

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:
CARDIOLOGIA E CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES
FACULDADE DE MEDICINA

**Valor de Marcadores Inflamatórios e BNP Seriados na Predição de
Eventos Cardiovasculares em Pacientes com Cardiopatia Isquêmica
Estável**

PAULO VICENTE SPARANO CAMARGO

Orientadora: Profa. CARISI A. POLANCZYK

Dissertação de Mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Cardiologia e Ciências Cardiovasculares da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, abril de 2007

Agradecimentos

A minha família, que ajudou em todos os momentos e, principalmente, nos mais conturbados, que não foram poucos.

A todos que participaram e participam do ambulatório de Cardiopatia Isquêmica, que contribuíram em muito para este trabalho, desde quando era somente um projeto. Especialmente as Dras. Raquel Melchior Roman e Letícia Weiss Ribeiro, pelo incentivo, amizade e companheirismo.

Ao Dr. Ricardo Stein, pelo acolhimento e apoio.

Aos doutorandos e acadêmicos, alguns hoje já médicos, que tanto auxiliaram na coleta dos dados e na revisão da literatura, sempre com grandes contribuições e incentivos.

Ao Serviço de Cardiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e ao Programa de Pós-graduação em Cardiologia e Ciências Cardiovasculares e seus professores, pelo extremo profissionalismo.

Ao Laboratório de Bioquímica do HCPA, por auxiliar na execução deste trabalho, especialmente à disponibilidade do bioquímico Luiz Werres Jr.

Ao Professor Jarbas Rodrigues de Oliveira, coordenador do Laboratório de Pesquisa em Biofísica Celular e Inflamação da Faculdade de Biociências da Pontifícia Universidade Católica de Porto Alegre, que executou a dosagem das Interleucinas, com empenho e dedicação, de uma maneira incondicional.

Às instituições fomentadoras de pesquisa CNPQ, CAPES e FIFE/HCPA por acreditarem na competência e seriedade dos nossos pesquisadores.

E um especial agradecimento a minha orientadora, Dra. Carísi Polanczyk, pelo exemplo de profissional, pela dedicação e pelas oportunidades que me foram dadas.

Dedicatória

Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida, a quem também presto o meu maior agradecimento: a minha família.

Ao meu pai Paulo, que há pouco tempo nos deixou, mas tenho a certeza de sua presença e que continua a torcer pelo filho, sabendo que sua dedicação ainda é e sempre será o meu maior exemplo.

A minha mãe Belkyss, que sempre foi um exemplo de persistência e conseguiu transmitir isto aos filhos.

Aos meus irmãos Christiane e André, meus grandes amigos, pelo eterno incentivo.

A minha esposa Ana Paula, pelo carinho, “puxões de orelha”, companheirismo, *apoio logístico*, e pela pessoinha mais preciosa de nossas vidas – nosso filho.

E ao meu filho Pedro (e aos outros que vierem), que nasceu no meio deste movimento todo e que é, sem dúvida alguma, a minha melhor *dissertação*. O seu apoio foi fundamental.

Índice

1.	Lista de Abreviaturas – Português	5
2.	Lista de Abreviaturas – Inglês	6
3.	Revisão da Literatura	7
	i. Bibliografia	21
4.	Artigo Original: versão em português	30
	i. Valor de Marcadores Inflamatórios e BNP Seriados na Predição de Eventos Cardiovasculares em Pacientes com Cardiopatia Isquêmica Estável	
	ii. Bibliografia	42
	iii. Tabelas e Figure	45
5.	Artigo Original: versão em inglês	52
	i. Value of Inflammatory Markers and Serial BNPs in the Prediction of Cardiovascular Events in Patients with Stable Isquemic Cardiopathy	
	ii. References	64
	iii. Table and Figuras	67
6.	Anexos	
	i. Anexo I – Termo de Consentimento Informado	74
	ii. Anexo II – Protocolo/ <i>Ficha</i> de Atendimento	76

Lista de Abreviaturas – Português

AE – Angina Estável

AI – Angina Instável

ANP – Peptídeo Natriurético Atrial

AVC – Acidente Vascular Cerebral

BNP – Peptídeo Natriurético Tipo B

DAC – Doença Arterial Coronariana

DM – Diabete Melito

FE - Fração de Ejeção

IAM – Infarto Agudo do Miocárdio

IL-10 – Interleucina 10

IL-18 – Interleucina 18

IMC – índice de Massa Corpórea

PCRus – Proteína C Reativa Ultra-sensível

SCA – Síndrome Coronariana Aguda

SCACSST – Síndrome Coronariana Aguda com Supradesnível de ST

SCASSST – Síndrome Coronariana Aguda sem Supradesnível de ST

VE – Ventrículo Esquerdo

Lista de Abreviaturas – Inglês

ACS – Acute Coronary Syndrome

AMI – Acute Myocardial Infarction

BMI – Body Mass Index

BNP – B-Type Natriuretic Peptide

DM – Diabetes Mellitus

EF – Ejection Fraction

hsCRP – High-sensitive C-Reactive Protein

IL-10 – Interleukin 10

IL-18 – Interleukin 18

LV – Left Ventricle

NSTSEACS – Non-ST-Segment-elevation Acute Coronary Syndrome

SA – Stable Angina

STSEACS – ST- Segment-elevation Acute Coronary Syndrome

UA – Unstable Angina

Revisão da Literatura

Marcadores Inflamatórios e BNP em Cardiopatia Isquêmica Estável

Introdução

Cardiopatia isquêmica é uma das principais causas de morbimortalidade no mundo. Embora estudos recentes tenham demonstrado declínio na mortalidade por doenças cardíacas em algumas regiões do Brasil, doença cerebrovascular e cardiopatia isquêmica, em relação à mortalidade total, são ainda responsáveis por coeficientes de mortalidade extremamente elevados quando comparados a outros países¹ e apresentam expectativa de incremento.

Há muito tempo se vêm utilizando, com a finalidade de aumentar o poder diagnóstico, marcadores de lesão miocárdica. Vários trabalhos vêm sendo feitos com o objetivo de melhorar a avaliação dos pacientes que chegam às emergências com queixa de dor torácica²⁻⁹, visando a aumentar a acurácia do diagnóstico de Síndrome Coronariana Aguda (SCA) e evitando, dessa maneira, baixas hospitalares desnecessárias e liberações errôneas de pacientes. Para aumentar o poder diagnóstico das SCAs, há alguns anos têm-se estudado os marcadores bioquímicos para auxiliar no diagnóstico de IAM. Entre tantos, encontram-se a CPK, CK-MB^{3,5,10-12} Troponina T e I^{3,4,7,10-16}, mioglobina^{4,17} e Proteína C Reativa^{16,18-20}.

Nas últimas décadas, importantes estudos básicos, experimentais, epidemiológicos e clínicos demonstraram o papel da inflamação e seus mecanismos celulares e moleculares na fisiopatogenia da aterogênese. Com base nesse conhecimento, é possível identificar e monitorar o processo inflamatório em andamento. Potenciais alvos de medida incluem os fatores pró-inflamatórios como lipoproteínas oxidativas de baixa densidade, citocinas pró-inflamatórias (por exemplo: interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral), moléculas de adesão (selectinas e integrinas), estímulo inflamatório com efeito hepático (IL-6) e produtos da estimulação hepática como a Proteína C Reativa (PCR). O maior reconhecimento do componente inflamatório da aterosclerose potencialmente pode permitir o uso desses marcadores como indicadores da aterogênese e preditores de complicações ateroscleróticas. Muitos trabalhos relacionam o aumento de marcadores inflamatórios em pacientes com angina

instável, como Proteína C Reativa Ultra-sensível (PCRus), Amilóide A, Interleucina 6, 10 e 18, fibrinogênio e outros^{18,21-25}, demonstrando, inclusive, correlação com o prognóstico^{26,27}, sem que haja, contudo, aumento desses valores em pacientes com angina estável^{19,28}, nem correlação com o nível de estenose da coronária²⁹. No contexto que objetiva aprimorar a predição de risco global cardiovascular, a PCRus tem sido descrita por múltiplos estudos epidemiológicos prospectivos como sendo, em prevenção primária, um preditor independente da incidência de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral (AVC), doença arterial periférica e morte súbita cardíaca, após ajuste para fatores de risco tradicionais^{27,30-33}. Nas síndromes coronarianas agudas, os níveis de PCR também têm-se mostrado relacionados aos novos eventos cardiovasculares em pacientes com angina instável e infarto agudo do miocárdio^{16,22,34}. Contudo, Steg e col. não encontraram essa relação em 439 pacientes com SCA, quando avaliados os desfechos após um ano de acompanhamento³⁵. Embora muitos avanços tenham sido feitos na avaliação e manejo dos casos de instabilização de doença aterosclerótica coronariana, os mecanismos fisiopatogênicos das instabilizações agudas não estão completamente elucidados. Elevações dos marcadores inflamatórios observadas nessas condições podem ser atribuídas à necrose miocárdica, dano por isquemia-reperusão ou doença aterosclerótica mais grave. Entretanto, evidências sugerem ativação de processo inflamatório sistêmico, provavelmente precedendo esses quadros^{21,22,24,25}. Buffon e col. corroboraram com essa hipótese, demonstrando ativação de neutrófilos em diferentes leitos vasculares, independente do sítio da lesão³⁶. Marcadores inflamatórios parecem ter papel importante na gênese da instabilização de placas ateroscleróticas, entretanto uma relação temporal-causal ainda não foi descrita em indivíduos com quadros estáveis. Também não é conhecido o comportamento desses marcadores ao longo de um período de tempo e sua associação com sintomas ou piora da classe funcional. Teoricamente, períodos de ativação inflamatória poderiam desencadear trombose e vasoconstrição sobreposta a lesões ateroscleróticas estáveis, sem necessariamente culminar em quadros de obstrução franca. Alguns estudos também avaliaram a ativação da coagulação, demonstrando correlação positiva com a instabilidade da angina^{18,21,22,37}.

São poucos os trabalhos na literatura que avaliaram esses marcadores em pacientes com cardiopatia isquêmica estável clinicamente e qual o seu valor

prognóstico. Nessa revisão, descrevemos alguns marcadores de inflamação em pacientes com angina estável e qual o seu significado.

Proteína C Reativa Ultra-Sensível

A PCRus é um dos marcadores de inflamação mais estudados na atualidade. Seu papel tem sido avaliado na estratificação de pacientes com SCA, bem como a possível participação que ela poderia ter em pacientes com cardiopatia isquêmica estável.

Muitos estudos avaliaram o valor da PCRus em pacientes atendidos na emergência com quadro de SCA. Em estudo retrospectivo, foi observado que pacientes com níveis PCRus baixos liberados da emergência tiveram menor número de eventos coronarianos tardios do que aqueles que tinham PCRus elevados²⁰. Muitos autores documentaram o aumento da PCRus em pacientes com AI, em relação a indivíduos controles, não se obtendo diferença significativa quando avaliados os pacientes com AE em relação ao grupo de indivíduos sadios^{21,25}. Pacientes com vasoespasm coronariano, mesmo sem doença aterosclerótica importante, apresentaram aumento de PCRus, o que demonstra envolvimento de processo inflamatório³⁸. Houve também relação com a diminuição da variabilidade cardíaca, sugerindo possível relação entre atividade inflamatória e disfunção autonômica³⁹.

A inflamação também parece estar relacionada à diminuição da hemoglobina, dos eritrócitos, do ferro sérico, da transferrina e da saturação de transferrina nos pacientes com SCA²⁶.

Angina estável

Em pacientes com cardiopatia isquêmica estável, encontramos maior número de controvérsias no que diz respeito ao valor prognóstico desse marcador. Bogaty e col. avaliaram 159 pacientes com doença coronariana conhecida, estáveis clinicamente, com a finalidade de verificar a variabilidade da PCRus, com dosagens repetidas. As coletas foram feitas em um período que variava de 15 dias a 6 anos. Encontraram ampla variabilidade entre as dosagens, motivo pelo qual concluíram haver baixa reprodutibilidade das medidas⁴⁰. Contudo, é preciso levar em consideração a grande variação do período intercoletas e o pequeno número de pacientes estudados. O mesmo

autor, acompanhando 150 pacientes durante quatro anos, divididos igualmente em três grupos (múltiplos eventos coronarianos; angina estável sem evento nos últimos três anos e pacientes sem doença coronariana), verificou os níveis de PCRus elevados no grupo de pacientes mais graves com relação aos pacientes estáveis ($p < 0,0001$), demonstrando um Risco Relativo de 7,6 para eventos cardíacos quando $PCRus > 3,5 \text{ mg/l}$ ⁴¹.

Em uma coorte de 2121 pacientes com angina (1030 AI; 743 AE e o restante com dor atípica), procedente do *European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities (ECATA) Angina Pectoris Study*, acompanhada por um período de dois anos, foi verificado evento cardíaco em 75 desses pacientes, demonstrando-se ser o PCRus um preditor de eventos tanto em pacientes com angina estável como instável⁸⁵.

Alguns estudos correlacionaram PCRus e evolução da doença coronariana em pacientes com cardiopatia isquêmica estável. No estudo de Liang e col., um grupo de 190 pacientes com AE, submetido a cateterismo cardíaco, foi avaliado quanto ao nível de PCRus no momento da primeira arteriografia e após o segundo exame. Os pacientes foram divididos em dois grupos: os que apresentaram progressão da doença coronariana ($n=66$) e os que não apresentaram progressão ($n=124$), verificando-se diferença significativa na PCRus basal no grupo com progressão em relação ao grupo sem progressão ($p=0,018$). No grupo em que houve progressão, também havia o pior perfil lipídico ($p=0,014$), maior número de pacientes diabéticos ($p=0,024$) e a maioria eram homens ($p=0,04$)⁴².

Em um estudo buscando relacionar a PCRus com remodelamento coronariano, Worthley e col. realizaram ultra-som intracoronariano (IVUS) em 31 pacientes com cardiopatia isquêmica estável, selecionados seqüencialmente, não sendo observado esta correlação⁴³, mas houve relação positiva com outros marcadores, como sVCAM-1 e sICAM-1.

Em estudo caso-controle, incluindo 239 mulheres e 265 homens, com acompanhamento médio de seis e oito anos, respectivamente, sendo pareado por idade e tabagismo, foi atribuído um Risco Relativo de 1,79 para eventos coronarianos para pacientes com $PCR > 3,0 \text{ mg/dl}$, quando comparado com $PCR < 1,0 \text{ mg/dl}$. Quando ajustado para a presença de DM, o risco relativo reduziu para 1,68 (IC 1,18 e 2,38; $p=0,008$)³⁰.

A obesidade também aumenta a PCRus, o que pode ser um fator de confusão na avaliação desse marcador. Aronson e col. estudaram 830 pacientes sem doença coronariana e 218 pacientes com AE, submetidos à angiografia coronariana eletiva⁴⁴. Os grupos foram divididos em pacientes sem doença coronariana, com doença de um vaso e múltiplos vasos e pelo índice de massa corpórea (IMC). Em pacientes que se submeteram à angioplastia, o IMC foi independentemente relacionado à magnitude do PCRus.

Em pacientes com menos de cinquenta anos com diagnóstico prévio de doença coronariana, foi observado que os que tinham PCRus > 1,6 mg/L e encontravam-se clinicamente estáveis tinham um RR de 3,82 no *tertil* mais alto, comparado ao primeiro *tertil*, para apresentar eventos coronarianos. Assim, em pacientes com menos de cinquenta anos e história positiva de cardiopatia isquêmica, a PCRus >1,6mg/L é preditor de eventos futuros e indica o papel da inflamação crônica no curso clínico da doença coronariana. Nesse grupo, os valores-limite de PCRus devem ser menores, segundo este autor²⁷. Em uma coorte de pacientes sabidamente cardiopatas isquêmicos, com lesão coronariana intermediária, os pacientes com PCR elevada, tendo como ponto de corte 5mg/l, tiveram maior número de desfecho cardiovascular, o que indica que, no futuro, esse marcador possa vir a auxiliar na conduta de tratamento conservador, ou invasivo, desse tipo de lesão.

Apesar de estudos positivos relacionando inflamação e risco de eventos em indivíduos com DAC, esses achados não são consistentes em todos os estudos. Quando avaliado PCR em 200 pacientes, considerando extensão da doença, história prévia de IAM ou classe funcional, não foi observada correlação com níveis de PCRus²⁹.

Em 94 pacientes estudados com AE, não foi observada alteração nos níveis de PCR em relação aos controles, sem aterosclerose coronariana conhecida. Quando avaliado PCR em pacientes com AI, AE e controles – 45, 42 e 41 pacientes, respectivamente – foi observada diferença significativa do primeiro grupo em relação aos demais, mas não entre os dois últimos¹⁹, sendo que outros autores encontraram resultados similares²⁸. Em um grande estudo de coorte prospectivo, com acompanhamento médio de sete anos, não foi observada associação com doença cardiovascular, quando comparado ao grupo controle.

Em uma coorte prospectiva na qual foram incluídos 128 pacientes com AI (Classe I – pacientes menos graves - n=59 e Classe II e III: n=16) e AE (n=53), foi

demonstrada grande associação entre PCRus em pacientes com AI Classe II e III, quando comparados com os pacientes com AE ($p < 0,0001$), sendo que não houve diferença entre os pacientes com AI Classe I e os pacientes com AE ($p = 0,782$)⁴⁵.

PCR e Intervenção.

Também em procedimentos intervencionistas, têm-se estudado o papel e a influência do processo inflamatório. Dibra e col. estudaram 1800 pacientes com AE e AI, tratados com colocação de stent, sendo coletado sangue antes e após o procedimento e não sendo encontrada diferença significativa na PCRus coletada antes do procedimento entre o grupo que apresentou reestenose e o grupo sem reestenose ($p = 0,88$). Todavia, quando avaliada a variação de PCRus, houve correlação com reestenose coronariana ($p = 0,002$)⁸⁶. Em 1152 pacientes com AE, submetidos à colocação de stent, 57% tinham o PCR basal elevado, compreendendo o grupo dos pacientes mais velhos, mais propensos a fumar, com menor fração de ejeção e maior frequência de lesões reestenóticas do que os pacientes com níveis normais de PCR. Eles também tinham menor diâmetro de estenose, stent mais longo e maior propensão a receber abciximab. Nos primeiros trinta dias, a combinação de morte e IAM foi duas vezes maior no grupo com PCR elevada, quando comparado com o grupo de PCR normal, sendo que uma grande parcela desses pacientes necessitou de revascularização de urgência nos primeiros trinta dias ($p = 0,03$). Durante um ano de acompanhamento, não houve diferença quando avaliados óbito e revascularização devido a reestenose, mas, quando avaliado desfecho combinado (óbito e IAM), este foi aproximadamente duas vezes maior no grupo com PCR elevado ($p = 0,002$). Em um modelo de regressão multivariada, cada aumento de 5mg/l de PCR associou-se a um aumento de 1,1 vezes na taxa de morte ou IAM⁴⁶. Em um grupo de pacientes submetidos a ACTP, 87% dos pacientes com AE tinham PCRus basal dentro do normal, contra 29% dos pacientes com AI, sendo verificado um incremento maior do PCRus neste último grupo ($p < 0,001$)⁴⁷.

Em uma avaliação de 891 pacientes com angina estável e instável, submetidos a procedimento percutâneo, sendo avaliadas Troponina T e PCR antes e depois do procedimento, com uma média de acompanhamento de 2,6 anos, observou-se aumento significativo do PCRus, demonstrando ser um preditor independente de morte, ou IAM não-fatal⁴⁸.

Entretanto, independentemente dos desfechos clínicos, foi observado aumento dos marcadores de inflamação pós-angioplastia, quando comparado a valores anteriores ao procedimento⁴⁹. Em pacientes que foram submetidos à intervenção percutânea, a relação entre PCRus antes do procedimento e 24 horas após demonstrou ter maior poder prognóstico do que medida única de PCRus, sendo observada relação com reestenose coronariana⁵⁰.

Outros estudos não têm demonstrado relação com reestenose pós-stent, quando avaliado o nível basal desses marcadores^{51,52}.

PCRus e outros fatores modificadores

Outros tantos fatores podem influenciar os níveis de PCRus como algumas drogas – estatina, AAS, betabloqueadores – e até mesmo depressão.

Em sessenta pacientes com diagnóstico confirmado de angina estável, em pacientes que apresentaram isquemia na monitorização com Holter, em estudo duplo-cego, randomizado, com um grupo recebendo aspirina e o outro recebendo placebo, demonstrou-se diminuição da PCRus no grupo tratado com AAS, sugerindo que esse possa ser, em parte, o efeito protetor coronariano desta droga⁵³. Em um estudo transversal, avaliando 333 pacientes com DAC confirmado em cateterismo eletivo, foi verificado que pacientes em uso de betabloqueador tinham PCRus significativamente diminuída em relação aos que não usavam esta classe de medicamento⁵⁴.

Em estudo multicêntrico, randomizado, com 3745 pacientes, sendo avaliado o uso de estatina em altas doses (atorvastatina 80mg versus pravastatina 40mg), foi observada correlação linear entre o nível de LDL colesterol, PCRus e dose de estatina, quando avaliados trinta dias após a SCA, havendo também correlação com recorrência de angina ou morte cardiovascular. Essa diferença foi observada, mesmo quando ajustada a fatores de risco tradicionais⁵⁵. Altas doses de estatina estão relacionadas a baixos níveis de PCRus^{55-57,59,60} e redução na taxa de doença aterosclerótica coronariana⁵⁸ e de morbimortalidade⁵⁹. Em pacientes com cardiopatia isquêmica e insuficiência cardíaca sistólica (FE<35%), também foi demonstrado haver diferença entre os níveis desse marcador⁶⁰.

Também tem sido notada associação de marcadores de inflamação com tabagismo e anos de cessação do uso de tabaco. Wannamethee e col. estudaram 2920 homens com idade entre 60-79 anos, sem história de infarto do miocárdio, angina,

diabete, AVC ou que estivessem em uso de warfarin. Depois de ajustado para outros fatores de risco cardiovascular, foram comparados os indivíduos não-tabagistas com os tabagistas, demonstrando-se aumento significativo do PCRus nestes em relação aos ex-fumantes e tabagistas passivos (2,53 vs. 1,35mg/l), os quais demonstraram nível intermediário de PCRus. Esses achados sugerem que a ativação da inflamação pode ser um dos mecanismos responsáveis pelo aumento do risco cardiovascular em pacientes tabagistas⁶¹.

Existe uma possível associação, também, entre depressão e estado inflamatório. Espana e col. estudaram a possibilidade de haver relação entre estado depressivo e marcadores de inflamação, como PCRus, e se esta tinha relação com incidência de DAC. Foi realizado um estudo caso-controle dos pacientes homens participantes do estudo PRIME (*Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction*), que eram pacientes inicialmente livres de doença coronariana. Durante o acompanhamento, 335 pacientes apresentaram DAC (angina, IAM não fatal e Morte de Origem Cardíaca) e foram comparados com 670 pacientes sem diagnóstico de DAC. Destes, 46% dos homens deprimidos tinham PCRus elevada acima do 4º. quartil, independentemente de ser caso ou controle, de características sociais ou fatores de risco para DAC. O Risco Relativo para doença coronariana foi de 1,35 (95% IC, 1,05 a 1,73) para análise univariada, e de 1,5(95% IC, 1,04 a 2,15) depois de ajustado para fatores de risco tradicionais, sugerindo correlação desta patologia com marcadores de inflamação e, consecutivamente, com doença coronariana⁶².

Interleucina 10

No processo inflamatório envolvido na formação, no desenvolvimento e na instabilização da placa aterosclerótica, a IL-10, que é produzida por várias células inflamatórias, especialmente macrófagos, é a maior inibidora da síntese de citocinas, inibindo a função dos macrófagos e a produção de citocinas pró-inflamatórias⁶³.

Estudos clínicos têm avaliado o papel dessa citocina nas diferentes apresentações clínicas da DAC e estão revisados a seguir

Em 547 pacientes que se apresentaram com síndrome coronariana aguda, foi avaliada a taxa de eventos cardíacos em 24h, 72h, trinta dias e seis meses. Nas 24h iniciais, quando avaliado desfecho combinado (mortalidade e IAM não-fatal), houve

tendência a menor número de eventos em pacientes que se encontram no 3º. e 4º. quartis, quando comparados ao 1º. quartil ($p < 0,06$ e $0,048$, respectivamente). Em pacientes que apresentavam PCRus elevada, IL-10 aumentada foi considerada fator protetor para evento cardiovascular. Em análise de curva de sobrevida, em seis meses, IL-10 elevada foi um fator de bom prognóstico⁶⁴.

Em 95 pacientes admitidos em unidade de dor torácica, cinquenta tinham AE e 45 AI, demonstrando que a IL-10 foi significativamente maior nos pacientes com angina estável ($p < 0,0001$)⁶⁵.

Baidya e col. avaliaram cinquenta pacientes com AI, sendo 31 destes com lesões complexas na arteriografia e 19 com lesões simples. Juntamente com esses dois grupos (lesões simples e complexas), foi avaliado um grupo de 30 pacientes saudáveis, sem doença coronariana diagnosticada. Nesse estudo, ficou demonstrado haver diferença significativa entre o grupo de lesões complexas, com os controles e o grupo de lesões simples, mas não entre estes dois últimos⁶¹.

Cabe ressaltar também o trabalho de Chalikias e col., no qual foi estudado o valor prognóstico da relação entre Interleucina 18 (próinflamatório) e Interleucina 10 (anti-inflamatório) em pacientes com SCA com relação a eventos intra-hospitalares, sendo demonstrado que aumento da IL-18 e diminuição da IL-10 estavam relacionados com o pior prognóstico destes pacientes. Durante a hospitalização, 41 pacientes tiveram eventos. O valor prognóstico da relação das interleucina (IL-18/IL-10) foi significativamente mais alto, demonstrando risco relativo de 1,74 (95% IC 1,09-2,78), do que o encontrado quando analisadas isoladamente IL-18 (RR 1,46;95% IC 0,93-2,27) e 1/IL-10 (RR 1,63;95% IC 1,04-2,56). Assim, pode-se levantar a hipótese de que o balanço inflamatório/anti-inflamatório é mais importante no prognóstico dos pacientes com SCA^{64,67}. Em uma análise de 80 pacientes admitidos com SCASSST, foi observada a presença de novo evento cardíaco no período de um ano. Nesse estudo, foi analisada a relação entre o processo inflamatório/antiinflamatório – neste caso, IL-6/IL-10 –, demonstrando-se o aumento dessa relação como forte valor prognóstico para estes pacientes⁶⁷. Quando avaliada a complexidade das lesões, a IL-10 mostrou ter tendência a ser menor nos pacientes com lesões mais complexas, mas essa diferença não foi estatisticamente significativa⁶⁶.

Em estudo que avaliou a influência do enalapril e losartan em alguns marcadores de inflamação, não houve diferença significativa na IL-10, mas em relação a

outros, como IL-6, essa diferença foi identificada⁶⁸, conferindo um risco maior para pacientes que apresentaram níveis elevados desta interleucina.

Wojakowski e col. avaliaram a IL-10 de cinquenta pacientes com IAM e trinta pacientes com AE, verificando que os primeiros possuíam menor concentração desse marcador do que os pacientes estáveis⁶⁹.

Interleucina 18

A Interleucina-18, inicialmente identificada como fator induzido pelas células de Kupffer e Macrófagos, possui um papel central na cascata inflamatória, por causa da habilidade em produzir interferon nos Linfócitos T e células *natural killer*, o que se acredita ser crucial no processo de ruptura da placa aterosclerótica.

Recentemente, aumento da expressão de IL-18 tem sido relacionado com placa aterosclerótica em humanos. Modelos animais suportam o papel pró-aterogênico da IL-18, assim como o efeito promotor da IL-18 na composição e progressão da placa.

Em uma coorte de 1229 pacientes, acompanhados em média por 3,9 anos, com diagnóstico estabelecido de cardiopatia isquêmica, tendo como desfecho morte de causas cardiovasculares, morte de outras causas e infarto do miocárdio não-fatal, foi observado não haver diferença significativa da IL-18 quando comparados pacientes com angina estável e instável. O mesmo não ocorreu com a PCRus, em que foi observada diferença significativa. A média da IL-18 foi mais elevada nos pacientes que apresentaram evento cardiovascular fatal do que nos que não apresentaram (68,4 versus 58,7 pg/ml, $p < 0,0001$). Esse estudo também demonstrou que, em cada quartil, havia um aumento de 1,46 vezes no risco de ocorrer evento cardiovascular. Quando comparados pacientes com AI e AE, foi observado que, em ambos os grupos, houve aumento do risco com o aumento da IL-18⁷⁰.

Baidya e col., como mencionado anteriormente, demonstraram haver diferença significativa entre os três grupos (lesões complexas, lesões simples e controles), existindo correlação entre complexidade das lesões e aumento do nível de IL-18⁶⁶.

Em estudo em pacientes com AE (n=48), AI (n=73) e pacientes sem evidências de doença coronariana (n=19) foi verificado haver diferença significativa entre o grupo controle com relação aos pacientes com AE e AI ($p=0,02$ e $0,002$, respectivamente), mas não houve diferença significativa entre estes dois últimos grupos⁷¹.

Suchanek e col. estudaram a relação entre pacientes com doença coronária e com e sem DM 2, demonstrando um aumento de IL-18 no grupo com DM 2, em especial pacientes com doença coronariana mais grave e tabagistas, o que pode ajudar a explicar a vulnerabilidade desta população⁷².

Peptídeo Natriurético Tipo-B (BNP)

Os hormônios cardíacos natriuréticos são uma família de peptídeos relacionados, incluindo peptídeo natriurético atrial, peptídeo natriurético cerebral e outros peptídeos derivados da porção N-terminal. Tem sido proposto o seu uso para auxílio na avaliação de pacientes com insuficiência cardíaca congestiva e como instrumento prognóstico em pacientes com infarto agudo do miocárdio. Níveis elevados de peptídeo natriurético atrial (PNA) e o fragmento N-terminal prohormônio PNA na fase subaguda têm sido vistos como preditores para eventos adversos em pacientes com IAM. Recentes dados sugerem que a concentração plasmática é derivada basicamente dos ventrículos, podendo o BNP aumentar proporcionalmente mais do que o PNA no IAM⁷³. Aparece ser um forte preditor de mortalidade, e isso, provavelmente, reflete a integração entre o sistema neuroendócrino cardíaco e a performance cardíaca⁷⁴. Associado a outros marcadores, pode auxiliar na estratificação de risco do paciente com SCA¹⁶. Em 1240 pacientes avaliados com quadro de possível insuficiência cardíaca, não foi demonstrada correlação entre os pacientes com ICC e os que tinham história de cardiopatia isquêmica, sendo que naqueles que não tinham insuficiência cardíaca essa relação estava presente⁸⁴.

Inoue e col. dosaram o BNP de oitenta pacientes que chegaram com IAM em cinco momentos: na admissão, com 4h, 24h, 48h e um mês após a chegada à emergência. Foram divididos em dois grupos – os que se submeteram precocemente à angioplastia (menos de 6h), que foram 35 pacientes, e os que se submeteram a angioplastia tardiamente (mais de 6h), sendo 27 pacientes (18 foram excluídos). Houve diferença significativa de BNP em todos os momentos no grupo de intervenção tardia e demonstrou-se também relação com disfunção ventricular⁷³. Em uma coorte de 1085 pacientes com cardiopatia isquêmica estável, acompanhados por, aproximadamente 2,5 anos, o nível de BNP foi significativamente elevado em pacientes que apresentaram eventos cardiovasculares nesse período⁷⁵. Sahinarslan e col. avaliaram pacientes com

cardiopatia isquêmica estável, demonstrando ser maior o nível de BNP no grupo com doença coronariana mais extensa⁷⁶, o que foi confirmado por outros autores^{77,78}.

Em uma coorte de 186 pacientes com AE e evidências angiográficas de doença coronariana significativa, com acompanhamento por um período de, aproximadamente, 7,4 anos, o BNP foi um preditor independente de sobrevida nesse grupo de pacientes⁷⁹ e foi relacionado a gravidade da doença coronariana^{82,87}.

Em outro estudo, Palazzuoli e col. avaliaram três grupos de pacientes com cardiopatia isquêmica – AE (n=21), AI(n=26) e IAM não-Q(n=24), comparando-os a um grupo controle de pacientes sem doença coronariana(n=15). Entre os grupos, não foi demonstrada diferença significativa entre AI e IAM. Porém, comparando este grupo com os pacientes com AE, houve diferença estatisticamente significativa. Também demonstrou-se diferença entre pacientes com envolvimento triarterial e os que tinham uma ou duas coronárias envolvidas⁸⁰.

Em estudo com 77 pacientes com AE, a, no mínimo, seis meses sem apresentar angina, foi notada elevada taxa de recorrência de angina no grupo com altos níveis de BNP, em um acompanhamento médio de 26 meses⁸¹.

Wolber e col. propuseram que o BNP, em associação com teste ergométrico e dados clínicos, possam auxiliar no diagnóstico de cardiopatia isquêmica. No estudo do autor, esse teste demonstrou ser um instrumento altamente acurado, e o BNP>50 ng/ml, isoladamente, demonstrou sensibilidade de 66% e especificidade de 97% para esse diagnóstico⁸³.

Conclusão

O melhor entendimento da fisiopatogenia do processo inflamatório na doença aterosclerótica constituiu o grande avanço nas últimas décadas com relação ao estudo dessa doença. O entendimento de que a aterosclerose não é um processo estático, tão-somente de acúmulo de gordura na parede da artéria, mas, sim, um processo dinâmico, multifatorial, com o envolvimento de vários mediadores de inflamação, levou muitos pesquisadores a estudarem o mecanismo de formação do trombo e de sua instabilização. A avaliação desses marcadores no prognóstico do paciente cardiopata isquêmico tem auxiliado na estratificação destes, apesar de ainda não ser liberado para uso na prática clínica.

Até o momento, a maioria dos trabalhos tem demonstrado que os pacientes com PCRus, IL18 e BNP elevados apresentam maior risco de evento coronariano futuro, estando relacionados a pior prognóstico. Por outro lado, a IL-10, que possui uma ação antiinflamatória, confere um efeito protetor a esses pacientes.

Esses marcadores de inflamação também estão relacionados com eventos cardiovasculares em pacientes livres de doença aterosclerótica, quando acompanhados por longo período. Isso parece demonstrar que o processo inflamatório precede os eventos cardiológicos e que esses pacientes estariam com um processo inflamatório constante, mas sem apresentar evidências de instabilização clínicas.

Compreender melhor essa fisiopatologia pode trazer-nos vantagens e benefícios: primeiramente, auxiliando a estratificar os pacientes mais graves, podendo, futuramente, reservar a estes tratamento diferenciado; auxiliando, ainda, a melhor avaliar terapêuticas futuras, que podem ajudar a diminuir a morbimortalidade destes pacientes; avaliando, também, em qual ponto do ciclo da doença é possível intervir e, quem sabe, determinando em que dado momento seria possível prever a instabilização clínica de um paciente, antes que esta aconteça clinicamente, por meio da avaliação de uma “instabilização inflamatória”.

A maioria dos trabalhos avaliou esses marcadores em determinado momento, mas não fez essa análise durante o período que antecedeu os eventos, não conseguindo, dessa maneira, avaliar a “curva” dos marcadores em relação a sua medida basal. O entendimento do início de um processo de instabilização inflamatória poderia

trazer informações relevantes para o estudo da prevenção de casos de angina instável e de infarto agudo do miocárdio.

No momento, apesar de todo o conhecimento que cerca os marcadores de inflamação, não há ainda indicação de aplicação na prática clínica, o que, em breve, provavelmente, será modificado.

Bibliografia

1. Anuário Estatístico da Saúde do Brasil. Ministério da Saúde. 2001 – acessado em outubro de 2006 (www.saude.gov.br).
2. Stein RA; Chaitman BR; Balady GJ; Fleg JL; Limacher MC; Pina IL; Williams MA; Bazzarre T. Safety and utility of exercise testing in emergency room chest pain centers: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association. *Circulation* 2000; 102(12):1463-7.
3. Fesmire FM. Delta CK-MB outperforms delta troponin I at 2 hours during the ED rule out of acute myocardial infarction. *Am J Emerg Med* 2000; 18:1-8.
4. Sonel A; Sasseen BM; Fineberg N; Bang N; Wilensky RL. Prospective study correlating fibrinopeptide A, troponin I, myoglobin, and myosin light chain levels with early and late ischemic events in consecutive patients presenting to the emergency department with chest pain. *Circulation* 2000; 102(10):1107-13.
5. Bassan R; Gamarski R; Pimenta L; Volschan A; Scofano M; Dohmann HF; Araujo M; Clare C; Fabricio M; Sanmartin CH; Mohallem K; Macaciel R; Gaspar S. Efficacy of a diagnostic strategy for patients with chest pain and no ST-segment elevation in the emergency room. *Arq Bras Cardiol* 2000; 74:405-17.
6. Bassan R; Scofano M; Gamarski R; Dohmann HF; Pimenta L; Volschan A; Araujo M; Clare C; Fabricio M; Sanmartin CH; Mohallem K; Gaspar S; Macaciel R. Chest pain in the emergency room. Importance of a systematic approach. *Arq Bras Cardiol* 2000; 74:13-29.
7. Collinson PO; Premachandram S; Hashemi K. Prospective audit of incidence of prognostically important myocardial damage in patients discharged from emergency department. *BMJ* 2000; 320:1702-5.
8. Storrow AB; Gibler WB. Chest pain centers: diagnosis of acute coronary syndromes. *Ann Emerg Med* 2000; 35(5):449-61.
9. Pope JH; Aufderheide TP; Ruthazer R; Woolard RH; Feldman JA; Beshansky JR; Griffith JL; Selker HP. Missed diagnoses of acute cardiac ischemia in the emergency department. *N Engl J Med* 2000; 342(16):1163-70.

10. McErlean ES; Deluca SA; van Lente F; Peacock F; Rao JS; Balog CA; Nissen SE. Comparison of troponin T versus creatine kinase-MB in suspected acute coronary syndromes. *Am J Cardiol* 2000; 85(4):421-6.
11. Porela P; Pulkki K; Helenius H; Antila KJ; Pettersson K; Wacker M; Voipio-Pulkki LM. Prediction of short-term outcome in patients with suspected myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 2000; 35(5):413-20.
12. Heli Koukkunen, MD, Karri Penttila, MD, Ari Kemppainen, MD, Ilkka Penttila, MD, Matti O. Halinen, MD, Tapio Rantanen, LIC PHIL , and Kalevi Pyorala, MD. Differences in the Diagnosis of Myocardial Infarction by Troponin T Compared With Clinical and Epidemiologic Criteria. *Am J Cardiol* 2001;88:727–731.
13. Peacock WF IV; Emerman CL; McErlean ES; Deluca SA; van Lente F; Rao JS; Nissen SE. Prediction of short- and long-term outcomes by troponin T levels in low-risk patients evaluated for acute coronary syndromes. *Ann Emerg Med* 2000; 35(3):213-20.
14. Kontos MC; Anderson FP; Alimard R; Ornato JP; Tatum JL; Jesse RL. Ability of troponin I to predict cardiac events in patients admitted from the emergency department. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(6):1818-23,.
15. Gil M; Zarebinski M; Adamus J. Plasma fibrinogen and troponin I in acute coronary syndrome and stable angina. *Int J Cardiol* 2002; 83(1):43-6.
16. Sabatine MS; Morrow DA; de Lemos JA; Gibson CM; Murphy SA; Rifai N; McCabe C; Antman EM; Cannon CP; Braunwald E. Multimarker approach to risk stratification in non-ST elevation acute coronary syndromes: simultaneous assessment of troponin I, C-reactive protein, and B-type natriuretic peptide. *Circulation* 2002; 105(15):1760-3.
17. Winter RJ; Lijmer JG; Koster RW; Hoek FJ; Sanders GT. Diagnostic accuracy of myoglobin concentration for the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Ann Emerg Med* 2000; 35(2):113-20.
18. Fiotti N; Di Chiara A; Altamura N; Miccio M; Fioretti P; Guarnieri G; Giansante C. Coagulation indicators in chronic stable effort angina and unstable angina: relationship with acute phase reactants and clinical outcome. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002; 13(3):247-55.

19. Li JJ; Jiang H; Huang CX; Fang CH; Tang QZ; Xia H; Liu J; Li GS. Elevated level of plasma C-reactive protein in patients with unstable angina: its relations with coronary stenosis and lipid profile. *Angiology* 2002; 53(3):265-72.
20. Magadle R; Weiner P; Beckerman M; Berar-Yanay N. C-reactive protein as a marker for active coronary artery disease in patients with chest pain in the emergency room. *Clin Cardiol* 2002;25(10):456-60.
21. Lindmark E; Wallentin L; Siegbahn A Blood cell activation, coagulation, and inflammation in men and women with coronary artery disease. *Thromb Res* 2001; 103(3):249-59.
22. Cavusoglu Y; Gorenek B; Alpsoy S; Unalir A; Ata N; Timuralp B Evaluation of C-reactive protein, fibrinogen and antithrombin-III as risk factors for coronary artery disease. *Isr Med Assoc J* 2001; 3(1):13-6.
23. Mazzone A; De Servi S; Mazzucchelli I; Bossi I; Ottini E; Vezzoli M; Meloni F; Lotzinker M; Mariani G. Increased concentrations of inflammatory mediators in unstable angina: correlation with serum troponin T. *Heart* 2001; 85(5):571-5.
24. Simon AD; Yazdani S; Wang W; Schwartz A; Rabbani LE. Circulating levels of IL-1beta, a prothrombotic cytokine, are elevated in unstable angina versus stable angina. *J Thromb Thrombolysis* 2000; 9(3):217-22.
25. Cusack MR; Marber MS; Lambiase PD; Bucknall CA; Redwood SR. Systemic inflammation in unstable angina is the result of myocardial necrosis. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(12):1917-23.
26. Mattioli AV; Bonetti L; Zennaro M; Ripa S; Mattioli G. Prognostic value of iron, nutritional status indexes and acute phase protein in acute coronary syndromes. *Ital Heart J* 2002; 3(3):194-8.
27. Speidl WS; Graf S; Hornykewycz S; Nikfardjam M; Niessner A; Zorn G; Wojta J; Huber K High-sensitivity C-reactive protein in the prediction of coronary events in patients with premature coronary artery disease. *Am Heart J* 2002; 144(3):449-55.
28. Abdelmoutaleb I; Danchin N; Ilardo C; Aimone-Gastin I; Angioi M; Lozniewski A; Loubinoux J; Le Faou A; Guéant JL. C-Reactive protein and coronary artery disease: additional evidence of the implication of an inflammatory process in acute coronary syndromes. *Am Heart J* 1999; 137(2):346-51.
29. Veselka J; Procházková S; Duchonová R; Bolomová I; Urbanová T; Tesar D; Honek T Relationship of C-reactive protein to presence and severity of coronary

atherosclerosis in patients with stable angina pectoris or a pathological exercise test. *Coron Artery Dis* 2002; 13(3):151-4.

30. Pai JK. et al. Inflammatory Markers and the Risk of Coronary Heart Disease in Men and Women. *N Engl J Med* 2004. 351:2599-2610.

31. Luc G; Bard JM; Juhan-Vague I; Ferrieres J; Evans A; Amouyel P; Arveiler D; Fruchart JC; Ducimetiere P; PRIME Study Group. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: the PRIME Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(7):1255-61.

32. Ikonomidis I; Lekakis J; Revela I; Andreotti F; Nihoyannopoulos P. Increased circulating C-reactive protein and macrophage-colony stimulating factor are complementary predictors of long-term outcome in patients with chronic coronary artery disease. *Eur Heart J* 2005;26(16):1618-24.

33. Cesari M; Penninx BW; Newman AB; Kritchevsky SB; Nicklas BJ; Sutton-Tyrrell K; Tracy RP; Rubin SM; Harris TB; Pahor M. Inflammatory markers and cardiovascular disease (The Health, Aging and Body Composition [Health ABC] Study). *Am J Cardiol* 2003; 92(5):522-8.

34. Zebrack JS; Anderson JL; Maycock CA; Horne BD; Bair TL; Muhlestein JB. Usefulness of high-sensitivity C-reactive protein in predicting long-term risk of death or acute myocardial infarction in patients with unstable or stable angina pectoris or acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2002; 89(2):145-9.

35. Steg et al. Predischarge C-Reactive Protein and 1-year Outcome After Acute Coronary Syndromes. *Am J Cardiol* 2006; 119: 684-692.

36. Buffon et al. Widespread Coronary Inflammation in Unstable Angina. *NEJM* 2002; 347(1): 5-12.

37. Song et al. C-reactive Protein Contributes to the hypercoagulable State in Coronary Artery Disease. *J Thromb Haemost* 2006. 4:98-106.

38. Hung et al. Comparison of Serum Levels of Inflammatory Markers in Patients with Coronary Vasoospasm Without Significant Fixed Coronary Artery Disease Versus Patients With Stable Angina Pectoris and Acute Coronary Syndromes With Significant Fixed Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol* 2006; 97:1429-34.

39. Lanza et al. Relation of Heart Rate Variability to Serum Level of C-Reactive Protein in Patients With Unstable Angina Pectoris. *Am J Cardiol* 2006; 97:1702-6.

40. Bogaty P; Brophy JM; Boyer L; Simard S; Joseph L; Bertrand F; Dagenais GR. Fluctuating inflammatory markers in patients with stable ischemic heart disease. *Arch Intern Med* 2005;165(2):221-6.
41. Bogaty et al. Biological Profile in Subjects With Recurrent Acute Coronary Events Compared With Subjects With Long-Standing Stable Angina. *Circulation* 2001; 103:3062-8.
42. Liang KW; Sheu WH; Lee WL; Liu TJ; Ting CT; Chen YT; Lee WJ. Coronary artery disease progression is associated with C-reactive protein and conventional risk factors but not soluble CD40 ligand. *Can J Cardiol* 2006;22(8):691-6.
43. Worthley SG; Farouque HM; Cameron JD; Meredith IT Arterial remodeling correlates positively with serological evidence of inflammation in patients with chronic stable angina pectoris. *J Invasive Cardiol* 2006;18(1):28-31.
44. Aronson D; Goldberg A; Roguin A; Petcherski S; Rimer D; Gruberg L; Avizohar O; Levy Y; Markiewicz W; Beyar R. Effect of obesity on the relationship between plasma C-reactive protein and coronary artery stenosis in patients with stable angina. *Atherosclerosis* 2006;185(1):137-42.
45. Yip HK; Wu CJ; Hang CL; Chang HW; Yang CH; Hsieh YK; Fang CY; Fu M; Yeh KH; Chen MC. Levels and values of inflammatory markers in patients with angina pectoris. *Int Heart J* 2005;46(4):571-81.
46. Dibra A; Mehilli J; Braun S; Hadamitzky M; Baum H; Dirschinger J; Schühlen H; Schömig A; Kastrati A. Association between C-reactive protein levels and subsequent cardiac events among patients with stable angina treated with coronary artery stenting. *Am J Med* 2003; 114(9):715-22.
47. Liuzzo G; Buffon A; Biasucci LM; Gallimore JR; Caligiuri G; Vitelli A; Altamura S; Ciliberto G; Rebuffi AG; Crea F; Pepys MB; Maseri A. Enhanced inflammatory response to coronary angioplasty in patients with severe unstable angina. *Circulation* 1998; 98(22):2370-6.
48. Saleh N; Svane B; Hansson LO; Jensen J; Nilsson T; Danielsson O; Tornvall P. Response of serum C-reactive protein to percutaneous coronary intervention has prognostic value. *Clin Chem* 2005;51(11):2124-30.
49. Saleh N; Svane B; Jensen J; Hansson LO; Nordin M; Tornvall P. Stent implantation, but not pathogen burden, is associated with plasma C-reactive protein and

interleukin-6 levels after percutaneous coronary intervention in patients with stable angina pectoris. *Am Heart J* 2005;149(5):876-82.

50. Kubica J; Kozinski M; Krzewina-Kowalska A; Zbikowska-Gotz M; Dymek G; Sukiennik A; Piasecki R; Bogdan M; Grzesk G; Chojnicki M; Dziedziczko A; Sypniewska G. Combined periprocedural evaluation of CRP and TNF-alpha enhances the prediction of clinical restenosis and major adverse cardiac events in patients undergoing percutaneous coronary interventions. *Int J Mol Med* 2005;16(1):173-80.

51. Gomma AH; Hirschfield GM; Gallimore JR; Lowe GD; Pepys MB; Fox KM. Preprocedural inflammatory markers do not predict restenosis after successful coronary stenting. *Am Heart J* 2004;147(6):1071-7.

52. Segev A; Kassam S; Buller CE; Lau HK; Sparkes JD; Connelly PW; Seidelin PH; Natarajan MK; Cohen EA; Strauss BH. Pre-procedural plasma levels of C-reactive protein and interleukin-6 do not predict late coronary angiographic restenosis after elective stenting. *Eur Heart J* 2004;25(12):1029-35.

53. Ikonomidis I; Andreotti F; Economou E; Stefanadis C; Toutouzas P; Nihoyannopoulos P. Increased proinflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin. *Circulation* 1999; 100(8):793-8.

54. Jenkins NP; Keevil BG; Hutchinson IV; Brooks NH. University Department of Cardiology, Regional Cardiac Centre, Wythenshawe Hospital, Manchester, United Kingdom. Beta-blockers are associated with lower C-reactive protein concentrations in patients with coronary artery disease. *Am J Med* 2002;112(4):269-74.

55. Ridker PM. et al. C-Reactive Protein Levels and Outcomes After Statin Therapy. *N Engl J Med* 2005; 352:20-8.

56. Li JJ; Fang CH; Qian HY; Hu WL Time course of rapid C-reactive protein reduction by pravastatin in patients with stable angina. *Angiology* 2006;57(1):1-7.

57. Nissen SE. et al. Statin Therapy, LDL Cholesterol, C-Reactive Protein, and Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 2005; 352:29-38.

58. Li JJ; Fang CH; Qian HY; Hu WL. Time course of rapid C-reactive protein reduction by pravastatin in patients with stable angina. *Angiology* 2006;57(1):1-7.

59. Sola S; Mir MQ; Rajagopalan S; Helmy T; Tandon N; Khan BV. Statin therapy is associated with improved cardiovascular outcomes and levels of inflammatory markers in patients with heart failure. *J Card Fail* 2005;11(8):607-12.

60. Zhou et al. The effect of atorvastatin on serum mieloperoxidase and CRP levels in patients with acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta* 2006; 368: 168-72.
61. Wannamethee SG; Lowe GD; Shaper AG; Rumley A; Lennon L; Whincup PH. Associations between cigarette smoking, pipe/cigar smoking, and smoking cessation, and haemostatic and inflammatory markers for cardiovascular disease. *Eur Heart J* 2005;26(17):1765-73.
62. Empana JP; Sykes DH; Luc G; Juhan-Vague I; Arveiler D; Ferrieres J; Amouyel P; Bingham A; Montaye M; Ruidavets JB; Haas B; Evans A; Jouven X; Ducimetiere P; PRIME Study Group. Contributions of depressive mood and circulating inflammatory markers to coronary heart disease in healthy European men: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME). *Circulation* 2005;111(18):2299-305.
63. Li JJ; Guo YL; Yang YJ. Enhancing anti-inflammatory cytokine IL-10 may be beneficial for acute coronary syndrome. *Med Hypotheses* 2005;65(1):103-6.
64. Heeschen C. et al. Serum Level of the Antiinflammatory Cytokine Interleukin-10 Is an Important Prognostic Determinant in Patients With Acute Coronary Syndromes. *Circulation* 2003; 107: 2109-14.
65. Smith DA et al. Serum Levels of the Antiinflammatory Cytokine Interleukin-10 Are Decreased in Patients With Unstable Angina. *Circulation* 2001; 104: 746-9.
66. Baidya SG. et al. T Helper Cell Related Interleukins and the Angiographic Morphology in Unstable Angina. *Cytokine* 2005; 30: 303-310.
67. Chalikias GK; Tziakas DN; Kaski JC; Hatzinikolaou EI; Stakos DA; Tentis IK; Kortsaris A; Hatseras DI. Interleukin-18: interleukin-10 ratio and in-hospital adverse events in patients with acute coronary syndrome. *Atherosclerosis* 2005;182(1):135-43.
68. Trevelyan J; Brull DJ; Needham EW; Montgomery HE; Morris A; Mattu RK. Effect of enalapril and losartan on cytokines in patients with stable angina pectoris awaiting coronary artery bypass grafting and their interaction with polymorphisms in the interleukin-6 gene. *Am J Cardiol* 2004;94(5):564-9.
69. Wojakowski W; Maslankiewicz K; Ochala A; Wyderka R; Zuk-Popiolek I; Flak Z; Mroz I; Tendera M. The pro- and anti-inflammatory markers in patients with acute myocardial infarction and chronic stable angina. *Int J Mol Med* 2004;14(2):317-22.
70. Blankenberg S. and Col. Interleukin-18 Is a Strong Predictor of Cardiovascular Death in Stable and Unstable Angina. *Circulation* 2002; 106: 24-30.

71. Rosso R; Roth A; Herz I; Miller H; Keren G; George J. Serum levels of interleukin-18 in patients with stable and unstable angina pectoris. *Int J Cardiol* 2005;98(1):45-8.
72. Suchanek H; Mysliwska J; Siebert J; Wieckiewicz J; Hak L; Szyndler K; Kartanowicz D. High serum interleukin-18 concentrations in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus. *Eur Cytokine Netw* 2005;16(3):177-85.
73. Inoue T; Sakuma M; Yaguchi I; Mizoguchi K; Uchida T; Takayanagi K; Hayashi T; Morooka S. Early recanalization and plasma brain natriuretic peptide as an indicator of left ventricular function after acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2002; 143(5):790-6.
74. Collinson PO. Biomarkers in angina. *Scand J Clin Lab Invest* 2005 Suppl;240:86-92.
75. Schnabel R; Lubos E; Rupprecht HJ; Espinola-Klein C; Bickel C; Lackner KJ; Cambien F; Tiret L; Münzel T; Blankenberg S. B-type natriuretic peptide and the risk of cardiovascular events and death in patients with stable angina: results from the AtheroGene study. *J Am Coll Cardiol* 2006;47(3):552-8.
76. Sahinarslan A; Cengel A; Okyay K; Yazici HU; Elbey S; Cemri M; Ozdemir M; Timurkaynak T. B-type natriuretic peptide and extent of lesion on coronary angiography in stable coronary artery disease. *Coron Artery Dis* 2005;16(4):225-9.
77. Weber M; Dill T; Arnold R; Rau M; Ekinci O; Müller KD; Berkovitsch A; Mitrovic V; Hamm C Department of Cardiology, Kerckhoff Heart Center, Bad Nauheim, Germany. N-terminal B-type natriuretic peptide predicts extent of coronary artery disease and ischemia in patients with stable angina pectoris. *Am Heart J* 2004; 148(4):612-20.
78. Palumbo B; Siepi D; Lupattelli G; Sinzinger H; Fiorucci G; Anniboletti PF; Latini RA; Mannarino E; Palumbo R. Usefulness of brain natriuretic peptide levels to discriminate patients with stable angina pectoris without and with electrocardiographic myocardial ischemia and patients with healed myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004; 94(6):780-3.
79. Omland T; Richards AM; Wergeland R; Vik-Mo H. B-type natriuretic peptide and long-term survival in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005;95(1):24-8.

80. Palazzuoli A; Calabria P; Vecchiato L; Quatrini I; Carrera A; Bruni F; Puccetti L; Pastorelli M; Pasqui AL; Auteri A. Plasma brain natriuretic peptide levels in coronary heart disease with preserved systolic function. *Clin Exp Med* 2004; 4(1):44-9.
81. Takase H; Toriyama T; Sugiura T; Ueda R; Dohi Y. Enshu General Hospital, Hamamatsu, Japan. Brain natriuretic peptide in the prediction of recurrence of angina pectoris. *Eur J Clin Invest* 2004; 34(2):79-84.
82. Sadanandan et al. Association of Elevated B-Type Natriuretic Peptide Levels With Angiographic Findings Among Patients With Unstable Angina and Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 564-8.
83. Wolber et al. Integration of B-Type Natriuretic Peptide Levels With Clinical Data and Exercise Testing for Predictin Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol* 2006; 98:764-7.
84. McCord et al. B-Type Natriuretic Peptide Levels in Patients in the Emergency Department With Possible Heart Failure and Previous Stable Angina Pectoris and/or Healed Myocardial Infarction. *Am J Cardiol* 2005; 96:1370-3.
85. Haverkate et al. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in Stable and unstable angina. *Lancet* 1997; 349: 262-6.
86. Dibra et al. Inflammatory response after intervention assessed by serial C-reactive protein measurements correlates with restenosis in patients treated with coronary stenting. *Am Heart J*; 2006. 150:344-50
87. Palazzuoli et al. Relation of Plasma Brain Natriuretic Peptide Levels in Non-ST-Elevation Coronaary Disease and Preserved Systolic Functionto Number of Narrowed Coronary Arteries. *Am J Cardiol* 2006; 96:1705-10.

**Valor de Marcadores Inflamatórios e BNP Seriados na Predição de Eventos
Cardiovasculares em Pacientes com Cardiopatia Isquêmica Estável**

Paulo Vicente Sparano Camargo

Carisi Anne Polanczyk

Programa de Pós-graduação em Cardiologia da Universidade Federal do Rio Grande do
Sul. Serviço de Cardiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Título abreviado: Marcadores inflamatório seriados e angina estável

Palavras-chaves: Inflamação, Síndrome Coronariana Aguda, Angina estável,
Proteína-C-Reativa, interleucinas, BNP.

Endereço para correspondência:

Paulo Vicente Sparano Camargo
Endereço: Rua Ramiro Barcelos, 1793/402
Bom Fim – Porto Alegre/RS/Brasil
CEP 90035-006
Fone: (51) 3022-1989
Fax: (51) 3023-8884
e-mail: sparano@portoweb.com.br

Resumo

Introdução: Recentes estudos têm demonstrado o mecanismo da inflamação na formação, desenvolvimento e instabilização da placa de ateroma. Em pacientes com síndrome coronariana aguda foi evidenciado o valor prognóstico destes marcadores (IL18, PCRus, IL10 e BNP). Contudo, a maioria dos trabalhos tem avaliado estes marcadores somente em um determinado momento, sem acompanhá-los durante um período, com a finalidade de avaliar a alteração destes antes da instabilização clínica.

Métodos: Estudo de caso-controle aninhado a uma coorte de pacientes portadores de cardiopatia isquêmica clinicamente estáveis em acompanhamento em ambulatório especializado de um hospital terciário. Os pacientes foram incluídos consecutivamente e coletado sangue em todas as consultas (ΔT – 3-4 meses) por um período mínimo de um ano. Após este período, continuavam com acompanhamento clínico. Foram considerados casos todos os pacientes que apresentaram algum evento cardiológico. Ocorreram 42 eventos, sendo escolhidos os controles através da listagem seqüencial, ficando uma proporção de 1:2. Nos controles, a coleta A representa a 1ª. coleta e a coleta B a 2ª. coleta. Nos casos, a coleta A representa a segunda coleta anterior ao evento e a coleta B representa a coleta anterior ao evento.

Resultados: Não houve diferença estatisticamente significativo entre a PCRus ($5,4 \pm 7,1\text{mg/l}$ vs. $5,2 \pm 7,9\text{mg/l}$; $p=0,81$) , BNP ($102,5 \pm 105,7\text{pg/ml}$ vs. $86,3 \pm 95,9\text{pg/ml}$; $p=0,35$) e IL10 ($7,4 \pm 4,2\text{pg/ml}$ vs. $7,2 \pm 4,4\text{pg/ml}$; $p=0,83$) entre os grupos caso e controle, respectivamente, nas coletas A, com resultados similares na coleta B. Somente a IL18 mostrou diferença significativa na coleta A ($410,6 \pm 184,9\text{pg/ml}$ vs. 340 ± 133 ; $p=0,037$). Não houve incremento significativo nos marcadores da coleta A para a coleta B, com exceção a IL18, que apresentou uma diminuição. Na regressão de Cox, IL18 (RR 1,75 (0,89-3,5; $p=0,11$) e a relação entre IL18/IL10 (RR 1,97; 1,0-3,8; $p=0,047$) foram preditores de pior prognóstico.

Conclusão: Neste estudo, PCRus e BNP não mostraram flutuação significativa entre pacientes com cardiopatia isquêmica que apresentaram eventos cardiovasculares e aqueles sem eventos. A IL-18, pró-inflamatória, e a relação com IL-10, anti-inflamatória, foram preditores de pior prognóstico.

Unitermos: Inflamação, Angina Instável, Angina Estável, IL-10, IL-18, PCRus, BNP

1. Introdução

O aumento do conhecimento da patofisiologia na formação da placa aterosclerótica e o melhor entendimento do processo dinâmico têm levado ao estudo de inúmeros marcadores de inflamação. Recentes estudos têm demonstrado o papel da inflamação na doença aterosclerótica, sendo relacionado com a formação da placa e responsável também por sua instabilização¹.

Níveis séricos de marcadores inflamatórios estão elevados em pacientes com angina instável e infarto agudo do miocárdio, como Proteína C Reativa Ultra Sensível (PCRus), Amilóide A, Interleucina (IL) 6, 10 e 18, fibrinogênio e outros^{2,3}, e apresentam uma relação com o prognóstico⁴⁻⁹. Além de marcadores inflamatórios, o neurohormônio peptídeo natriurético atrial tipo-B (BNP), tem sido descrito como indicador precoce de isquemia, infarto e pior evolução nestas condições clínicas^{2,3,10}.

Nos últimos anos, além de ser estudado em SCA, estes marcadores têm sido estudados em pacientes com doença arterial coronariana estável, na tentativa de melhor estratificar o risco. Zebrack et al. verificou em 1360 pacientes com doença coronariana severa, em acompanhamento médio de 2,8 anos, o alto poder prognóstico da PCRus²³. Achado similar foi encontrado para IL-18¹⁶, IL-10¹¹ e BNP³, demonstrando ser um forte preditor para morte cardiovascular de pacientes com angina estável. Alguns destes achados não foram reproduzidos por outros autores¹², permanecendo dúvidas sobre quais marcadores são mais relevantes e poderiam ser utilizados na prática clínica.

Apesar dos recentes avanços na área, muitas lacunas permanecem no conhecimento sobre os fatores que antecedem períodos de instabilização e sua relação com ativação inflamatória basal. A ruptura de placas vulneráveis com formação de trombo intraluminal representa a mais importante transformação de lesões coronarianas estáveis em clinicamente instáveis, e crescentes evidências têm demonstrado associação com infiltração de leucócitos e linfócitos, sua ativação e degranulação, em indivíduos com síndromes isquêmicas agudas^{11,13,14}. Contudo, não há estudos descrevendo o perfil do processo inflamatório em períodos anteriores aos eventos coronarianos. A medida seriada seqüencial dos marcadores inflamatórios pode auxiliar no entendimento dos eventos que antecedem quadros de instabilização clínica. O objetivo deste trabalho é descrever o perfil de marcadores inflamatórios, especificamente PCRus, IL-10 e IL-18, e neuro-humorais, com o BNP, nos meses que antecedem a

ocorrência de eventos cardiovasculares, relacionando com preditores clínicos e laboratoriais, bem como a estabilidade dos mesmos.

2. Materiais e Métodos

Delineamento

Estudo de caso-controle, prospectivo, aninhado a uma coorte de pacientes portadores de cardiopatia isquêmica estáveis clinicamente, acompanhados em ambulatório especializado de um Hospital Público Universitário no Brasil.

População em estudo

Os pacientes foram alocados no Ambulatório de Cardiopatia Isquêmica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Foram incluídos 176 pacientes de Agosto de 2003 até Outubro de 2004. O Projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e todos pacientes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo I). Foram incluídos na coorte pacientes com diagnóstico confirmado de cardiopatia isquêmica, estáveis clinicamente. Doença arterial coronariana (DAC) foi definida pela presença de ao menos um dos seguintes critérios: história e evidência eletrocardiográfica de infarto, presença de lesões coronarianas obstrutivas >50% na coronariografia, procedimentos de revascularização miocárdica prévios, ou angina estável com testes não-invasivos sugestivos de isquemia. Pacientes que tivessem apresentado episódios de SCA ou tivessem sido submetidos a algum procedimento (angioplastia ou cirurgia) nos últimos três meses, fossem portadores de alguma colagenose (artrite reumatóide, lupus eritematose sistêmico, etc), neoplasia, insuficiência renal crônica em tratamento dialítico, ou que estivessem com algum procedimento cardíaco agendado foram excluídos desta coorte.

Os pacientes arrolados foram acompanhados prospectivamente para ocorrência de desfechos, sendo aqui considerados casos aqueles que apresentaram um evento no período de acompanhamento. Conforme estabelecido no protocolo, para cada caso foi selecionado seqüencialmente um individuo controle da mesma coorte imediatamente antes ou após a inclusão do caso, em uma proporção de 2 controles para 1 caso, que não tivesse apresentado evento até o final do acompanhamento do estudo (Junho de 2006).

Coleta de dados e amostra de sangue

O ambulatório onde foram arrolados e acompanhados os indivíduos conta com uma estrutura de apoio estável e permanente, com um grupo de profissionais, entre professores, médicos contratados, pós-graduandos, doutorandos e acadêmicos de medicina. Os pacientes têm atendimento regular, uniformizado, baseado em rotinas, com acompanhamento regular em intervalo entre consultas que varia de 3 a 6 meses.

Para os pacientes incluídos no estudo era aplicado um questionário padrão (Anexo II), repetido em todas as consultas. Após cada consulta foram coletadas amostras de sangue venoso periférico – 10 ml de sangue total, em um frasco com EDTA e outro sem EDTA, centrifugados por 15 minutos a uma velocidade de 2000rpm, separado em soro/plasma, com temperatura a 20 °C, sendo congelado a –70 °C para posterior análise.

Amostras de sangue de 30 doadores do Banco de Sangue do hospital foram separadas empregando-se a mesma técnica, e constituíram um grupo controle sadio para análise dos marcadores inflamatórios.

Para análise do estudo de caso-controle foram separadas as amostras coletadas nas duas consultas anteriores ao evento (coleta A e coleta B), no grupo caso e nos controles as amostras disponíveis das duas primeiras consultas (coleta A e coleta B). Em seis pacientes foi avaliada somente uma amostra, pois os pacientes tinham apresentado eventos antes da segunda coleta de sangue, após a inclusão no estudo.

Análise Bioquímica

Para dosagem dos níveis de PCRus foram utilizados ensaios ELISA ultrasensíveis padronizados no Serviço de Bioquímica do HCPA determinados por Imunonefelometria (Dade Behring, Behring Diagnostic, Alemanha), com coeficiente de variação inferior a 5%, com limite inferior de detecção de 0,16 mg/l. A Interleucina 10 foi mensurada pelo método de ELISA com ensaio comercialmente disponível da R&D Systems (Mineápolis, USA); com sensibilidade de < 3,9 pg/ml (intervalo de 31,2 - 2000 pg/ml). A Interleucina 18 foi mensurada de acordo com recomendações do fabricante (Medical & Biológica Laboratories Co. Ltda., Nagoya, Japão), medido por ELISA, com sensibilidade de < 12,5 pg/ml (intervalo de 15,6 – 1000 pg/ml). O Peptídeo Natriurético Tipo B (BNP) foi determinado por imunofluorescência (Biosite, Califórnia, Estados Unidos), com limite inferior de detecção de 5pg/ml.

A análise da PCRus foi realizada no laboratório do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, o BNP no Laboratório Experimental de Cardiologia do mesmo hospital e a IL-10 e IL-18 foram dosadas no laboratório de Biofísica da Pontifícia Universidade Católica de Porto Alegre.

Desfechos

A coorte de paciente foi acompanhada regularmente para ocorrência de desfechos clínicos, avaliados até setembro de 2006. Foram considerados desfechos: óbito de origem cardiovascular, internação por angina instável ou infarto do miocárdio, edema agudo de pulmão ou internação por insuficiência cardíaca descompensada, evento vascular periférico, acidente vascular cerebral isquêmico e arritmias.

Análise Estatística

Variáveis contínuas são apresentadas por média \pm desvio-padrão ou mediana \pm amplitude interquartis (AIQ) e variáveis categóricas como números e porcentagem. Diferenças entre grupos e associação entre variáveis categóricas foram avaliadas por Teste T-Student, de Wilcoxon, Kruskal-Wallis ou Qui-quadrado, quando apropriado.

Os níveis de PCRus e BNP não apresentam distribuição Gaussiana e foi feita a transformação logarítmica destas variáveis. Os marcadores inflamatórios foram analisados através de análise de variação, para estimar efeito do tempo entre as medidas, diferença entre casos e controles e interação entre estes fatores. Correlação entre variáveis contínuas foi estabelecida pelo coeficiente de *Pearson*. A análise de sobrevida regressão de Cox foi utilizada para estimar o risco relativo para desfechos cardíacos, sendo categorizados os pacientes de acordo com níveis baixos ou elevados de marcadores inflamatórios, ajustados para o efeito das características basais e outros marcadores bioquímicos (variáveis com $p < 0,10$ foram incluídas no modelo). A análise da IL10, IL-18 e relação IL18/IL-10 foi conduzida com ponto de corte acima da média. O ponto de corte utilizado para níveis de PCRus foi de 3 mg/l e de BNP de 50 pg/ml. Foram utilizadas curvas de sobrevida (Kaplan-Meier) para análise univariada dos marcadores séricos.

Para avaliar o período de tempo entre as coletas A e B e entre a coleta B e os eventos (grupo dos casos), foi utilizado o teste T de Wilcoxon (não paramétrico), por não apresentar distribuição normal. As análises foram realizadas através do *software* SPSS

11.5 for Windows. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas para valores de $p < 0,05$.

3. Resultados

Características dos Casos e Controles

Dos 176 pacientes com cardiopatia isquêmica que foram incluídos na coorte, 118 foram alocados para o estudo caso-controle, sendo 42 pacientes que apresentaram desfecho cardiovascular (casos) e 76 pacientes do grupo que não apresentou desfecho cardiovascular (controles). Para o grupo controle em 8 casos havia somente um paciente elegível seqüencialmente na lista. Foram avaliadas amostras sanguíneas de 30 indivíduos sadios, coletados de amostras do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Sessenta e oito (58%) dos pacientes eram do sexo masculino, com uma idade média de 63 ± 10 anos (mínimo de 37 e máximo de 81 anos), 58 (50%) eram diabéticos e 93 (80%) eram hipertensos, sendo que não havia diferença significativa entre as variáveis demográficas do grupo com cardiopatia isquêmica que apresentou evento, do grupo de pacientes que não apresentou eventos (Tabela 1). Os casos apresentaram pior classe funcional do que os controles ($p=0,03$).

A fração de ejeção do ventrículo esquerdo foi significativamente inferior nos casos do que nos controles ($48,2 \pm 14,9\%$ vs. $55,3 \pm 11,1\%$; $p= 0,008$). Quando avaliados somente os pacientes que apresentaram eventos vasculares (IAM, angina Instável, AVC isquêmico, ou obstrução arterial periférica) esta diferença não se manteve ($49,9 \pm 14,7\%$ para os casos e $55,3 \pm 11,1\%$ para os controles; $p=0,069$). Não houve diferença significativa no perfil lipídico e metabólico entre os grupos, sendo o colesterol total médio de $183,4 \pm 56,5$ mg/dl nos casos e $190,6 \pm 52,2$ mg/dl no grupo controle ($p=0,20$) e HDL-C $40,1 \pm 14,4$ mg/dl e $41,8 \pm 10,5$ mg/dl ($p=0,19$), respectivamente (Tabela 1). A hemoglobina glicada também foi semelhante, com média de $6,4 \pm 2,2\%$ para o grupo com eventos cardiovasculares versus $5,7 \pm 1,8\%$ para o grupo sem eventos.

Destes pacientes, 15 (12,8%) eram fumantes ativos e 34 (28,8%) nunca haviam fumado. Apresentavam uma média de $23,5 \pm 17,1$ cigarros/dia no grupo dos casos e $21,18 \pm 12,5$ no grupo controle, considerando o maior período de tabagismo de cada paciente. Houve diferença significativa entre os grupos no relato de tabagismo ativo,

sendo que no grupo de casos tinha somente um fumante ativo, enquanto o controle tinha 14 (18,4%).

Em relação a terapia medicamentosa, aproximadamente 95% dos pacientes faziam uso de algum anti-agregante plaquetário e 75% usavam algum tipo de hipolipemiante. Dos pacientes com DM, 16,2% utilizavam insulina.

Coletas casos e controles

A cada coleta os pacientes eram questionados sobre possíveis condições que poderiam interferir nos marcadores inflamatórios, como infecção de vias aéreas superiores, uso de corticóide, etc., não havendo diferença significativa entre os grupos.

A diferença de tempo entre as coletas A e B não foi diferente entre os casos e os controles (141 ± 61 dias para os casos vs. 130 ± 45 dias para os controles; $p=0,27$). Quando comparamos a diferença de tempo entre a coleta A e B e a coleta B e o evento (dos casos), obtivemos diferença entre as médias, 141 ± 61 dias nos casos vs. 128 ± 173 dias nos controles, $p=0,03$).

Desfechos

O tempo de seguimento médio foi de $21,5 \pm 8,9$ meses. Entre os pacientes que apresentaram eventos, 22 (52%) dos pacientes apresentaram evento vascular (angina instável, infarto agudo do miocárdio, evento vascular periférico, ou cerebral isquêmico), 4 (9,5%) insuficiência cardíaca descompensada, 9 (21%) se submeteram a procedimento cardiovascular (3 cirurgia de revascularização miocárdica, 5 angioplastia e uma endarterectomia de carótida) e um paciente apresentou arritmia cardíaca (taquicardia ventricular). Dos pacientes que foram a óbito, 4 foi por IAM e 2 por AVC isquêmico.

Marcadores Inflamatórios

Os níveis de PCRus foram em média de PCR $5,4 \pm 7,1$ mg/l nos casos e $5,2 \pm 7,9$ mg/l nos controles, sem diferença significativa. O mesmo sendo observado para BNP e IL10 entre os grupos (Figura 1). A IL-18 foi o único marcador que apresentou diferença significativa entre os grupos na coleta A ($410,6 \pm 184,9$ pg/ml nos casos vs. 340 ± 133 pg/ml nos controles, $p= 0,037$), sendo que a concentração se mostrava maior nesta coleta do que na coleta B (Tabela 2).

Analisando somente os eventos cardiovasculares (n=22), os achados foram semelhantes, sendo que a diferença entre valores de IL18 na coleta A, apresentou uma tendência de serem mais elevados no grupo de casos (p=0,06) (Tabela 3).

Nos pacientes do grupo sadio, provenientes do banco de sangue, os valores encontrados para todos marcadores foram significativamente inferiores aos indivíduos com cardiopatia isquêmica do grupo casos e controles. Em média o nível de PCRus foi de 1,42mg/l, BNP 5,3 pg/ml; IL10 3,2 pg/ml, IL18 249 pg/ml (Tabela 2).

A comparação entre as coletas A e B demonstrou que os marcadores não modificaram significativamente, a diferença entre as coletas para a PCRus foi de $0,04 \pm 9,0$ mg/l (p=0,83), o BNP 10 ± 13 pg/ml (p=0,34) e a IL10 $0,41 \pm 4,7$ (p=0,32). Somente a IL18 demonstrou redução significativa ($-27,4 \pm 103$ pg/ml; p=0,004), sendo que os resultados foram similares quando avaliado os grupos separadamente. Quando realizada análise dicotômica, tendo como ponto de corte PCR 3,0 mg/l e para o BNP 50 pg/ml, também não obtivemos diferença significativa entre os casos e controles.

Quando avaliado o marcador na coleta A e B, através da análise de correlação de *Pearson*, todos tiveram boa reprodutibilidade nas coletas (Tabela 4), mesmo quando avaliados os casos e controles separadamente. O coeficiente de correlação da PCRus foi 0,76 (p<0,001), do BNP 0,87 (p<0,001), da IL-10 0,49 (p<0,001) e da IL-18 0,74 (p<0,001). Como esperado houve correlação significativa, embora de menor magnitude, entre os diferentes marcadores (Tabela 4). Na análise categórica encontramos 83% de concordância para a PCRus (ponto de corte 3 mg/l; Kappa 0,6; p<0,001), e 86% para o BNP (ponto de corte de 50 pg/ml; Kappa 0,72; p<0,001).

Na análise de sobrevivência de Kaplan-Meier, verificou-se que os marcadores inflamatórios não foram preditores de pior prognóstico (Figura 2), exceto pela relação IL18/IL10 (Figura 3). Na análise multivariada, após ajuste para outras variáveis relacionadas a um pior prognóstico (tabagismo, pressão diastólica, função ventricular e controle glicêmico) a relação IL18/IL10 mostrou significância limítrofe - p = 0,057.

4. Discussão

O valor prognóstico dos marcadores inflamatórios e do BNP em Síndrome Coronariana Aguda está relativamente bem estabelecido. Contudo, a utilização destes em cardiopatia isquêmica estável ainda não está bem definido. Também não está

definido quanto tempo, antes de um evento cardiológico agudo, estes marcadores já apresentariam alterações nos níveis séricos.

Em alguns estudos populacionais, como o *The Reykjavik Study*¹⁵, aonde foram alocados mais de 18 mil indivíduos, sendo dosado a PCRus em quase 6500 pacientes, com acompanhamento médio de 20 anos, demonstrou haver uma associação entre este marcador e doença arterial coronariana. Em um estudo caso controle originário de uma grande coorte de mais de 170mil pacientes, foi dosado PCRus em 504 casos(pacientes que apresentaram evento cardiológico) e 998 controles, com acompanhamento médio de 7 anos, indicando um aumento do risco coronariano em pacientes com PCRus aumentado⁶. Em estudo prospectivo com 1229 pacientes com cardiopatia isquêmica documentada, dosada a concentração sérica basal de IL18, com um acompanhamento médio de 3,9 anos, foi verificado um aumento significativo do marcador nos pacientes que apresentaram evento cardiovascular fatal¹⁶. Em um seguimento de 7,4 anos, 186 pacientes com cardiopatia isquêmica estável foram acompanhados, demonstrando ser o BNP um marcador de valor prognóstico¹⁷, inclusive independente da função ventricular²².

Em SCA também foi demonstrado que a relação IL18/IL10 foi um preditor independente de evento cardiovascular^{19,20}, demonstrando a importância do balanço entre o processo inflamatório e anti-inflamatório. O aumento da IL10 isoladamente também demonstrou ser fator protetor em SCA²¹. Em boa parte destes estudos observamos um grande número de pacientes estudados e por um longo período de tempo.

Neste estudo, avaliamos os marcadores inflamatórios e o BNP em pacientes com cardiopatia isquêmica estável com a finalidade de verificar se existia diferença entre aqueles que, no decorrer do período de acompanhamento, apresentaram eventos cardiológicos, comparando com aqueles que não apresentaram eventos no mesmo período. Tivemos como objetivo verificar a diferença dos marcadores entre estes dois grupos e verificar se haveria um incremento entre as duas coletas.

A grande maioria dos trabalhos em pacientes com cardiopatia isquêmica estável dosou os marcadores em um determinado momento e seguiram o acompanhamento por vários anos. Neste nosso estudo, o tempo de acompanhamento foi relativamente curto quando comparado com os outros trabalhos. Contudo, foram avaliados os marcadores em um período mais próximo aos eventos, para verificar se haveria uma mudança nos valores próximo a instabilização dos pacientes, o que não ficou comprovado.

Os nossos pacientes também são mais selecionados, pois eles fazem parte de um ambulatório de referência em um hospital terciário. Estes pacientes não deixam de ser graves por estarem clinicamente estáveis. Quando comparados a população sadia, todos os marcadores apresentaram diferença significativa. Os marcadores avaliados nos nossos pacientes não apresentaram diferença significativa entre os dois grupos, mas as médias em todos estavam elevadas, equiparáveis a outros estudos.

Nos nossos resultados, obtivemos diferença significativa somente na IL18 da primeira coleta, estando maior no grupo dos casos. Com base nestes dados, verificamos também uma diferença significativa na curva de sobrevida destes pacientes, o que não foi confirmado quando avaliado concomitantemente com os outros fatores de risco, sendo que esta diferença provavelmente se deva ao relativamente curto período de tempo de observação.

Os outros marcadores (IL10, PCRus e BNP), não apresentaram diferença significativa. O fato de não ter sido encontrado diferença em relação aos outros trabalhos já citados, pode dever-se ao fato de um pequeno n , que não teve poder estatístico para detectar diferenças menores, ao fato de pequeno tempo de acompanhamento e ainda pode estar relacionado a uma população de pacientes mais graves. Com estes resultados, certamente podemos falar com maior certeza, de que não há valor prognóstico, nem como avaliar instabilização, de uma população de pacientes com cardiopatia isquêmica grave.

Outro ponto importante a ser discutido é quanto a boa reprodutibilidade destes marcadores. Todos os marcadores, quando avaliados a correlação entre eles mesmos, demonstraram significância. Recentemente foi questionado a reprodutibilidade da PCRus em pacientes estáveis¹⁸. Os dados que nós encontramos demonstram que estes marcadores são confiáveis quanto a sua dosagem. Isto é de extrema importância, pois em todo o mundo estes marcadores vêm sendo estudados exaustivamente. Se tivéssemos um marcador de mensuração não confiável não teríamos como valorizar estes resultados.

A relação IL18/IL10 foi maior no grupo sadio, com relação ao grupo com cardiopatia isquêmica, isto porque a IL10 diminuiu mais no grupo sadio do que a IL18. Isto deve estar provavelmente relacionado ao fato de não haver um estímulo inflamatório neste grupo, não havendo uma *necessidade* de aumento da IL10 (antiinflamatória) para *proteger* estes pacientes.

Neste estudo tivemos algumas limitações, além das já citadas, como o tempo entre o evento e a última coleta anterior também ter sido maior do que o pretendido, pois em algumas ocasiões os pacientes não compareciam e nem sempre se conseguia resgatá-los em curto espaço de tempo. Além disto, nós coletamos sangue dos pacientes durante o período de um ano e após mantínhamos somente acompanhamento clínico, o que certamente fez com que aumentasse o tempo entre última coleta e o evento.

Com base nestes resultados não podemos, até o momento, sugerir dosagens sistemáticas destes marcadores em pacientes com cardiopatia isquêmica estável, pois estes não demonstraram diferença significativa entre os dois grupos. Ter uma paciente cardiopata isquêmico estável, com marcador sérico aumentado, até o momento não nos indica maior gravidade, nem tampouco nos indica que este paciente tem pior prognóstico, ou que necessitaríamos fazer alguma intervenção precoce. Contudo, precisamos lembrar que muitos pacientes apresentaram evento cardiológico com mais de 3 meses da última coleta (78%), o que pode ser um viés. Não se sabe dizer quanto tempo antes do evento modificaríamos estes marcadores, mas se pode dizer que provavelmente não é dentro de um período maior do que quatro meses. Cabe ressaltar que se o aumento destes marcadores ocorrerem em um período muito próximo do evento clínico, pode até haver um interesse científico, mas certamente a aplicabilidade clínica será limitada.

Podemos considerar que em pacientes graves não há diferença entre os grupos que apresentaram, ou não eventos cardiológicos, mas não podemos afirmar se em uma população de cardiopatas isquêmicos não tão graves, não apresentaria diferença nestes marcadores.

Bibliografia

1. Pearson et al. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease. *Circulation* 2003; 107:499-511.
2. Sabatine MS; Morrow DA; de Lemos JA; Gibson CM; Murphy SA; Rifai N; McCabe C; Antman EM; Cannon CP; Braunwald E. Multimarker approach to risk stratification in non-ST elevation acute coronary syndromes: simultaneous assessment of troponin I, C-reactive protein, and B-type natriuretic peptide. *Circulation* 2002; 105(15):1760-3.
3. Omland et al. B-Type Natriuretic Peptide and Long-Term Survival in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol* 2005; 95:24-28.
4. Mattioli AV; Bonetti L; Zennaro M; Ripa S; Mattioli G. Prognostic value of iron, nutritional status indexes and acute phase protein in acute coronary syndromes. *Ital Heart J* 2002; 3(3):194-8.
5. Speidl WS; Graf S; Hornykewycz S; Nikfardjam M; Niessner A; Zorn G; Wojta J; Huber K High-sensitivity C-reactive protein in the prediction of coronary events in patients with premature coronary artery disease. *Am Heart J* 2002; 144(3):449-55.
6. Pai JK. et al. Inflammatory Markers and the Risk of Coronary Heart Disease in Men and Women. *N Engl J Med* 2004. 351:2599-610.
7. Luc G; Bard JM; Juhan-Vague I; Ferrieres J; Evans A; Amouyel P; Arveiler D; Fruchart JC; Ducimetiere P; PRIME Study Group. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: the PRIME Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(7):1255-61.
8. Ikonomidis I; Lekakis J; Revela I; Andreotti F; Nihoyannopoulos P. Increased circulating C-reactive protein and macrophage-colony stimulating factor are complementary predictors of long-term outcome in patients with chronic coronary artery disease. *Eur Heart J* 2005;26(16):1618-24.
9. Cesari M; Penninx BW; Newman AB; Kritchevsky SB; Nicklas BJ; Sutton-Tyrrell K; Tracy RP; Rubin SM; Harris TB; Pahor M. Inflammatory markers and cardiovascular disease (The Health, Aging and Body Composition [Health ABC] Study). *Am J Cardiol* 2003; 92(5):522-8.
10. Inoue T; Sakuma M; Yaguchi I; Mizoguchi K; Uchida T; Takayanagi K; Hayashi T; Morooka S. Early recanalization and plasma brain natriuretic peptide as an

indicator of left ventricular function after acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2002; 143(5):790-6.

11. Baidya SG. et al. T Helper Cell Related Interleukins and the Angiographic Morphology in Unstable Angina. *Cytokine* 2005; 30:303-310.

12. Sola et al. Statin Therapy Is Associated With Improved Cardiovascular Outcomes and Levels of Inflammatory Markers in Patients With Heart Failure. *J Card Fail* 2005; 11(8):607.

13. Li JJ; Guo YL; Yang YJ. Enhancing anti-inflammatory cytokine IL-10 may be beneficial for acute coronary syndrome. *Med Hypotheses* 2005;65(1):103-6.

14. McCord et al. B-Type Natriuretic Peptide Levels in Patients in the Emergency Department With Possible Heart Failure and Previous Stable Angina Pectoris and/or Healed Myocardial Infarction. *Am J Cardiol* 2005; 96:1370-1373.

15. Danesh J; Ch.B., Wheeler JG; Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A; Lowe G, Pepys MB, and Gudnason V. C-Reactive Protein and Other Circulating Markers of Inflammation in the Prediction of Coronary Heart Disease *N Engl J Med* 2004;350:1387-97.

16. Blankenberg S. and Col. Interleukin-18 Is a Strong Predictor of Cardiovascular Death in Stable and Unstable Angina. *Circulation* 2002; 106: 24-30.

17. Omland T; Richards AM; Wergeland R; Vik-Mo H. B-type natriuretic peptide and long-term survival in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005;95(1):24-8.

18. Bogaty P; Brophy JM; Boyer L; Simard S; Joseph L; Bertrand F; Dagenais GR. Fluctuating inflammatory markers in patients with stable ischemic heart disease. *Arch Intern Med* 2005;165(2):221-6.

19. Chalikias GK; Tziakas DN; Kaski JC; Hatzinikolaou EI; Stakos DA; Tentes IK; Kortsaris A; Hatseras DI. Interleukin-18: interleukin-10 ratio and in-hospital adverse events in patients with acute coronary syndrome. *Atherosclerosis* 2005;182(1):135-43.

20. Kilik et al. Relation between proinflammatory to anti-inflammatory cytokine ratios and long-term prognosis in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome. *Heart*; 2006; 92:1041-6.

21. Heeschen C. and Col. Serum Level of the Antiinflammatory Cytokine Interleukin-10 Is an Important Prognostic Determinant in Patients With Acute Coronary Syndromes. *Circulation*; 2003; 107: 2109-14.

22. Schnabel R; Lubos E; Rupprecht HJ; Espinola-Klein C; Bickel C; Lackner KJ; Cambien F; Tiret L; Münzel T; Blankenberg S. B-type natriuretic peptide and the risk of cardiovascular events and death in patients with stable angina: results from the AtheroGene study. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(3):552-8.

23. Zebrack et al. Usefulness of High-Sensitivity C-Reactive Protein in Predicting Long-Term Risk of Death or Acute Myocardial Infarction in Patients With Unstable or Stable Angina Pectoris or Acute Myocardial Infarction. *Am J Cardiol* 2002; 89:145-149.

Tabela 1: Características clínicas e demográficas dos pacientes com cardiopatia isquêmica estável.

	Casos (n=42) *	Controle (n=76) *	p
Demográfica			
Idade	62,4 ± 8,6	63 ± 10,8	0,07
Sexo (masculino/ feminino)	26/16	42/34	0,31
História Médica			
Diabete Melito	18 (42,8%)	40(52,3%)	0,36
Hipertensão arterial sistêmica	33(78,6%)	60(78,9%)	0,65
Infarto do miocárdio prévio	24(57,1%)	43(56,6%)	0,90
Angina Instável	12(28,6%)	19(25%)	0,35
Angioplastia percutânea prévia	19(45,2%)	27(35,5%)	0,54
Cirurgia de revascularização prévia	14(33,3%)	25(32,9%)	0,90
Acidente cerebral isquêmico	9(21,4%)	9(11,8%)	0,30
Insuficiência cardíaca sistólica	23(54,8%)	25(32,8%)	0,04
Fração de Ejeção	48,2 ± 14,9%	55,3 ± 11,1%	0,008
Doença Vascular Periférica	15(35,7%)	17(22,3%)	0,18
Tabagismo			0,02
Ativo	1(2,4%)	14(18,4%)	
Parou < 1 ano	4(9,5%)	5(6,6%)	
Parou > 1 ano	26(61,9%)	34(44,7%)	
Nunca Fumou	11(26,2%)	23(30,3%)	
Classe Funcional			0,03
I	22(52%)	57(75%)	
II	14(33,5%)	13(17%)	
III	4(9,5%)	6(8%)	
IV	2(5%)	0	
Exame Físico			
Freqüência Cardíaca	67 ± 9,7	69 ± 12,8	0,35
Pressão arterial sistólica	139,7 ± 19,5	137,6 ± 26,0	0,14
Pressão arterial diastólica	85,0 ± 15,5	81,5 ± 13,9	0,41
Índice de massa corpórea	28,4 ± 4,0	28,5 ± 4,3	0,58
Exames laboratoriais			
Colesterol total (mg/dl)	183,4 ± 56,5	190,6 ± 52,2	0,20
LDL Colesterol(mg/dl)	104,7 ± 42,3	110,1 ± 34,7	0,09
HDL Colesterol(mg/dl)	40,1 ± 14,4	41,8 ± 10,5	0,19
Triglicerídeos(mg/dl)	195,9 ± 136,0	208,6 ± 196,7	0,68
Hb Glicada (%)	6,4 ± 2,2	5,7 ± 1,8	0,42
Medicamentos			
Antiplaquetário			0,85
AAS	37(88%)	69(90,8%)	
Ticlopidina	3(7,2%)	4(5,3%)	
Inibidores da ECA	29(69%)	55(72,4%)	0,90
Antagonista do cálcio	12(28,6%)	12(15,7%)	0,07
Nitratos	19(45,2%)	30(39,5%)	0,41
Betabloqueadores	29(69%)	65(85,5%)	0,09
Diurético	19(45,2%)	43(56,6%)	0,35
Antiarrítmico	8(19,4%)	6(7,9%)	0,05
Hipolipemiantes	29(69%)	59(77%)	0,94

* Dados apresentados em média ± desvio padrão, se não identificado ao contrário.

Tabela 2: Valores médios dos marcadores inflamatórios e BNP no grupo de casos, controles e indivíduos saudios.

Marcador	Média ± DP		p *	Média ± DP	
	Caso	Controle		Sadio	p **
PCR, coleta A (mg/l)	5,4 ± 7,1	5,2 ± 7,9	0,81	1,4 ± 1,4	<0,001
PCR, coleta B (mg/l)	6,0 ± 9,8	4,7 ± 7,0	0,89	1,4 ± 1,4	<0,001
BNP, coleta A (pg/ml)	102,5 ± 105,7	86,3 ± 95,9	0,35	5,3 ± 0,4	<0,001
BNP, coleta B (pg/ml)	98,2 ± 93,8	107,9 ± 125,1	0,70	5,3 ± 0,4	<0,001
IL-10, coleta A (pg/ml)	7,4 ± 4,2	7,2 ± 4,4	0,83	3,2 ± 3,2	<0,001
IL-10, coleta B (pg/ml)	8,3 ± 5,2	7,4 ± 4,7	0,36	3,2 ± 3,2	<0,001
IL-18, coleta A (pg/ml)	410,6 ± 184,9	340 ± 133	0,037	249 ± 102	<0,001
IL-18, coleta B (pg/ml)	349,1 ± 140,21	321,4 ± 128,6	0,32	249 ± 102	0,005
Rel.IL18/IL10, coleta A	65,7 ± 35,9	60,7 ± 46,7	0,66	114 ± 138,6	<0,001
Rel.IL18/IL10, coleta B	52,6 ± 31,8	62,6 ± 64,4	0,56	114 ± 138,6	0,013

* p – comparação entre casos e controles

** p – comparação entre casos, controles versus indivíduos saudios.

Tabela 3: Valores médios dos marcadores inflamatórios e BNP no grupo de casos, somente com eventos vasculares, e controles.

Marcador	Média ± DP		p
	Caso (n=22)*	Controle (n=76)	
PCRA (mg/l)	4,3 ± 5,2	5,2 ± 7,9	0,63
PCRB (mg/l)	6,9 ± 13,3	4,7 ± 7,0	0,87
BNPA (pg/ml)	82 ± 82,9	86,3 ± 95,9	0,53
BNPB (pg/ml)	72,5 ± 62,3	107,9 ± 125,1	0,70
IL-10A (pg/ml)	7,3 ± 4,9	7,2 ± 4,4	0,96
IL-10B (pg/ml)	8,6 ± 4,9	7,4 ± 4,7	0,29
IL-18A (pg/ml)	415,7 ± 214,8	340 ± 133	0,06
IL-18B (pg/ml)	360,6 ± 160,3	321,4 ± 128,6	0,24
Rel.IL18/IL10A	71,3 ± 42,6	60,7 ± 46,7	0,96
Rel.IL18/IL10B	55,1 ± 29,5	62,6 ± 64,4	0,29

* Casos = Eventos Vasculares

Tabela 4: Coeficientes de correlação de *Pearson* entre os marcadores inflamatórios e BNP.

	PCRA	PCRB	BNPA	BNPB	IL10A	IL10B	IL18A	IL18B
PCRA	1							
PCRB	0,76 †	1						
BNPA	0,32 †		1					
BNPB		0,31 †	0,87 †	1				
IL10A	0,23**		0,26***		1			
IL10B		0,04		0,06	0,49 †	1		
IL18A	0,36 †		0,18		0,28 **		1	
IL18B		0,18 *		0,13		0,19 *	0,74 †	1

* p<0,05; **P<0,01 e †P<0,001

Figura 1 – Níveis séricos de marcadores inflamatórios coletados na amostra A por grupo de casos, controles e indivíduos saudáveis. Dados expressos em “boxplot”.

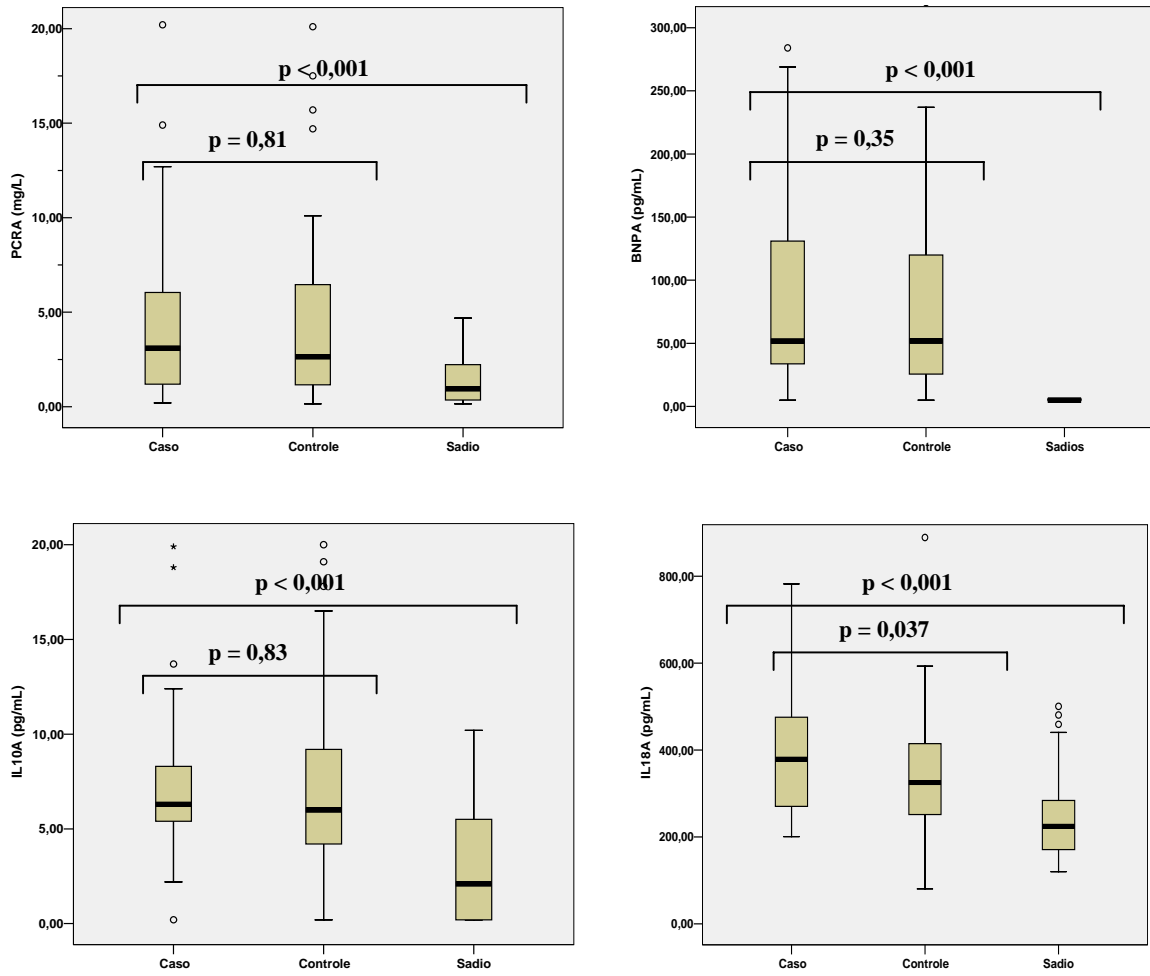


Figura 2 – Curva de Sobrevida de Kaplan-meier estratificado de acordo com níveis de marcadores inflamatórios

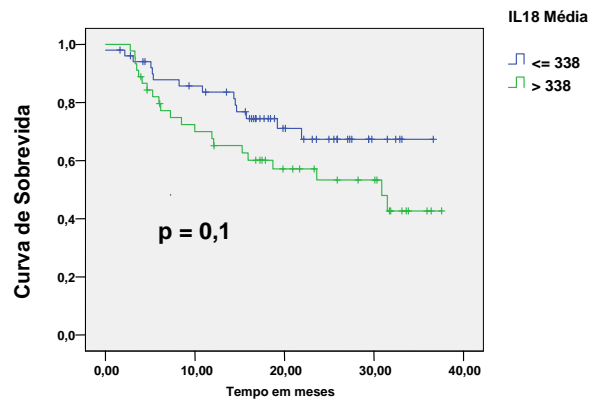
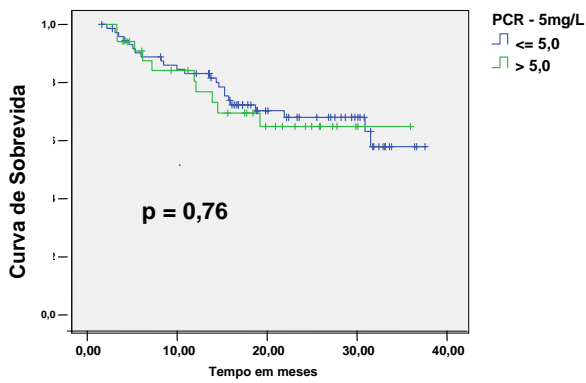
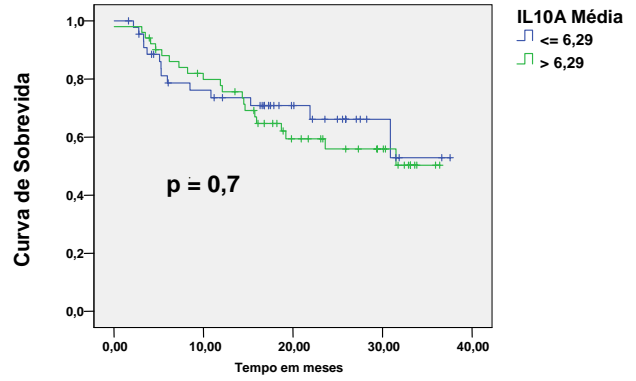
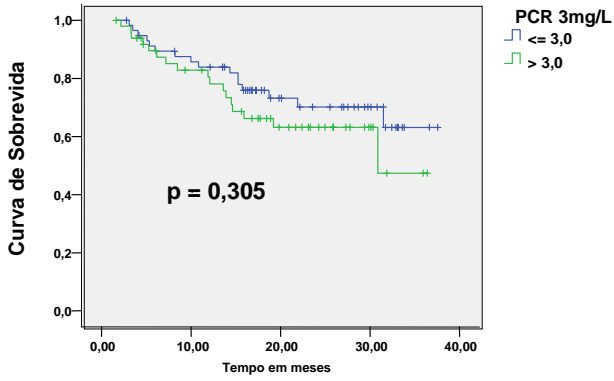
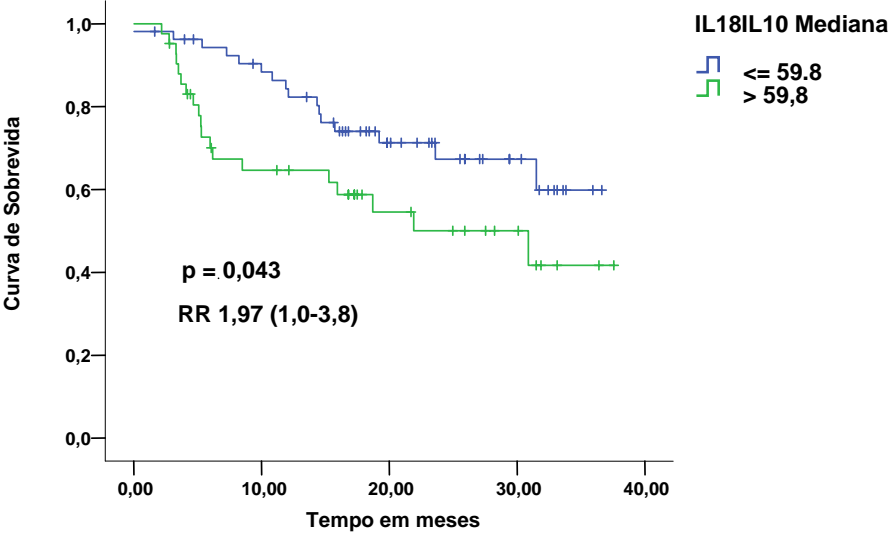


Figura 3 – Curva de sobrevivência de Kaplan-Meier para relação IL18/IL10 estratificado pelo valor da mediana do grupo.



**Value of Inflammatory Markers and Serial BNP in the Prediction of Cardiovascular
Events in Patients with Stable Coronary Artery Disease**

Paulo Vicente Sparano Camargo

Carisi Anne Polanczyk

Post graduate Program in Cardiology of the Federal University of Rio Grande do Sul.

Cardiology Department of the Hospital de Clinicas de Porto Alegre.

Abbreviated Title: Serial inflammatory markers and stable angina pectoris.

Keywords: Inflammation, Acute Coronary Syndrome, Stable Angina, C-Reactive Protein, interleukins, BNP.

Address for correspondence::

Paulo Vicente Sparano Camargo

Rua Ramiro Barcelos, 1793/402
Bom Fim – Porto Alegre/RS/Brasil
CEP 90035-006
Fone: (51) 3022-1989
Fax: (51) 3023-8884
e-mail: sparano@portoweb.com.br

Abstract

Introduction: Recent studies have demonstrated the mechanism of inflammation in the genesis, development and instabilization of the atheroma plaque. Innumerous studies with patients suffering from Acute Coronary Syndrome have evidenced the prognostic value of these markers (IL18, hsPCR, IL10 and BNP). However, the majority of those studies have been evaluating such markers only in a specific moment in time, without serial assessment; with the sole intent to evaluate the alteration of those markers prior to the clinical instability.

Methods: Case-control study attached to a cohort of coronary artery disease patients clinically stable, followed up in a tertiary hospital. The patients were consecutively included in the study, and blood samples were collected in all the appointments (ΔT – 3-4 months), through a minimum period of one year. Cases were all the patients who presented any cardiac event. Forty-two events occurred, and controls were chosen from a sequential listing, achieving a 1:2 ratio. In the controls, the A sample represents the 1st sample, and the B sample, the 2nd sample. In the cases, the A sample represents the second sample prior to the event, and the B sample represents the sample collected immediately prior to the event.

Results: There was no statistically significant difference in the hsCRP (5.4 ± 7.1 mg/L vs. 5.2 ± 7.9 mg/L; $p=0.81$), BNP (102.5 ± 105.7 pg/mL vs. 86.3 ± 95.9 pg/mL; $p=0.35$) e IL10 (7.4 ± 4.2 pg/ml vs. 7.2 ± 4.4 pg/ml; $p=0.83$) between the case and control groups, respectively, in the sample A, with similar results in sample B. Only IL18 showed significant difference in the sample A ($410,6 \pm 184,9$ pg/ml vs. 340 ± 133 ; $p=0,037$). There was no significant increase in the markers from the sample A to the sample B, with an exception to the IL18. In Cox regression analysis, IL18 (HR 1.75 (0.89-3.5; $p=0.11$) and IL18/IL10 ratio (HR 1.97; 1.0-3.8; $p=0.047$) were predictors of worse prognosis.

Conclusion: In this study, hs-CRP and BNP were not different among stable coronary artery disease patients who present and not presented a cardiac event. IL-18, pro-inflammatory marker, and IL-18/IL-10 ratio were predictors of worse outcome.

Key words: Inflammation, Unstable Angina, Stable Angina, IL-10, IL-18, hsCRP, BNP.

1. Introduction

The increase in the knowledge of the pathophysiology of the formation of the atherosclerotic plaque and the better understanding of the dynamic process have been leading to the study of innumerable inflammatory markers. Recent studies have been demonstrating the role of inflammation in the atherosclerotic disease, being related to the formation of the plaque and also responsible for its instabilization¹.

Serum levels of inflammatory markers are elevated in patients with unstable angina and acute myocardial infarction, such as the high-sensitive C-Reactive Protein (hsCRP), Amiloid A, Interleukin (IL) 6, 10 and 18, fibrinogen and others^{2,3}, and presented a relation with the prognosis⁴⁻⁹. Besides inflammatory markers, the neuro-hormone type-B natriuretic peptide (BNP) has been being described as a early indicator of ischemia, infarction and worse prognosis of such clinical conditions^{2,3,10}.

Over the last years, besides being studied in ACS, those markers have been being studied in patients with stable coronary arterial disease, in an attempt improve risk stratification. Zebrack e col. verified, in 1360 patients with severe coronary disease, over a mean follow up of 2.8 years, the high prognostic power of the hsCRP⁵. A similar finding was observed for the IL-18¹⁶, IL-10¹¹ e BNP³, demonstrating to be a strong predictor for cardiovascular death of patients with stable angina. Some of these findings were not reproduced by other authors¹², therefore, remaining doubts onto which markers are more relevant and which could be used in clinical practice.

Despite the recent advances in the area, some of gaps remain in the knowledge over the factors which precede periods of instabilization and its relation to basal inflammatory activation. The rupture of vulnerable plaques with formation of intraluminal thrombus represents the most important transformation of stable coronary lesions into clinical unstable scenarios, and growing evidence have been demonstrating the association with leukocyte and lymphocyte infiltration, its activation and degranulation, among individuals with acute ischemic syndromes^{11,13,14}. Nevertheless, there are no studies describing the profile of the inflammatory process over periods of time prior to the coronary events. Serial sequential measurement of the inflammatory markers can aid in the understanding of the events that precede scenario of clinical instabilization. The objective of this study is to describe the profile of the inflammatory markers, specially hsCRP, IL-10 and IL-18, and neuro-humoral, with the BNP, in the months that precede

the occurrence of cardiovascular events, correlating them with laboratorial and clinical predictors, as well as their stability.

2. Materials and Methods

Design

Case-control study, prospective, rested into a cohort of outpatients diagnosed with ischemic coronary heart disease, clinically stable and followed-up in a specialized department of a university public hospital in Brazil.

Study Population

The patients were allocated in the Ischemic Heart Disease Clinic of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre. From August, 2003 to October, 2004, 176 patients were included. The project was approved by the Committee on Ethics and Research of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre, and all the patients signed informed consent form. In the cohort, patients with a confirmed diagnosis of ischemic heart disease, clinically stable, were included. Coronary arterial disease (CAD) was defined by the presence of at least one of the following criteria: history and electrocardiographic evidence of infarction, presence of obstructive coronary lesions > 50% in the coronary angiography, previous procedures of myocardial revascularization or stable angina with non-invasive tests suggesting ischemia. Patients who had presented episodes of ACS or had been submitted to some procedure (angioplasty or surgery) within the last 3 months; that were suffering from any form of collagenosis (rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, etc.), neoplasms, chronic renal failure undergoing dialysis, or that were currently scheduled for any cardiac procedure were excluded from this cohort.

Patients who entered the study were followed-up prospectively for the occurrence of endpoints, here being considered cases those which presented an event during the follow-up period. As established in the protocol, for each case an individual of the same cohort was selected immediately before or after the inclusion of the case, in a ratio of 2 controls for 1 case, that had not presented event until the end of the study follow-up (June of 2006).

Data collection and blood sample

The outpatients department where the individuals were enrolled and followed is equipped with a steady and permanent supporting structure, with a group of professionals composed of professors, fellow doctors, residents, interns, post graduate students and undergraduate medical students. Patients have a standard, uniform, routine-based appointment, with a regular follow up interval between visits that vary from 3 up to 6 months.

For the patients enrolled in the study, a customary questionnaire was applied, and repeated in all the appointments. After each appointment, peripheral venous blood samples were collected – 10 ml of total blood, in a tube with EDTA and another in a tube without EDTA, centrifuged for 15 minutes at a velocity of 2000rpm, separated into serum/plasma, at a temperature of 20 °C, being stored at –70 °C for later analysis.

Blood samples of 30 donors of the Blood Bank of the hospital were separated, using the same technique, and constituted the healthy control group for the analysis of the inflammatory markers.

For the analysis of the case-control study, the samples collected in both the appointments prior to the event (sample A and sample B) in the case group, and in the controls the available samples of the two first appointments (sample A and sample B) were separated. In six patients, only one sample was evaluated, as the patients had presented events before the second blood sample was obtained, after the inclusion in the study.

Biochemical Analysis

For the measurements of the levels of hsCRP, ELISA assays were used, standardized at the Biochemistry Department of HCPA; determined by Immunofluorimetry (Dade Behring, Behring Diagnostic, Germany), with a coefficient of variation lower than 5%, with an inferior limit of detection of 0.16 mg/l. The interleukin 10 was measured by the ELISA method with an assay commercially available at R&D Systems (Minneapolis, USA), with a sensibility of < 3.9 pg/mL (interval of 31,2 - 2000 pg/mL). The Interleukin 18 was measured according to the manufacturer's recommendations (Medical & Biological Laboratories Co. Ltd., Nagoya, Japan), using ELISA, with a sensitivity of < 12.5 pg/mL (interval of 15.6 – 1000 pg/mL). Finally, the B-

Type Natriuretic Peptide (BNP) was determined by immunofluorescence (Biosite, California, USA), with an inferior limit of 5pg/mL.

The analysis of the hsCRP was performed at the laboratory of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre; the BNP, at the Experimental Laboratory of Cardiology at the same hospital, and the IL-10 and IL-18 were measured at the laboratory of Biophysics of the Pontifícia Universidade Católica de Porto Alegre.

Endpoints

The patient cohort was regularly followed for the occurrence of clinical outcomes, evaluated until September of 2006. We considered death from cardiovascular origin, hospitalization due to unstable angina or myocardial infarction, acute pulmonary edema or hospitalization due to symptomatic cardiac failure, periphery vascular event, ischemic stroke and arrhythmias.

Statistical Analysis

Continual variables are presented by mean \pm standard deviation or median \pm interquartile range (IQR) and categorical variables as numbers and percentages. Differences between groups and association between categorical variables were evaluated by T-Student Test, by Wilcoxon, Kruskal-Wallis or Chi-square test, whenever appropriate.

The levels of hsCRP and BNP do not present a Gauss-like distribution and a logarithmic conversion of those variables was conducted. The inflammatory markers were analyzed by means of variation analysis, in order to estimate the effect of time between the measurements, differences between cases and controls and interaction between these factors. Correlation between continual variables was established by the *Pearson* Coefficient. The analysis of survival regression of Cox was used to estimate the relative risk for cardiac endpoints, being categorized the patients in accordance with low or high levels of inflammatory markers, adjusted for the effect of the basal characteristics and other biochemical markers (variables with $p < 0.10$ were included in the model). The analysis of the IL10, IL-18 and ratio IL18/IL-10 was conducted with a cutpoint above the mean value. The cutpoint used for the levels of usCRP was 3 mg/L and of BNP was 50 pg/mL. Kaplan-Meier curves were used for the univariate analysis of the serum markers.

To evaluate the period of time elapsed between the samples A and B and between the sample B and the events (cases group), the T test of Wilcoxon (non-parametric), was used, due to the fact that it does not present itself in a Gauss-like curve. The analyses were performed with the software SPSS 11.5 for Windows. The differences were considered statistically significant for values of $p < 0.05$.

3. Results

Characteristics of the Cases and Controls

Out of the 176 patients with ischemic heart disease that were included in the cohort, 118 were allocated for the case-control study, divided into 42 patients that presented cardiovascular endpoints (cases) and 76 patients of the group who did not presented cardiovascular outcomes (controls). For the control group, in 8 situations, there was only one sequentially eligible patient on the list. The blood samples of 30 healthy individuals were evaluated collected from samples of the Blood Bank of the Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Sixty-eight (58%) patients were male, with a mean age of 63 ± 10 years (minimum of 37 and maximum of 81 years), 58 (50%) were diabetic and 93 (80%) were hypertensive, considering that there was no significant difference between the demographic variables of the group with ischemic heart disease that presented the event, and the group of patients that did not present events (Table 1). The cases presented worse functional class than the controls ($p=0.03$).

Left ventricle ejection fraction was significantly inferior in the cases than it was in the controls ($48.2 \pm 14.9\%$ vs. $55.3 \pm 11.1\%$; $p= 0.008$). When evaluating only the patients that presented vascular events (AMI, UA, ischemic stroke or periphery arterial obstruction), such difference was no significant ($49.9 \pm 14.7\%$ for the cases and $55.3 \pm 11.1\%$ for the controls; $p=0.069$). There was no significant difference in the lipid and metabolic profile between the groups, being the mean total cholesterol 183.4 ± 56.5 mg/dL in the cases and 190.6 ± 52.2 mg/dL in the control group ($p=0.20$) and HDL-C 40.1 ± 14.4 mg/dL and 41.8 ± 10.5 mg/dL ($p=0.19$), respectively (Table 1). The glycated hemoglobin was also similar, with a mean value of $6.4 \pm 2.2\%$ for the eventful group with event versus $5.7 \pm 1.8\%$ for the non-event group.

Of these patients, 15 (12.8%) were active smokers and 34 (28.8%) had never smoked. They presented a mean of 23.5 ± 17.1 cigarettes/day in the cases group and 21.2 ± 12.5 in the control group, no significant difference, considering the greatest period of smoking of each patient. There was significant difference between the groups in the report of active smoking, considering among cases there was only one active smoker, whereas the control group had 14 (18.4%) smokers.

Regarding the drug therapy, approximately 95% of the patients used some kind of anti-platelet binding drug and 75% used a lipid-lowering drug. Among patients with DM, 16.2% used insulin.

Cases and controls

At each sampling procedure, the patients were inquired about possible medical conditions that could interfere with the inflammatory markers, such as infections on the upper airway, corticoid usage, etc, not being evidenced significant difference between both groups.

The time span between the A and B sampling was not different between the cases and the controls (141 ± 61 days for the cases vs. 130 ± 45 days for the controls; $p=0.27$). When comparing the time difference between the A sampling and the B sampling and the event (of the cases), we found differences between the mean values, 141 ± 61 days in the cases vs. 128 ± 173 days in the controls, $p=0.03$).

Endpoints

The mean follow up time was 21.5 ± 8.9 months. Amongst the patients who presented events, 22 (52%) patients presented a vascular event (unstable angina, acute myocardial infarction, periphery vascular or ischemic stroke); 4 (9.5%), symptomatic cardiac failure; 9 (21%) underwent cardiovascular therapeutic procedure (3 coronary artery bypass surgery; 5 angioplasties; and one endarterectomy) and one patient presented cardiac arrhythmia (ventricular tachycardia). Out of the patients who died, 4 were due to AMI and 2 were due to ischemic cerebral event.

Inflammatory Markers

The levels of hsCRP were, on average, 5.4 ± 7.1 mg/L in the cases and 5.2 ± 7.9 mg/L in the controls, without significant difference. The same was observed for BNP

and IL10 between the groups (Figure 1). The IL-18 was the only marker which presented significant difference between the groups, so that the levels were higher in the sample A than in the sample B (410.6 ± 184.9 pg/mL in the cases vs. 340 ± 133 pg/mL in the controls, $p= 0.037$) (Table 2).

Analyzing only the cardiovascular events ($n=22$), the findings were similar, so that the difference between the levels of IL18 from the A sample presented a tendency of being more elevated in the group of cases ($p=0.06$) (Table 3).

Among the patients of the healthy group, arising from the blood bank, the values found for all the markers were significantly inferior than the ones from the individuals with ischemic heart disease from the cases and controls group. On average, the levels of hsCRP were 1.4mg/L, BNP 5,3 pg/mL; IL10 3,2 pg/mL, IL18 249 pg/mL (Table 2).

The comparison between the A and B samples showed that the markers did not modify, significantly, the difference between the samples for hsCRP (0.04 ± 9.0 mg/L ($p=0.83$), the BNP 10 ± 13 pg/mL ($p=0.34$) and the IL10 0.41 ± 4.7 ($p=0.32$). Only the IL18 showed a significant reduction (-27.4 ± 103 pg/mL; $p=0.004$), taking into account that the results were similar when evaluating the groups separately. When analysis dichotomized was carried out, considering a cut point of hsCRP 3.0 mg/dl and BNP 50 pg/ml, we also did not obtain significant difference between the cases and controls.

When evaluating the marker on the A and B sample, by the correlation analysis method of *Pearson*, all had good reproducibility in the samples (Table 4), even when evaluating the cases and controls separately. The hsCRP correlation coefficient was 0,76 ($p<0.001$), the BNP was 0.87 ($p<0.001$), the IL-10 0.49 ($p<0.001$) and the IL-18 0.74 ($p<0.001$). As expected, there was significant correlation, although of a lesser magnitude, between the different markers (Table 4). In the categorical analysis, we found 83% of concordance for the hsCRP (cutpoint 3 mg/L; Kappa 0.6; $p<0.001$), and 86% for the BNP (cutpoint 50 pg/mL; Kappa 0.72; $p<0.001$).

In the outlive analysis of Kaplan-Meier, it was verified that the inflammatory markers were not predictors of worse prognosis (Figure 2), IL18/IL10 ratio (Figure 3). In the multivariable analysis, after adjustment to other variables related to a poorer prognosis (i.e. smoking, diastolic pressure, ventricular function and glicemic control), the IL18/IL10 showed contiguous significance - $p = 0.057$.

4. Discussion

The prognostic value of the inflammatory markers and of the BNP in Acute Coronary Syndrome is quite well established. However, the utilization of those in stable ischemic heart disease is yet to be defined. It is also not defined in regard to time span, as in, how long before an acute cardiac event such markers would already be presenting alterations in a serum level.

Some ecologic studies, as *The Reykjavik Study*¹⁵, in which more than 18 thousand individuals were allocated, being measured the hsCRP of almost 6500 patients, with a mean follow up of 20 years, demonstrated the existence of an association between this marker and arterial coronary disease. In a case control study derived from a cohort of more than 170 thousand patients, the hsCRP was dosed in 504 cases (patients who had presented cardiac event) and 998 controls, with an average follow up time of 7 years, indicating an increase in the coronary risk in patients with increased usCRP⁶. In a prospective study with 1229 patients with documented ischemic heart disease, the basal serum concentration of IL18 being dosed, with a mean follow up time of 3.9 years, a significant increase of the marker was verified in patients who later presented fatal cardiovascular event. In a follow up of 7.4 years, 186 patients with stable ischemic heart disease were observed, the BNP demonstrating to be a marker of real prognostic value¹⁷, also independently from ventricular function²².

In ACS, it was also demonstrated that the IL18/IL10 ratio was a predictor independently of cardiovascular event^{19,20}, evidencing the importance of the balance between the inflammatory and anti inflammatory process. The increase of the IL10 isolated also demonstrated to be a protector factor in ACS²¹. In a good portion of such studies, we observe a large number of patients studied, and for a long time span.

In this study, we evaluated the inflammatory markers and the BNP in patients with stable ischemic heart disease with the intent to verify if there was any difference between those who, throughout the follow up period, presented cardiac events, compared to those who did not present such events at the same period. We had as an aim to verify the difference of the markers between these two groups and verify if there would be an increase in between the two sampling procedures.

The vast majority of scientific papers on patients with stable ischemic heart disease measured the markers at one point in time and made a follow up for several

years. At our present study, the follow up time was relatively short if compared to other studies. However, the markers were evaluated in a period chronologically closer to the events, in an attempt to verify whether there would be a shift of the values in an instant closer to the instability of the patients, fact that was not confirmed.

Our patients were also more carefully selected, because they integrated a well renowned outpatient department in a tertiary hospital. Such patients do not stop being critical patients just because they are momentarily clinically stable. When compared to the healthy population, all the markers presented significant difference. The markers evaluated in our patients did not present significant difference between the two groups, but the mean values were all elevated, matching values found in other studies.

In our results, we obtained significant difference only in the IL18 of the first sample, being higher in the group of the cases. Considering such data, we also verify a significant difference in the outlive curve of those patients, which was not confirmed when concomitantly evaluated along with other risk factors, fact that could possibly be explained (i.e. the difference found) by the relatively short follow up period.

The other markers (IL10, hsCRP and BNP) did not present significant difference. The fact that there was no significant difference found in relation to other previously mentioned studies could be due to a small n , which did not have statistical power to detect minor differences; could also be due to the little follow up time and could also be related to a population of more critical patients. With these results, we can quite certainly state that there is no prognostic value, nor how to evaluate the instabilities of a population of patients with a critical ischemic heart disease.

Another interesting point that should be discussed relates to the good reproducibility of these markers. All markers, when evaluating the correlation between themselves, demonstrated significance. Recently, the reproducibility of the hsCRP in stable patients was tested¹⁸. The data we found demonstrate that these markers are reliable as to its dosage. That is of crucial importance, once these markers have been exhaustively studied worldwide. If we had a marker whose measurability was untrustworthy, we would not be able to assess the results.

The IL18/IL10 ratio was higher in the healthy group if compared to the ischemic heart disease group, because the IL10 decreased more in the healthy group than the IL18 did. That should probably be related to the fact that there is no inflammatory stimuli in this

group, hence, not existing an urge of an IL10 (anti-inflammatory) increase to protect such patients.

On this study, we had some limitations, apart from the ones already mentioned, as the fact that the time gap between the event and the last sampling was also larger than previously intended, because, in some occasions, the patients did not attend the appointment and not always it was easy to reach them in a feasible amount of time. On top of that, we collected blood from the patients throughout the period of one year and after that we only sustained clinical follow up, which certainly led to an increase of time between the last sampling procedure and the event.

Based on these results, we cannot, at this point in time, suggest systematic dosages of these markers in patients with stable ischemic cardiopathy, because they did not present significant difference between the two groups. Having a stable ischemic heart disease patient, with increased serum marker, up to this point in time, does not indicate us higher graveness, nor does that such patient have worst prognosis, nor even the need to therapeutically intervene precociously. However, we must recall that many patients presented cardiac event within more than 3 months after the last sampling (78%), which could constitute a bias. One cannot precise how long before the event such markers would shift, but it could be said, most likely, it is not within a period greater than 4 months. It is worth to point out that, if the increase of these markers occurs in a period of time quite close to the clinical event, there might be even scientific interest, but most certainly its clinical applicability would be limited.

We could consider that, in critical patients, there is no difference between the groups that presented (or not) cardiac events, but we cannot state if a population of not so critical ischemic heart disease patients would not present difference in these markers.

References

1. Pearson et al. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease. *Circulation* 2003; 107:499-511.
2. Sabatine MS; Morrow DA; de Lemos JA; Gibson CM; Murphy SA; Rifai N; McCabe C; Antman EM; Cannon CP; Braunwald E. Multimarker approach to risk stratification in non-ST elevation acute coronary syndromes: simultaneous assessment of troponin I, C-reactive protein, and B-type natriuretic peptide. *Circulation* 2002; 105(15):1760-3.
3. Omland et al. B-Type Natriuretic Peptide and Long-Term Survival in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol* 2005; 95:24-28.
4. Mattioli AV; Bonetti L; Zennaro M; Ripa S; Mattioli G. Prognostic value of iron, nutritional status indexes and acute phase protein in acute coronary syndromes. *Ital Heart J* 2002; 3(3):194-8.
5. Speidl WS; Graf S; Hornykewycz S; Nikfardjam M; Niessner A; Zorn G; Wojta J; Huber K High-sensitivity C-reactive protein in the prediction of coronary events in patients with premature coronary artery disease. *Am Heart J* 2002; 144(3):449-55.
6. Pai JK. et al. Inflammatory Markers and the Risk of Coronary Heart Disease in Men and Women. *N Engl J Med* 2004. 351:2599-610.
7. Luc G; Bard JM; Juhan-Vague I; Ferrieres J; Evans A; Amouyel P; Arveiler D; Fruchart JC; Ducimetiere P; PRIME Study Group. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: the PRIME Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23(7):1255-61.
8. Ikonomidis I; Lekakis J; Revela I; Andreotti F; Nihoyannopoulos P. Increased circulating C-reactive protein and macrophage-colony stimulating factor are complementary predictors of long-term outcome in patients with chronic coronary artery disease. *Eur Heart J* 2005;26(16):1618-24.
9. Cesari M; Penninx BW; Newman AB; Kritchevsky SB; Nicklas BJ; Sutton-Tyrrell K; Tracy RP; Rubin SM; Harris TB; Pahor M. Inflammatory markers and cardiovascular disease (The Health, Aging and Body Composition [Health ABC] Study). *Am J Cardiol* 2003; 92(5):522-8.
10. Inoue T; Sakuma M; Yaguchi I; Mizoguchi K; Uchida T; Takayanagi K; Hayashi T; Morooka S. Early recanalization and plasma brain natriuretic peptide as an

indicator of left ventricular function after acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2002; 143(5):790-6.

11. Baidya SG. et al. T Helper Cell Related Interleukins and the Angiographic Morphology in Unstable Angina. *Cytokine* 2005; 30:303-310.

12. Sola et al. Statin Therapy Is Associated With Improved Cardiovascular Outcomes and Levels of Inflammatory Markers in Patients With Heart Failure. *J Card Fail* 2005; 11(8):607.

13. Li JJ; Guo YL; Yang YJ. Enhancing anti-inflammatory cytokine IL-10 may be beneficial for acute coronary syndrome. *Med Hypotheses* 2005;65(1):103-6.

14. McCord et al. B-Type Natriuretic Peptide Levels in Patients in the Emergency Department With Possible Heart Failure and Previous Stable Angina Pectoris and/or Healed Myocardial Infarction. *Am J Cardiol* 2005; 96:1370-1373.

15. Danesh J; Ch.B., Wheeler JG; Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A; Lowe G, Pepys MB, and Gudnason V. C-Reactive Protein and Other Circulating Markers of Inflammation in the Prediction of Coronary Heart Disease *N Engl J Med* 2004;350:1387-97.

16. Blankenberg S. and Col. Interleukin-18 Is a Strong Predictor of Cardiovascular Death in Stable and Unstable Angina. *Circulation* 2002; 106: 24-30.

17. Omland T; Richards AM; Wergeland R; Vik-Mo H. B-type natriuretic peptide and long-term survival in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005;95(1):24-8.

18. Bogaty P; Brophy JM; Boyer L; Simard S; Joseph L; Bertrand F; Dagenais GR. Fluctuating inflammatory markers in patients with stable ischemic heart disease. *Arch Intern Med* 2005;165(2):221-6.

19. Chalikias GK; Tziakas DN; Kaski JC; Hatzinikolaou EI; Stakos DA; Tentes IK; Kortsaris A; Hatseras DI. Interleukin-18: interleukin-10 ratio and in-hospital adverse events in patients with acute coronary syndrome. *Atherosclerosis* 2005;182(1):135-43.

20. Kilik et al. Relation between proinflammatory to anti-inflammatory cytokine ratios and long-term prognosis in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome. *Heart*; 2006; 92:1041-6.

21. Heeschen C. and Col. Serum Level of the Antiinflammatory Cytokine Interleukin-10 Is an Important Prognostic Determinant in Patients With Acute Coronary Syndromes. *Circulation*; 2003; 107: 2109-14.

22. Schnabel R; Lubos E; Rupprecht HJ; Espinola-Klein C; Bickel C; Lackner KJ; Cambien F; Tiret L; Münzel T; Blankenberg S. B-type natriuretic peptide and the risk of cardiovascular events and death in patients with stable angina: results from the AtheroGene study. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(3):552-8.

23. Zebrack et al. Usefulness of High-Sensitivity C-Reactive Protein in Predicting Long-Term Risk of Death or Acute Myocardial Infarction in Patients With Unstable or Stable Angina Pectoris or Acute Myocardial Infarction. *Am J Cardiol* 2002; 89:145-149.

Table 1: Demographic and clinical characteristics of patients with Stable Ischemic Heart Disease

	Case (n=42) *	Control (n=76) *	p
Demographic			
Age	62.4 ± 8.6	63 ± 10.8	0.07
Gender (male/ female)	26/16	42/34	0.31
Medical History			
Diabetes Mellitus	18 (42.8%)	40(52.3%)	0.36
Systemic Arterial Hypertension	33(78.6%)	60(78.9%)	0.65
Previous Myocardial Infarction	24(57.1%)	43(56.6%)	0.90
Unstable Angina	12(28.6%)	19(25%)	0.35
Previous Percutaneous Angioplasty	19(45.2%)	27(35.5%)	0.54
Previous Coronary Bypass Surgery	14(33.3%)	25(32.9%)	0.90
Ischemic Stroke	9(21.4%)	9(11.8%)	0.30
Systolic Heart Failure	23(54.8%)	25(32.8%)	0.04
Ejection Fraction	48.2 ± 14.9%	55.3 ± 11.1%	0.008
Peripheral Vascular Disease	15(35.7%)	17(22.3%)	0.18
Smoking			0.02
Active	1(2.4%)	14(18.4%)	
Quit < 1 year	4(9.5%)	5(6.6%)	
Quit > 1 year	26(61.9%)	34(44.7%)	
Never Smoked	11(26.2%)	23(30.3%)	
Functional Class			0.03
I	22(52%)	57(75%)	
II	14(33.5%)	13(17%)	
III	4(9.5%)	6(8%)	
IV	2(5%)	0	
Physical Exam			
Heart Rate	67 ± 9.7	69 ± 12.8	0.35
Systolic Blood Pressure	139.7 ± 19.5	137.6 ± 26.0	0.14
Diastolic Blood Pressure	85.0 ± 15.5	81.5 ± 13.9	0.41
Body Mass Index	28.4 ± 4.0	28.5 ± 4.3	0.58
Laboratorial Exams			
Total Cholesterol (mg/dL)	183.4 ± 56.5	190.6 ± 52.2	0.20
LDL Cholesterol(mg/dL)	104.7 ± 42.3	110.1 ± 34.7	0.09
HDL Cholesterol(mg/dL)	40.1 ± 14.4	41.8 ± 10.5	0.19
Triglycerides(mg/dL)	195.9 ± 136.0	208.6 ± 196.7	0.68
Glycated Hemoglobin (%)	6.4 ± 2.2	5.7 ± 1.8	0.42
Medication			
Antiplatelet			0.85
AAS	37(88%)	69(90.8%)	
Ticlopidine	3(7.2%)	4(5.3%)	
ECA inhibitors	29(69%)	55(72.4%)	0.90
Calcium Antagonist	12(28.6%)	12(15.7%)	0.07
Nitrates	19(45.2%)	30(39.5%)	0.41
Betablockers	29(69%)	65(85.5%)	0.09
Diuretic	19(45.2%)	43(56.6%)	0.35
Anti-arrhythmic	8(19.4%)	6(7.9%)	0.05
Statins	29(69%)	59(77%)	0.94

* Data presented in mean ± standard deviation, if not identified otherwise.

Table 2: Mean Values of the inflammatory markers and BNP in the group of cases, controls and sane individuals.

Marker	Mean \pm SD		<i>p</i> *	Mean \pm SD	
	Case	Control		Healthy	<i>p</i> **
PCR, sample A (mg/L)	5.4 \pm 7.1	5.2 \pm 7.9	0.81	1.4 \pm 1.4	<0.001
PCR, sample B (mg/L)	6.0 \pm 9.8	4.7 \pm 7.0	0.89	1.4 \pm 1.4	<0.001
BNP, sample A (pg/mL)	102.5 \pm 105.7	86.3 \pm 95.9	0.35	5.3 \pm 0.4	<0.001
BNP, sample B (pg/mL)	98.2 \pm 93.8	107.9 \pm 125.1	0.70	5.3 \pm 0.4	<0.001
IL-10, sample A (pg/mL)	7.4 \pm 4.2	7.2 \pm 4.4	0.83	3.2 \pm 3.2	<0.001
IL-10, sample B (pg/mL)	8.3 \pm 5.2	7.4 \pm 4.7	0.36	3.2 \pm 3.2	<0.001
IL-18, sample A (pg/mL)	410.6 \pm 184.9	340 \pm 133	0.037	249 \pm 102	<0.001
IL-18, sample B (pg/mL)	349.1 \pm 140.21	321.4 \pm 128.6	0.32	249 \pm 102	0.005
Ratio IL18/IL10, sample A	65.7 \pm 35.9	60.7 \pm 46.7	0.66	114 \pm 138.6	<0.001
Ratio IL18/IL10, sample B	52.6 \pm 31.8	62.6 \pm 64.4	0.56	114 \pm 138.6	0.013

* *p* – Comparison between cases and controls

** *p* – Comparison among cases, controls versus healthy individuals.

Table 3: Mean values of the inflammatory markers and BNP in the group of cases, with vascular events and controls only.

Marker	Mean \pm SD		p
	Case (n=22)*	Control (n=76)	
PCRA (mg/L)	4.3 \pm 5.2	5.2 \pm 7.9	0.63
PCRB (mg/L)	6.9 \pm 13.3	4.7 \pm 7.0	0.87
BNPA (pg/mL)	82 \pm 82.9	86.3 \pm 95.9	0.53
BNPB (pg/mL)	72.5 \pm 62.3	107.9 \pm 125.1	0.70
IL-10A (pg/mL)	7.3 \pm 4.9	7.2 \pm 4.4	0.96
IL-10B (pg/mL)	8.6 \pm 4.9	7.4 \pm 4.7	0.29
IL-18A (pg/mL)	415.7 \pm 214.8	340 \pm 133	0.06
IL-18B (pg/mL)	360.6 \pm 160.3	321.4 \pm 128.6	0.24
Ratio IL18/IL10A	71.3 \pm 42.6	60.7 \pm 46.7	0.96
Ratio IL18/IL10B	55.1 \pm 29.5	62.6 \pm 64.4	0.29

* Cases = Vascular Events

Table 4: *Pearson's correlation coefficients between inflammatory markers and BNP.*

	PCRA	PCRB	BNPA	BNPB	IL10A	IL10B	IL18A	IL18B
PCRA	1							
PCRB	0.76 †	1						
BNPA	0.32 †		1					
BNPB		0.31 †	0.87 †	1				
IL10A	0.23**		0.26***		1			
IL10B		0.04		0.06	0.49 †	1		
IL18A	0.36 †		0.18		0.28 **		1	
IL18B		0.18 *		0.13		0.19 *	0.74 †	1

* p<0.05; **P<0.01 and †P<0.001

Fig 1 – Levels of inflammatory markers collected in the sample A group of cases, controls and healthy individuals. Data expressed in "boxplot".

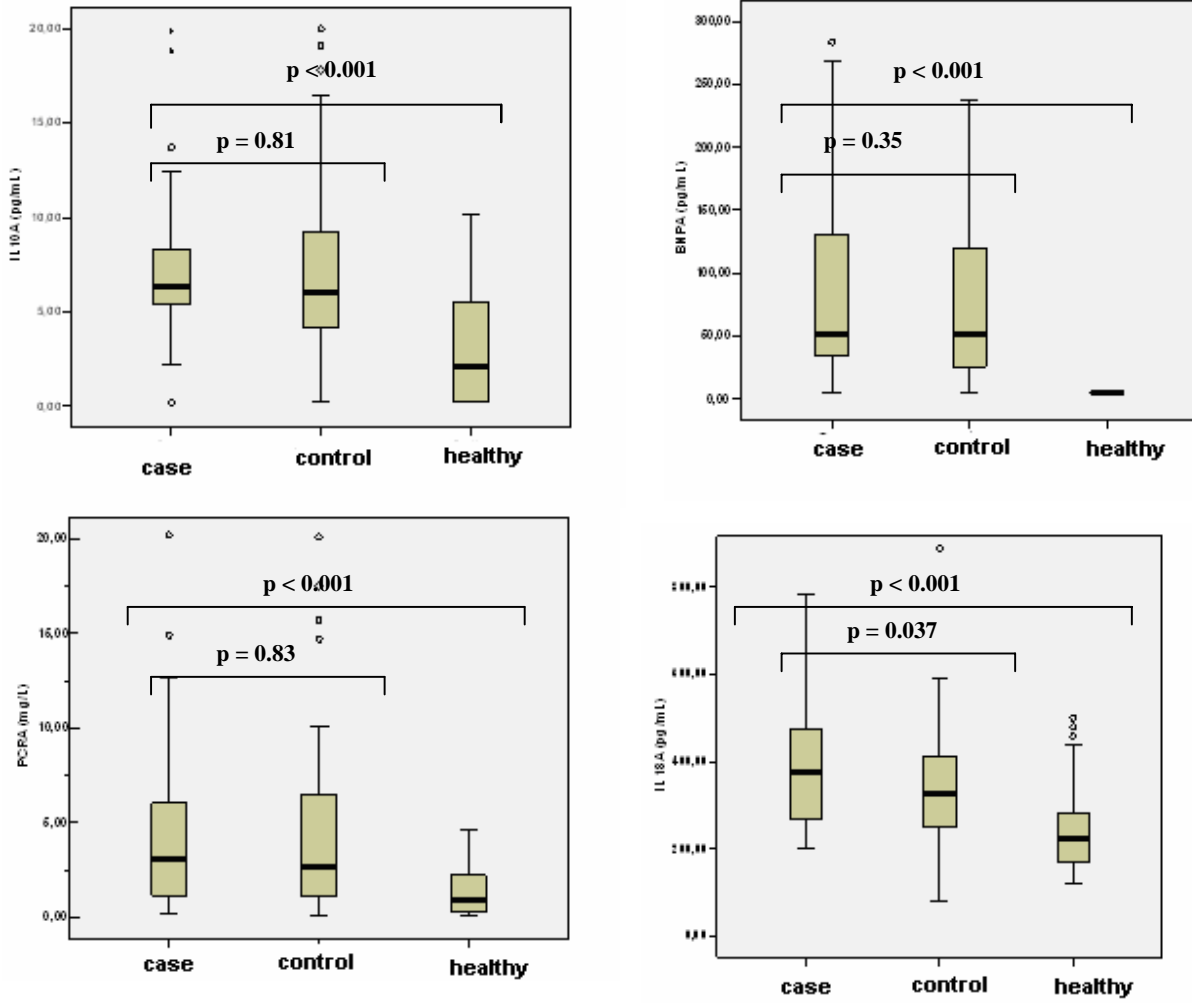


Fig 2 – Kaplan-Meier survival stratified according to levels of inflammatory markers

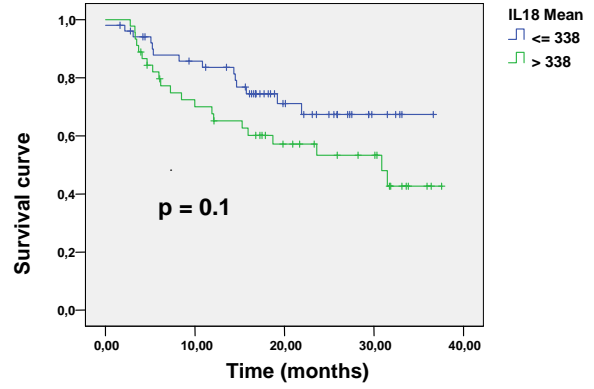
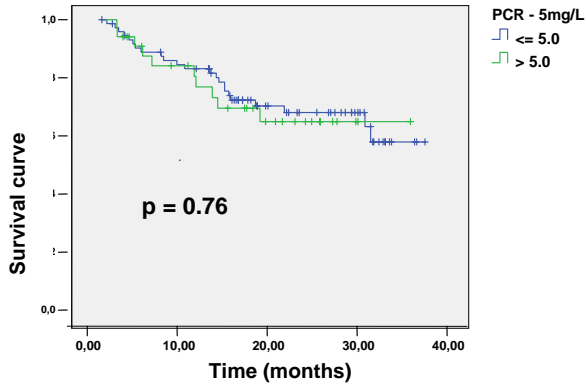
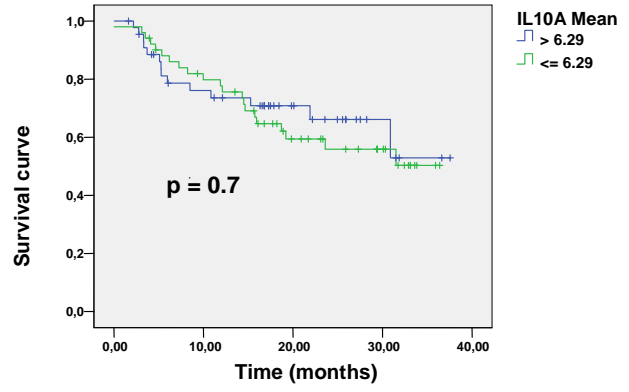
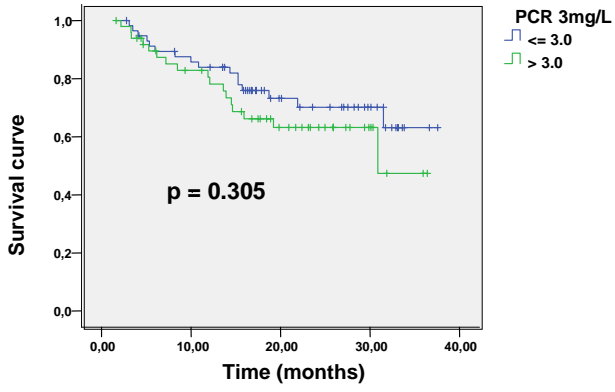
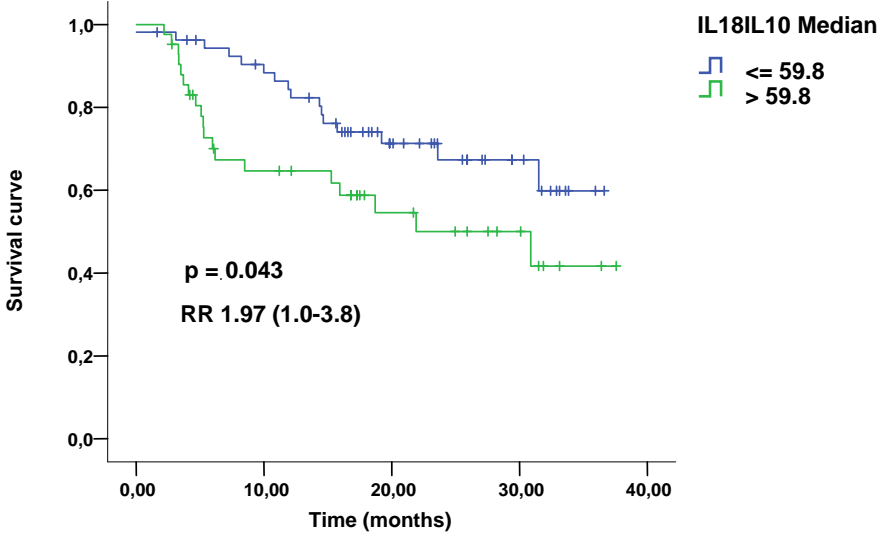


Fig 3 - Kaplan-Meier survival of relation IL18/IL10 stratified by the value of the median of the group



Anexo I

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO AUTORIZAÇÃO PARA PARTICIPAR DE UM PROJETO DE PESQUISA

ESTUDO: VALOR DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS SERIADOS NA PREDIÇÃO DE EVENTOS CORONARIANOS AGUDOS EM PACIENTES COM CARDIOPATIA ISQUÊMICA ESTÁVEL.

O Sr. (a) está sendo convidado (a) a participar de um protocolo de pesquisa. Este protocolo visa obter maior conhecimento a respeito de novos métodos prognósticos, os marcadores inflamatórios, para avaliação de pacientes com cardiopatia isquêmica (infarto ou angina).

Após a assinatura deste termo de consentimento, o Sr., a cada três meses, será solicitado a coletar uma amostra de sangue conforme suas possibilidades e as possibilidades do serviço onde o exame será realizado.

1. EXPLICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

Após o senhor(a) ser selecionado, será aplicado um questionário padronizado para coleta de dados. Depois de responder o questionário, será realizada uma punção venosa com agulha para retirada de sangue. A partir disso, o Sr. será solicitado a comparecer em visitas periódicas separadas por três meses, em que serão realizadas novas retiradas de amostras de sangue. Esse sangue será armazenado em um freezer para posterior análise.

2. POSSÍVEIS RISCOS E DESCONFORTOS

O desconforto é de uma coleta de sangue comum ocasionada pela introdução da agulha na veia. Os riscos de complicação dessa coleta de sangue são mínimos e relacionados, principalmente, hematomas por extravasamento de sangue e inflamações no local.

3. POSSÍVEIS BENEFÍCIOS DESSE ESTUDO

Não é esperado nenhum benefício direto para o paciente, pois é um trabalho observacional e o Sr(a) já estão em acompanhamento no ambulatório de cardiopatia isquêmica. Contudo, espera-se um benefício para este tipo de paciente com a conclusão do trabalho, pois poderemos ter mais um parâmetro (no caso os marcadores) para melhor poder avaliar pacientes com a mesma condição clínica que o Sr(a).

Além disso, os resultados deste estudo poderão contribuir na evolução de métodos prognósticos não invasivos, melhorando a prática médica e oferecendo menos efeitos adversos aos pacientes.

4. EXCLUSÃO DO ESTUDO

O investigador responsável pode excluí-lo(a) do estudo sem seu consentimento quando julgar necessário para o melhor encaminhamento do seu caso ou se não cumprir o programa estabelecido.

5. COBERTURA

Sua participação é voluntária. Não há quaisquer ônus ou gratificações referentes à sua participação neste estudo.

6. DIREITO DE DESISTÊNCIA

O senhor(a) poderá desistir de participar do estudo a qualquer momento. Sua decisão de não participar ou de deixar a pesquisa depois de iniciada não afetará atendimentos futuros nos hospitais participantes nem trará prejuízos ao senhor(a). No caso de dúvidas ou dificuldades relacionadas a pesquisa o Sr(a) poderá entrar em contato com um dos investigadores, Dra. Carisi A Polanczyk ou Dr. Paulo Vicente S. Camargo, pelos telefones: 33168344, 33168671.

7. SIGILO

Todas as informações obtidas através deste estudo, bem como o prontuário hospitalar podem ser publicados com finalidade científica, mantendo-se o sigilo pessoal.

8. CONSENTIMENTO

Declaro ter lido – ou me foram lidas – e entendido as informações acima antes de assinar esse formulário. Foi-me dada ampla oportunidade de fazer perguntas, esclarecendo plenamente minhas dúvidas. Por este instrumento, tomo parte, voluntariamente, no presente estudo.

Assinatura do paciente.....

Testemunha.....

Entrevistador.....

Data/...../.....

Anexo II

VALOR DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS SERIADOS NA PREDIÇÃO DE EVENTOS CORONARIANOS AGUDOS EM PACIENTES COM CARDIOPATIA ISQUÊMICA ESTÁVEL.

Data: _____ Coleta No. _____ – (CPI.MI) No. _____ Prontuário _____

1. Identificação

Nome: _____ Idade: _____ DN: _____ Sexo: (1) M (2) F
Endereço: _____ Telefone: _____

2. Sintomas Atuais (Últimos 3 meses)

Dor / desconforto torácico : Classe Funcional NYHA

- (1) Classe I (5) Claudicação intermitente: _____ metros
(2) Classe II (6) Edema Msls () pé () tornozelo () joelho () coxa
(3) Classe III (7) Outros: _____
(4) Classe IV
HDA _____

3. Diagnóstico / Novos Eventos Cardiovasculares

- (1) Angina Estável: Data: _____
(2) Angina Instável: Data: _____
(3) Outros diagnósticos:
(3a) ICC Classe NYHA: _____
(3b) Arritmias: _____
(3c) Valvulopatias: _____
(3d) Eventos Tromboembólicos: _____
(3e) AVC/AIT: _____ (3f) Outros: _____
(4) IAM: Data: _____
(5) Reinfarto: Data: _____
(5a) lateral alto (5f) lateral
(5b) anterior (5g) ant. extenso
(5c) septal (5h) ântero-septal
(5d) inferior (5i) não-Q
(5e) posterior (5j) VD
(6) Internação Data: _____ Local: _____
(7) Morte – causa mortis: _____
(6a) Por outras causas: _____ (8) Emergência Data: _____ Local: _____

4. Procedimentos / Novos Procedimentos (a) CD (b) DA (c) Cx (d) Mg (e) Dg

- (1) CAT diagnóstico: Data: _____ Vasos: _____ (4) CRM: Data: _____ Vasos: _____
(2) ACTP / Stent: Data: _____ Vasos: _____ Nº de pontes: _____ (4.1) Safena (4.2) Mamária (4.3) outras
(3) trombolítico _____ Data: _____ (5) outras: _____
(6) não soube informar

5. História Mórvida Progressiva (Atual e nos últimos 3 meses)

- (1) Doença Reumatológica: _____ (7) Úlcera Péptica: _____
(2) IVAS/Gripe: _____ (8) DPOC: _____
(3) Doença Vascular Periférica: _____ (9) Neoplasias: _____
(4) Doença Cerebrovascular: _____ (10) Doença Renal: _____
(5) Doença Hepática: _____ (11) Outras: _____
(6) Doença da Tireóide: _____

6. Fatores de Risco Referidos TD = Tempo de Doença

- (1) DM TD _____ (2) HAS TD _____ (6) Atividade física regular: (horas/ semana)
(3) Dislipidemia (3a) Hipercolesterolemia (3b) Hipertriglic (3c) desconhecido (6a) Não (6b) 1-3 (6c) 4-6 (6d) >6
(4) História familiar de CI: (7) História de Tabagismo:
(4a) Pais (4b) Irmãos (4c) Avós Idade Tempo uso: _____ Cig/ dia: _____ Tempo abandono: _____
(4a) Pais (4b) Irmãos (4c) Avós Idade (7a) Tabagismo Atual: Cig/ dia: _____
(5) Obesidade - IMC (8) Bebida alcoólica – quantidade (doses/semana):

7. Medicação em Uso (droga e dose)

- (1) Antiplaquetário: _____ (13) não sabe
(2) IECA: _____ (7) Antiarrítmicos: _____
(3) Antagonistas Cálcio: _____ (8) Anticoagulante Oral: _____
(4) Nitratos: _____ (9) Hipolipemiantes: _____
(5) β-bloqueador: _____ (10) Antidiabéticos: _____
(6) Diuréticos: _____ (11) TRH: _____
(12) Outros: _____

- (14) Uso: (14a) regular (14b) irregular = Motivo: (14ba) preço (14bb) esquecimento (14bc) orientação médica inadequada (14c) Efeitos Adversos das Drogas: _____

8. Laboratório

	Glic. Jejum	Hb Glicosil.	Frutosamina	Col. Total	Col. HDL	Col. LDL	Triglicerídeos
Data							
Valor							

EXAME FÍSICO:

1. Geral

PA 1: ____ / ____ mmHg PA 2: ____ / ____ mmHg Freq. Cardíaca: ____ bpm
Peso: ____ Kg Altura: ____ cm IMC: ____ Cintura: ____ cm Perímetro Braquial: ____ cm

2. Sistema Cardiovascular

(1) Turgência jugular a 45°
(2) Refluxo hepatojugular Sopro cardíaco: (8) Não (9) Sim _____
(3) Sopro carotídeo (3a) Dir (3b) Esq
ACV: (4) RR (5) RI (6) B₃ (7) B₄

3. Sistema respiratório

Ausculta pulmonar :
AP: (1) Normal (2) Crep. Basais (3) Outro

5. Extremidades

(1) Edema de Membros Inferiores ____ +/ 4+
(2) Aquecidas, perfundidas
(3) Pulsos Palpáveis – (3 a) Sim (3 b) Não _____
(4) Outros: _____

Retorno: _____

