIS DO EXPERIMENTO

Grupo	n	Média	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Mínimo	Máximo	Desv Pad	Valor de p*
Controle	10	243,0	236,3	242,5	250,0	230,0	255,0	8,2	0,304
Teste	10	247,4	241,0	245,0	252,3	235,0	265,0	10,3	

(*) Teste t de Student para amostras independentes; $p < 0,05$

No gráfico 1 podem ser visualizados os resultados.

GRÁFICO 1 - PESO DOS ANIMAIS DO EXPERIMENTO



NÚMERO DE ÓBITOS NO GRUPO TESTE

Os percentuais da tabela abaixo foram calculados em relação aos 10 ratos incluídos no grupo teste. Com o início do experimento no dia 08/10/15 houve 1 óbito logo após a administração do isoproterenol. No segundo dia do experimento, o qual teve nova aplicação de medicamento (09/10/2015) foram verificados 3 óbitos. No último dia do experimento, no qual não foi administrado o medicamento, foi verificado 1 óbito. Ao final do experimento houve uma mortalidade total de 50% dos animais do grupo teste, segundo tabela 2.

TABELA 2 - NÚMERO DE ÓBITOS NO GRUPO TESTE

Dia	Nº de óbitos	%	Nº de óbitos acumulado	% acumulado
08/10/2015	1	10,0%	1	10%
09/10/2015	3	30,0%	4	40%
10/10/2015	1	10,0%	5	50%

No gráfico 2 podem ser visualizados os resultados.

GRÁFICO 2 - NÚMERO DE ÓBITOS NO GRUPO TESTE



CPK

Testou-se a hipótese nula de resultados de CPK iguais nos dois grupos versus a hipótese alternativa de resultados diferentes. Segundo as análises não houve diferença significativa dos valores de CPK entre os grupos Controle e Teste. Na tabela 3 são apresentadas as estatísticas descritivas desta variável nos dois grupos, bem como o valor de p do teste estatístico.

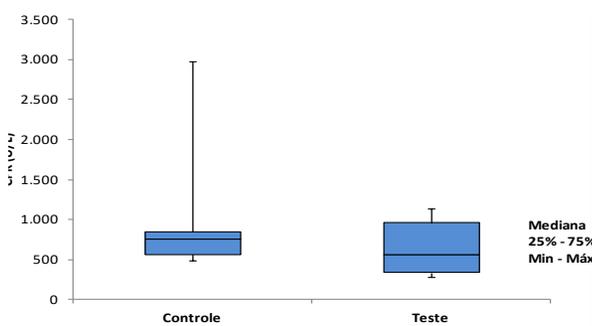
TABELA 3 - RESULTADO CPK DOS GRUPOS CONTROLE E TESTE

Grupo	n	Média	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Mínimo	Máximo	Desv Pad	Valor de p*
Controle	10	986,2	563,8	758,5	850,0	489,0	2985,0	760,1	0,329
Teste	6	649,3	333,3	563,0	959,3	279,0	1143,0	378,6	

(*) Teste não paramétrico de Mann-Whitney; $p < 0,05$

No gráfico 3 podem ser visualizados os resultados.

GRÁFICO 3 - RESULTADO CPK DOS GRUPOS CONTROLE E TESTE



MONÓCITOS/100 CÉLULAS

Testou-se a hipótese nula de resultados de contagem de monócitos/100 células iguais nos dois grupos versus a hipótese alternativa de resultados diferentes. A partir dos resultados verificou-se que houve diferença significativa da contagem de monócitos num campo de 100 células entre os grupos controle e teste. Percebe-se que a média de monócitos no grupo Controle foi de 5,6 e no grupo Teste foi de 8,8. Na tabela 4 são apresentadas as estatísticas descritivas desta variável nos dois grupos, bem como o valor de p do teste estatístico.

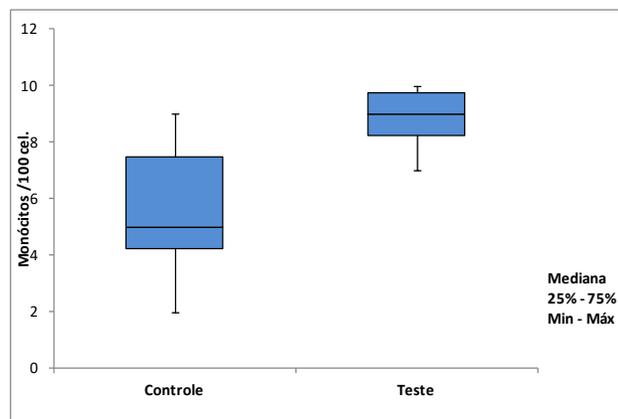
TABELA 4 - QUANTIDADE DE MONÓCITOS/100 CÉLULAS NOS GRUPOS TESTE E CONTROLE

Grupo	n	Média	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Mínimo	Máximo	Desv Pad	Valor de p*
Controle	10	5,6	4,3	5,0	7,5	2,0	9,0	2,2	0,009
Teste	6	8,8	8,3	9,0	9,8	7,0	10,0	1,2	

(*) Teste não paramétrico de Mann-Whitney; p<0,05

No gráfico 4 podem ser visualizados os resultados.

GRÁFICO 4 - QUANTIDADE DE MONÓCITOS/100 CÉLULAS NOS GRUPOS TESTE E CONTROLE



TROPONINA T ULTRASSENSÍVEL

Testou-se a hipótese nula de média de troponina dos ratos do grupo controle igual à média de troponina dos ratos do grupo teste versus a hipótese alternativa de médias diferentes. Na tabela 5 são apresentadas as estatísticas descritivas desta variável nos dois grupos, bem como o valor de p do teste estatístico.

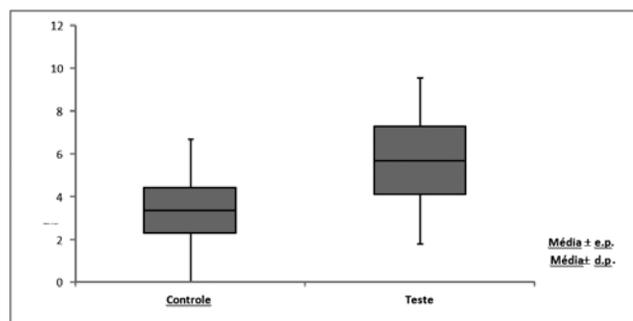
TABELA 5 - RESULTADO DA TROPONINA T US DOS GRUPOS CONTROLE E TESTE

Grupo	n	Média	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Mínimo	Máximo	Desv Pad	Valor de p*
Controle	10	3,4	1,2	1,8	5,3	0,2	10,0	3,3	0,222
Teste	6	5,7	2,7	6,0	8,8	0,9	10,0	3,9	

(*) Teste t de Student para amostras independentes; p<0,05

No gráfico 5 podem ser visualizados os resultados.

GRÁFICO 5 - RESULTADO DA TROPONINA T US DOS GRUPOS CONTROLE E TESTE



Considerando o ponto de corte de 3 ng/ml (segundo literatura) testou-se a hipótese nula de que a probabilidade de um rato no grupo teste ter troponina maior

que 3 ng/ml é igual à probabilidade de que um rato do grupo controle ter troponina maior que 3 ng/ml versus a hipótese alternativa de probabilidades diferentes.

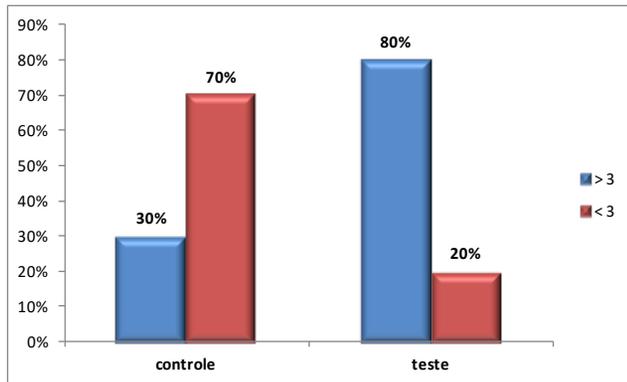
Na tabela 6 são apresentados os resultados obtidos no estudo, bem como o valor de p do teste estatístico.

TABELA 6 - COMPARAÇÃO DOS VALORES DA TROPONINA T US DO GRUPO TESTE COM O VALOR DE REFERÊNCIA DA LITERATURA

Troponina	Grupo			
	Controle		Teste	
	n	%	n	%
> 3	3	30%	4	80%
< 3	7	70%	1	20%
Total	10	100%	5	100%
Valor de p:	0,119			

No gráfico 6 podem ser visualizados os resultados.

GRÁFICO 6 - COMPARAÇÃO DOS VALORES DA TROPONINA T US DO GRUPO TESTE COM O VALOR DE REFERÊNCIA DA LITERATURA



DISCUSSÃO

O modelo de infarto do miocárdio induzido por isoproterenol, é amplamente utilizado em estudos internacionais uma vez que é de fácil reprodução, prático e tem, geralmente, menores taxas de mortalidade (25%) e morbidade comparado ao modelo cirúrgico que pode apresentar mortalidade de até 50%.⁽²³⁾

Além disso, os recursos financeiros e estruturais necessários para a realização do modelo são menores.⁽²⁴⁾

Contudo, mesmo com uma taxa de mortalidade mais baixa é possível ocorrer um número de óbitos elevados, como aconteceu neste estudo (50% de óbitos no grupo Infarto). Vários são os fatores que podem contribuir para esse aumento da mortalidade como, principalmente, o fato de não ser possível prever o local do infarto, havendo então riscos de comprometimento de alguma artéria coronária importante, como, por exemplo, o tronco da artéria coronária esquerda, situação que quase sempre é fatal.⁽²⁵⁾

Na avaliação do peso dos ratos não houve diferença significativa entre os valores comprovando que o peso não exerceu influência em qualquer outra variável, sendo que a média dos pesos de ambos os grupos foi muito similar: grupo Controle 243 gramas e grupo Infarto 247,4 gramas.

Vale a pena salientar que há relação positiva entre obesidade (principalmente a visceral, representada pelo aumento da circunferência abdominal) e síndromes coronarianas agudas. Além de ser fator de risco isolado, a obesidade tem relação com o aumento da incidência de diabetes, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia, comorbidades estas que também são fatores de risco cardíaco.⁽²⁶⁾

Após análise química da CPK pós-experimento constatou-se que não houve diferença significativa entre os grupos Controle e Teste, pois esta enzima cardíaca apresenta alta sensibilidade e pouca especificidade e pode aumentar em diversas outras patologias e situa-

ções que não a isquemia miocárdica aguda, como exercícios extenuantes, traumas musculares, injeções intramusculares, miosites, miocardites e vários outros.⁽²⁷⁾

Embora não tenha dado diferença significativa na avaliação estatística entre as dosagens de troponina T US entre o grupo Controle e Teste, é possível uma elevação da troponina T US em indivíduos que não sofreram infarto, como por exemplo,⁽¹⁾ em situações como exercício extenuante,⁽²⁾ injeção intramuscular e⁽³⁾ trauma muscular.⁽²⁸⁾

No nosso trabalho, valores elevados desse marcador de necrose miocárdica que foram encontrados no grupo controle poderiam ser explicados por algum desses motivos. Ainda, de acordo com o mesmo estudo referido anteriormente, sabe-se que após situação de isquemia miocárdica transitória há possibilidade de não ocorrer elevação significativa da troponina T US. Possíveis causas de não elevação significativa da troponina T US no grupo Infarto são:⁽¹⁾ possível falha na dosagem ou⁽²⁾ situações de isquemia miocárdica transitória que não foram suficientes para elevar a troponina T US de forma significativa. Além disso, em se tratando de um modelo de infarto pré-estabelecido a troponina T US foi apenas dosada para complementação do estudo, também em nosso modelo.⁽²³⁾

Foi encontrado um valor significativo em relação ao número de monócitos no sangue dos ratos do grupo Teste, comprovando a presença de monocitose relacionada ao infarto. É possível observar um aumento na circulação total de monócitos após 48 horas do infarto. Este autor comparou em seu estudo a monocitose em ratos e humanos e encontrou que a magnitude da resposta monocitária correlaciona-se com a extensão da lesão miocárdica. Desta forma é possível prever que quanto maior o recrutamento de células, mais intensa será a resposta inflamatória.⁽⁵⁾

Segundo estudos, os monócitos começam a se acumular no primeiro dia após o infarto e permanecem altos até aproximadamente o dia 7, os resultados obtidos no nosso trabalho concordam com a literatura visto que a presença da monocitose foi detectada entre 24-48 horas após a ocorrência infarto.⁽¹⁹⁾

Estudos que relacionam o infarto agudo do miocárdio e sua associação com a contagem de células brancas mostram que a leucocitose pode prever o desenvolvimento de ICC. Os monócitos aumentados induzem a um estado de hipercoagulabilidade, via aumento da interleucina IL8, o que associa a inflamação e a trombose em pacientes com doença coronariana.⁽²⁹⁾

Apesar de não se saber ao certo o real papel dos monócitos na síndrome coronariana aguda, foi descrito em uma metanálise uma relação entre o aumento dos glóbulos brancos e a piora na evolução e aumento da mortalidade em pacientes com esta síndrome.^{(5) (30)}

Num estudo foi considerado como preditora da doença arterial coronariana a contagem de células brancas na população de 30 a 75 anos, independente de outros fatores de risco, como hipertensão arterial,

idade, raça e fumo. (31)

Numa metanálise foi associada a leucocitose como marcador de risco da doença cardiovascular, uma vez que é responsável por diversos efeitos biológicos, tanto protetores quanto prejudiciais. Ambos ressaltam uma importante participação dos leucócitos na patogênese da aterosclerose. (32)

A contribuição da literatura, portanto, se faz suficiente na comprovação de um elo entre o aumento dos leucócitos e a doença arterial coronariana, principalmente no infarto agudo do miocárdio e nas síndromes coronarianas agudas.

Vale ressaltar ainda que a dosagem de monócitos poderia ter papel importante, quando associada à dosagem de marcadores de necrose miocárdica, visto que sua dosagem é fácil, barata e comumente solicitada nos exames de rotina em unidades coronarianas. Nesse contexto, a relação entre monocitose e síndromes coronarianas agudas pode auxiliar no diagnóstico diferencial em unidades de dor torácica.

O presente estudo avaliou a relação da monocitose em ratos Wistar após infarto do miocárdio. Trata-se de um estudo relevante no meio científico visto que importantes pesquisas demonstraram diferentes caminhos de proliferação e ativação de monócitos no infarto agudo do miocárdio de ratos e humanos.

Houve poucos estudos, contudo, relacionando a doença coronariana com os monócitos, se fazendo necessário à realização de novos estudos na determinação do papel dessas células nas patologias anteriormente citadas.

CONCLUSÃO

Os dados desse estudo permitem afirmar que existe uma relação entre a monocitose e o infarto agudo do miocárdio.

A relação entre os marcadores cardíacos e monócitos pós infarto agudo do miocárdio não foi identificada.

Sagrillo GD, Brighenti LMV, Campos LFLCM, Geara LFM, Ruggeri MT, Seleme VB, Kubrusly LF, Martins OF, Mendes LF. The role of monocytosis in acute myocardial infarction in wistar rats caused by isoproterenol. *Rev. Méd. Paraná, Curitiba*, 2016;74(2):55-61.

ABSTRACT - The objective of this study is to evaluate the relationship between AMI with elevated monocyte and evaluate monocyte levels to the levels of myocardial necrosis markers (CPK, TCT US). In the test group (10 rats); isoproterenol was administered 150 mg/kg/day for 2 consecutive days (subcutaneously). In the control (10 rats), 2 ml saline. After 24 hours of the last application, euthanasia was performed. Blood was collected for laboratory analysis. The mean of monocytes in the Control group was 5.6/100 cells and the Test group was 8.8/100 cells ($p = 0.009$). The mortality rate was 50%. Regarding weight, the groups had no significant difference. Analysis of CPK was made; there was no significant difference between the groups, as well as Troponin T US. Most animals of test group (80%) had TcT US values larger than the reference value. There was a significant increase in monocytes after AMI.

KEYWORDS - Monocytosis, Acute Myocardial Infarction, Experimental.

REFERÊNCIAS

1. Aguirre P, Reyes G, Blanchet J, Nacke L, Coronel ML, Macín SM, et al. Valor en la práctica diaria de la troponina T ultrasensible para el diagnóstico de infarto de miocardio. *Insufic Card [Internet]*. 2014;9(1):2-7. Available from: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ic/v9n1/v9n1a02.pdf>
2. Al-Saleh A, Alazzoni A, Al Shalash S, Ye C, Mbuagbaw L, Thabane L, et al. Performance of the high-sensitivity troponin assay in diagnosing acute myocardial infarction: systematic review and meta-analysis. *C open [Internet]*. 2014;2(3):E199-207. Available from: <http://cmajopen.ca/cgi/doi/10.9778/cmajo.20130074> \n <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25295240> \n <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4183183>
3. Bertinchant JP, Robert E, Polge A, Marty-Double C, Fabbro-Peray P, Poirrey S, et al. Comparison of the diagnostic value of cardiac troponin I and T determinations for detecting early myocardial damage and the relationship with histological findings after isoprenaline-induced cardiac injury in rats. *Clin Chim Acta*. 2000;298(1-2):13-28.
4. Branco ACDSC, Diniz MDDFM, Almeida RN De, Santos HB, Oliveira, Kardilândia Mendes De Ramalho, Josué Do Amaral Dantas JG. Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos Wistar e camundongos Swiss do biotério professor Thomas George. *Rev Bras Ciências da Saúde*. 2011;15:209-14.
5. Brito JD, Almeida MS, Ribeiros R, Melo JQ, Almeida RH, Silva JA. Recurrent myocardial infarction in a patient with papillary fibroelastoma. *Arq Bras Cardiol [Internet]*. 2012;98(1):e7-10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22323330>
6. Brosnan MJ, Raman SP, Chen L, Koretsky AP. Altering creatine kinase isoenzymes in transgenic mouse muscle by overexpression of the B subunit. *Am J Physiol Cell Physiol [Internet]*. 1993;264:C151-60.
7. Brown DW, Giles WH, Croft JB. White blood cell count: an independent predictor of coronary heart disease mortality among a national cohort. *J Clin Epidemiol [Internet]*. 2001;54:316-22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11223329>
8. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA*. 1998;279(18):1477-82. Available from: <http://ajpcell.physiology.org/content/264/1/C151.short>
9. Dewald O, Zymek P, Winkelmann K, Koerting A, Ren G, Abou-Khamis T, et al. CCL2/monocyte chemoattractant protein-1 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts. *Circ Res*. 2005;96(8):881-9.
10. Donner D, Headrick JP, Peart JN, du Toit EF. Obesity improves myocardial ischaemic tolerance and RISK signalling in insulin-insensitive rats. *Dis Model Mech [Internet]*. 2013;6(2):457-66. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3597027&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
11. Dutta P, Nahrendorf Matthias. Monocytes in Myocardial Infarction. *Ar-*

- ter Thromb Vasc Biol [Internet]. 2015;6(2):356–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4409536/pdf/nihms669788.pdf>
12. Escosteguy CC, Portela MC, Medronho RDA. Infarto Agudo do Miocárdio: Perfil Clínico-Epidemiológico e Fatores Associados ao Óbito Hospitalar no Município do Rio de Janeiro. 2003;80(no 6):17–22. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/abc/v80n6/16043.pdf>
 13. Goldman S, Raya TE. Rat Infarct Model of Myocardial Infarction and Heart Failure. *Journal of Cardiac Failure. J Card Fail* [Internet]. 1995;1(1):169–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9420647>
 14. Herman E, Zhang J, Knapton A, Lipshultz SE, Rifai N, Sistare F. Serum cardiac troponin T as a biomarker for acute myocardial injury induced by low doses of isoproterenol in rats. *Cardiovasc Toxicol* [Internet]. 2006;6(3-4):211 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17347531>
 15. Jarros IC, Junior GZ. Avaliação De Risco Cardíaco E O Diagnóstico Do Infarto Agudo Do Miocárdio No Laboratório De Análises Clínicas Cardiac Risk Assessment and Diagnosis of Acute Myocardial. *Rev UNINGÁ Rev* [Internet]. 2014;19(3):5–13. Available from: http://www.mastereditora.com.br/periodico/20140831_15528.pdf
 16. José I, Mendes M, Maria C, Porto F, Ferreira MC. Um programa sobre promoção da saúde do adulto para trabalhadores em saúde. *Rev Latino-Am Enferm* [Internet]. 1994;2(1):95–108. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rlae/v2n1/v2n1a09>
 17. Lobo Filho HG, Ferreira NL, Sousa RB De, Carvalho ER De, Lobo PLD, Lobo Filho JG. Modelo experimental de infarto do miocárdio induzido por isoproterenol em ratos. *Rev Bras Cir Cardiovasc* [Internet]. 2011;26(3):469–76. Available from: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1678-9741.20110024>
 18. Maekawa Y, Anzai T, Yoshikawa T, Asakura Y, Takahashi T, Ishikawa S, et al. Prognostic significance of peripheral monocytosis after reperfused acute myocardial infarction: a possible role for left ventricular remodeling. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2002;39(2):241–6. Available from: http://ac.els-cdn.com/S0735109701017211/1-s2.0-S0735109701017211-main.pdf?_tid=45961600-3ba5-11e5-9f00-00000aacb360&acdnat=1438801852_8904fd57b579d01c679b0f9b4cbd9ef9
 19. Mair J. High-sensitivity cardiac troponins in everyday clinical practice. *World J Cardiol* [Internet]. 2014;6(4):175–82. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3999337&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 20. Majmudar MD, Keliher EJ, Heidt T, Leuschner F, Truelove J, Sena BF, et al. Monocyte-directed RNAi targeting CCR2 improves infarct healing in atherosclerosis-prone mice. *Circulation* [Internet]. 2013;127(20):2038–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3661714/pdf/nihms-462678.pdf>
 21. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science* (80-) [Internet]. 2002;296(2002):301–5. Available from: http://www.engineering.union.edu/~curreyj/MER-341_files/Danger_Model.pdf
 22. Melo ECP, Carvalho MS, Travassos C. Distribuição espacial da mortalidade por infarto agudo do miocárdio no Município do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saude Publica* [Internet]. 2006;22(6):1225–36. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/csp/v22n6/12.pdf>
 23. Minicucci MF, Azevedo PS, Matsubara BB, Matsubara LS, Paiva SAR, Zornoff LAM. Relação entre a esfericidade, a função ventricular e o tamanho do infarto em ratos. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2010;94(5):645–50. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2010000500012&lng=en&nrm=iso&tlng=pt
 24. Mueller C. Biomarkers and acute coronary syndromes: an update. *Eur Heart J*. 2014;35(9):552–6.
 25. Neumann F-J, Ott I, Marx N, Luther T, Kenngott S, Gawaz M, et al. Effect of Human Recombinant Interleukin-6 and Interleukin-8 on Monocyte Procoagulant Activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 1997 Dec 1 [cited 2016 Jul 4];17(12):3399–405. Available from: <http://atvb.ahajournals.org/content/17/12/3399.abstract>
 26. Pagana KD, Pagana TJ. *Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference* [Internet]. 11th ed. Elsevier; 2012. 1088 p. Available from: <http://books.google.com.br/books?id=CNR2q0ktIRIC&pg=PA86&dq=histone+methylation+recruiting&hl=pt->
 27. Panizzi P, Swirski FK, Figueiredo J, Sosnovik DE, Aikawa E, Libby P, et al. Impaired infarct healing in atherosclerotic ... *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2010;55(15):1629–38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2852892/pdf/nihms141454.pdf>
 28. Pesaro AEP, Serrano Jr. CV, Nicolau JC. Infarto agudo do miocárdio: síndrome coronariana aguda com supradesnível do segmento ST. *Rev Assoc Med Bras*. 2014;50(2):214–20. BR&sa=X&ei=PmS8U5HLN6msAT4goDwCg&ved=0CCYQ6AEwAA#v=onepage&q=histone methylation recruiting&f=false\http://books.google.com.br/books?id=CNR2q0ktIRIC&pg=PA86
 29. Ruparelina N, Godec J, Lee R, Chai JT, Dall'Armellina E, McAndrew D, et al. Acute myocardial infarction activates distinct inflammation and proliferation pathways in circulating monocytes, prior to recruitment, and identified through conserved transcriptional responses in mice and humans. *Eur Heart J* [Internet]. 2015;36(29):1923–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4571177/pdf/ehv195.pdf>
 30. Sabatine MS, Morrow DA, Cannon CP, Murphy SA, Demopoulos LA, DiBattiste PM, et al. Relationship between baseline white blood cell count and degree of coronary artery disease and mortality in patients with acute coronary syndromes: a TACTICS-TIMI 18 (Treat Angina with Aggrastat and determine Cost of Therapy with an Invasive or Conservati. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2002;40(10):1761–8. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0735109702024841\http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12446059>
 31. Van Der Veen K.J. AFW. Isoenzymes of creatine phosphokinase in tissue extracts and in normal and pathological sera. *Clin Chim Acta*. 1966;13(3):312–6.
 32. Zornoff LAM, Paiva SAR, Minicucci MF, Spadaro J. Experimental myocardium infarction in rats: analysis of the model. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2009;93(4):434–40, 426–32. Available from: http://www.scielo.br/pdf/abc/v93n4/en_18.pdf