

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

TESE DE DOUTORADO:

**“Associação entre os Níveis Plasmáticos da Mieloperoxidase e a  
Gravidade Angiográfica da Doença Arterial Coronariana em  
Pacientes com Síndrome Coronariana Aguda”**

ERALDO DE AZEVEDO LUCIO

Orientador: Prof. DR. MARCO V. WAINSTEIN

Porto Alegre, agosto de 2009

## Agradecimentos

Ao laboratório de Imunologia de Transplantes do Hospital D. Vicente Scherer, na pessoa do Dr. Jorge Neumann e toda equipe, que foram importantes para a logística do trabalho.

Aos Drs. Gilberto Nunes, Alessandra de Oliveira e Trajano Alfonso, do laboratório de hemodinâmica do hospital São Francisco, parte fundamental do trabalho, aliando presteza e alta qualidade.

Ao professor Jarbas de Oliveira, da faculdade de Biociências da PUC-RS, pela seriedade e competência na realização dos testes laboratoriais.

À Daniela Benzano, que realizou os testes estatísticos com muita objetividade e clareza.

A todos acadêmicos da UFRGS envolvidos no trabalho, em especial Fernando Bourscheit e Ana Luisa Zacharias, pelo apoio na inclusão dos pacientes e na coleta das amostras.

Ao professor Celso Blacher (in memorian), que me introduziu nessa longa jornada, com o seu espírito incentivador e de grandeza científica.

Ao Dr. Sandro Cadaval, pela sua inestimável colaboração.

Ao professor Marco Wainstein, orientador sempre presente, que me incentivou e acreditou no nosso trabalho, com otimismo e muita dedicação.

À minha família, Cisa, Rafael e Luiza, pela compreensão e cumplicidade, em todos os momentos.

## ÍNDICE

Revisão da literatura -----	4
<i>Lista de abreviaturas</i> -----	5
<i>Mieloperoxidase</i> -----	6
<i>Avaliação angiográfica</i> -----	26
<i>Referências</i> -----	28
Hipótese conceitual -----	35
Objetivos -----	36
Artigo original (versão em português) -----	37
<i>Associação entre os níveis plasmáticos da mieloperoxidase e a gravidade da doença arterial coronariana em pacientes com síndrome coronariana aguda.</i>	
<i>Tabela</i> -----	52
<i>Figuras</i> -----	53
Artigo original (versão em inglês) -----	56
<i>Association between plasma myeloperoxidase levels and severity of coronary artery disease in patients with acute coronary syndromes.</i>	
<i>Table</i> -----	70
<i>Figures</i> -----	71
Consentimento informado -----	74
Ficha de acompanhamento -----	77

## **Revisão da literatura**

## LISTA DE ABREVIATURAS

BNP	Peptídeo natriurético tipo B
DAC	Doença arterial coronariana
DSVE	Disfunção sistólica ventricular esquerda
HOCl	Ácido hipocloroso
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IM	Infarto do miocárdio
MMP	Metaloproteinases da matriz
MPO	Mieloperoxidase
NT pro-BNP	N-terminal peptídeo natriurético tipo pro-B
ON	Óxido nítrico
PCR-us	Proteína C reativa ultra-sensível
RC	Razão de chances
SCA	Síndrome coronariana aguda
SCASEST	Síndrome coronariana aguda sem elevação de ST

## Mieloperoxidase

A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima encontrada predominantemente nos neutrófilos onde representa cerca de 5% do conteúdo protéico dessas células, constituindo uma das suas mais abundantes proteínas. Na verdade, os neutrófilos são responsáveis por 95% da MPO circulante em humanos.<sup>1,2</sup> Em menor grau, essa enzima é também expressa nos monócitos, em alguns subtipos de macrófagos, nas células de Kupffer e nas células microgliais.<sup>1-4</sup> A síntese da MPO é iniciada no estágio pró-mielóide do desenvolvimento dos neutrófilos e termina no início do estágio mielóide. A proteína madura tem uma massa molecular de, aproximadamente, 150 Kd (daltons). Ela, estruturalmente, consiste de um par de dímeros ligados por uma ponte de bissulfeto, sendo cada dímero composto de uma subunidade de cadeia leve e de outra pesada, com grupos heme funcionalmente idênticos.<sup>5,6</sup>

A MPO é armazenada nos grânulos azurofílicos dos neutrófilos. Ela possui intensa atividade antimicrobiana contribuindo para a defesa imune inata do organismo.<sup>5,7-9</sup> Leucócitos isolados de humanos com deficiência dessa enzima, situação que ocorre em, aproximadamente, uma em 3 a 5 mil pessoas, dependendo da etnia, demonstram capacidade oxidativa reduzida e atividade microbicida alterada, porém essa deficiência só tem aumentado a susceptibilidade do indivíduo às infecções na presença de diabetes.<sup>10</sup> Após ativação e degranulação a MPO é secretada para o interior dos vacúolos fagocitários e espaço extracelular onde interage com o peróxido de Hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e vários substratos endógenos, entre eles o íon cloreto, catalisando a formação de substâncias oxidantes difusíveis como o ácido hipocloroso (HOCl), o radical tirosil e o dióxido de Nitrogênio.<sup>10</sup> A função primária do sistema MPO- $H_2O_2$ , ao que tudo indica, é a de eliminar microrganismos e, para isso, ele forma oxidantes halogenados altamente

reativos dentro do fagócito. Ambos componentes desse sistema podem, entretanto, ser liberados para fora da célula aumentando o potencial para causar dano em algum alvo extracelular. Felizmente, proteínas como a albumina e agentes redutores de baixo peso molecular reagem rapidamente com esses produtos do sistema MPO, removendo-os e impedindo-os de alcançarem órgãos sensíveis de importância biológica de forma indiscriminada.<sup>5</sup> O HOCl, produto inicial do sistema MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Cl<sup>-</sup>, é um potente antimicrobiano, importante para as funções de defesa dos neutrófilos.<sup>7,11,12</sup> Por outro lado, sob condições patológicas ele é capaz de catalisar reações de halogenação, nitração e oxidação numa ampla variedade de alvos que incluem proteínas, lipídios e DNA, promovendo dano tecidual.<sup>13</sup>

A ativação leucocitária e a degranulação dos neutrófilos são mecanismos importantes envolvidos na liberação da MPO no plasma. Por ser uma molécula altamente catiônica, a MPO interage e se liga com proteínas de cargas negativas, se estabelecendo em diversos sítios de inflamação, entre eles, a parede arterial. A MPO e os seus oxidantes reativos têm sido implicados como promotores de estresse oxidativo e de injúria tecidual em diversos estados inflamatórios,<sup>1,2,14-18</sup> mas é na inflamação vascular e no desenvolvimento e na progressão da aterosclerose que essa participação tem recebido maior destaque. Sem dúvida, nos últimos anos tem havido uma gama de publicações baseada em várias linhas de evidência que estabelece uma ligação consistente entre a MPO e doença cardiovascular. A seguir, esses principais mecanismos e evidências serão abordados.

### ***Presença de MPO em lesões ateroscleróticas***

Estudos imuno-histoquímicos em humanos demonstraram a presença da MPO em lesões ateroscleróticas, sugerindo fortemente a sua participação na aterogênese.

Daugherty et al,<sup>19</sup> documentaram a presença da MPO em ateromas de tecido vascular retirados cirurgicamente. Além do mais, foi identificada a presença do HOCl nessas lesões indicando que a MPO estava ativa enzimaticamente. Análises de lesões ateroscleróticas obtidas durante cirurgia vascular revelaram um aumento de 6 vezes da clorotirosina, produto de oxidação do HOCl, em comparação com a íntima da aorta normal.<sup>20</sup> Epítomos de MPO e de seus produtos intermediários também foram identificados em ateromas do tipo II ao tipo VI em concentrações proporcionais à gravidade da lesão.<sup>21</sup> Por fim, Sugiyama et al.,<sup>22</sup> documentaram a presença maciça de MPO numa população de macrófagos em placas ateroscleróticas rotas ou fissuradas de pacientes com síndrome coronariana aguda (SCA).

### ***MPO e disfunção endotelial***

A disfunção endotelial vascular é um dos principais fenômenos que dão início ao processo de aterosclerose.<sup>23</sup> O óxido nítrico (ON) derivado do endotélio exerce funções anti-inflamatórias, de relaxamento de células musculares lisas e de inibição da expressão das moléculas de adesão e da agregação plaquetária. A MPO pode utilizar diretamente o ON como substrato catalisando reações nos sítios de inflamação, in vivo, como na parede arterial, gerando oxidantes capazes de inibir a sua atividade.<sup>24</sup> Para isso, é necessário que através de um processo de transcitose a MPO se acumule no espaço subendotelial do vaso, localização essa, estratégica, para exercer suas funções oxidantes e de nitração da tirosina.<sup>25</sup> Também foi demonstrado que a reação do HOCl com a arginina, substrato do ON, formando produtos clorinados, é capaz de inibir a ON sintetase e interferir com as suas propriedades anti-inflamatórias.<sup>26</sup> Resumindo, a MPO modula o tônus vascular durante a inflamação limitando a biodisponibilidade do ON, exercendo, dessa forma, um papel importante no desenvolvimento de disfunção

endotelial. Vita et al.,<sup>27</sup> numa coorte de 298 pacientes, demonstraram uma correlação fortemente inversa entre os níveis de MPO e resposta vasodilatadora mediada por fluxo da artéria braquial avaliada por ultra-som. Após ajuste para a presença de fatores de risco cardiovasculares tradicionais, medicações e prevalência de doença cardiovascular, a MPO permaneceu preditora de disfunção endotelial, a qual foi 6,4 vezes mais freqüente nos pacientes com o quartil mais elevado da enzima comparado com aqueles com o quartil mais baixo.

### ***Conversão do LDL-colesterol numa forma aterogênica***

Um estudo através de imuno-histoquímica demonstrou a presença de LDL-colesterol oxidado nas lesões ateroscleróticas.<sup>28</sup> A modificação oxidativa da LDL leva ao aumento da sua recaptção e degradação por macrófagos, resultando em depósito de colesterol e formação de células espumosas, marco celular inicial para o desenvolvimento da placa aterosclerótica. Entretanto, a verdadeira importância que o fenômeno oxidativo representa na patogênese da aterosclerose em humanos ainda é motivo de debate.<sup>29,30</sup> Alguns estudos têm demonstrado que a MPO e os seus produtos estão ativos cataliticamente nas lesões ateromatosas.<sup>19,20</sup> Os 2 principais mecanismos de oxidação lipídica pela MPO são:

- 1) Halogenação – onde essa enzima reage com o  $H_2O_2$  e o anion cloro para produzir HOCl, catalisando a formação da clorotirosina. Hazen e Heinecke,<sup>20</sup> demonstraram a presença da 3-clorotirosina numa concentração 30 vezes maior na LDL isolada da íntima arterial lesada comparada com a íntima normal, identificando dessa forma uma forte relação mecanística oxidativa *in vivo*.
- 2) Via espécies reativas de Nitrogênio – onde sob condições fisiológicas monócitos humanos ativados utilizam produtos obtidos da reação  $MPO-H_2O_2-NO_2$ , modificando a

LDL para uma forma aterogênica.<sup>31</sup> A LDL oxidada (NO<sub>2</sub>LDL) é reconhecida pelo receptor CD36,<sup>32</sup> que proporciona a sua captação por macrófagos, promove simultaneamente a nitração da apolipoproteína apoB-100 e participa na formação de células espumosas, estrias gordurosas e placas ateroscleróticas.<sup>2</sup>

### ***Formação de HDL disfuncional***

O HDL-colesterol recebe o colesterol das células espumosas na parede arterial e faz o seu transporte de volta para o fígado. Esse processo chamado de transporte reverso é realizado pela via da ABCA-1 e mediado pela apolipoproteína apoA-1,<sup>33</sup> a principal proteína da HDL. Estudos em animais e em humanos levantaram a hipótese que a HDL também possui propriedades anti-inflamatórias que retardam a doença vascular.<sup>34</sup> Outros estudos, mais recentes, demonstraram que a apoA-1 é um alvo seletivo da oxidação pela MPO e espécies reativas intermediárias através de reações de nitração e cloração, que prejudicam o transporte reverso do colesterol em pacientes com doença cardiovascular.<sup>35,36,37</sup> Além do mais, esses mesmos estudos constataram níveis de nitrotirosina e clorotirosina mais elevados na HDL do plasma de pacientes do que em controles sadios, e na HDL presente nas lesões ateroscleróticas do que na HDL do plasma. Dessa forma, a oxidação do HDL-colesterol pela MPO pode representar um mecanismo molecular específico de conversão dessa lipoproteína cardioprotetora numa forma disfuncional desprovida de ação benéfica cardiovascular.

### ***MPO e placa vulnerável***

A presença de leucócitos é observada desde os estágios iniciais de formação da placa aterosclerótica em modelos animais e em estudos clínicos.<sup>38</sup> Naruko et al.,<sup>39</sup> analisando segmentos de artérias coronárias obtidos em autópsia através de estudos

imuno-histoquímicos, constataram uma intensa infiltração neutrofílica em placas rotas ou erodadas de pacientes com infarto agudo do miocárdio (IAM), comparada com rara detecção em lesões coronarianas de pacientes com morte não cardíaca. Da mesma forma, esses autores constataram uma maior presença de neutrófilos, em espécimes obtidos através de aterectomia, em lesões culpadas de pacientes com angina instável do que em lesões de pacientes com angina estável. Também, Buffon et al.,<sup>40</sup> demonstraram em pacientes com angina instável uma redução do conteúdo intracelular de MPO nos neutrófilos analisados através da circulação arterial coronariana, independente se a lesão culpada pelo evento isquêmico estava localizada no sistema coronariano esquerdo ou direito, introduzindo a hipótese de ativação leucocitária generalizada em pacientes com SCA. Num contexto clínico, Goldmann et al.,<sup>41</sup> analisando o comportamento da MPO em 38 pacientes com IAM, detectaram um rápido aumento dos seus níveis plasmáticos logo após o início dos sintomas, antes mesmo do aumento dos marcadores tradicionais de necrose, sugerindo que a ativação leucocitária é um evento precoce no IAM e que precede a injúria miocárdica.

A MPO parece implicada em vários processos fisiopatológicos envolvidos na vulnerabilidade da placa aterosclerótica coronariana.<sup>42,43</sup> Ela pode participar de complicações isquêmicas da aterosclerose através da ativação da cascata de proteases e da apoptose de células endoteliais, levando ao processo de desestabilização da placa. A MPO promove a inativação oxidativa dos inibidores das proteases  $\alpha$ -1 antitripsina, inibidor tecidual das metaloproteinases e inibidor do plasminogênio ativado PAI-1, e a ativação de formas latentes das metaloproteinases (MMP) da matriz.<sup>43</sup> Estudos histopatológicos documentaram a presença de grandes quantidades de MMP e material trombótico em ateromas ricos em macrófagos de placas vulneráveis predispostas ao afinamento e ruptura da capa fibrosa.<sup>44</sup> Estudo experimental,<sup>45</sup> *in vitro*, demonstrou que

o HOCl gerado pela MPO promove a ativação da MMP-7 latente, contribuindo para a ruptura da placa na parede arterial. Sugiyama et al.,<sup>46</sup> também demonstraram, *in vitro*, a participação do HOCl na apoptose de células endoteliais nas artérias coronárias usando concentrações aumentadas do oxidante, e na expressão do fator tecidual endotelial usando doses subletais. Na verdade, a apoptose parece desempenhar um papel essencial na formação de erosão superficial e trombose em pacientes com SCA.<sup>47</sup>

### ***MPO e remodelamento pós-infarto do miocárdio***

Estresse oxidativo e inflamação são elementos-chave do remodelamento ventricular esquerdo que ocorre após o IAM.<sup>48</sup> A MPO tem sido implicada nesse processo via peroxidação lipídica e nitração de diferentes proteínas estruturais do miocárdio, como o inibidor do plasminogênio ativado (PAI-1). Askari et al.,<sup>49</sup> induziram IAM após ligadura crônica da artéria descendente anterior em ratos nulos para MPO, observando menor infiltração de leucócitos, redução da dilatação ventricular esquerda, preservação da função sistólica e retardo da mortalidade devido à ruptura ventricular. Esses achados sugerem benefícios da supressão da MPO nos efeitos adversos do remodelamento pós-IAM através da inibição da ativação da cascata das proteases, via inibição da oxidação do PAI-1.

A MPO produz aldeídos citotóxicos e produtos da oxidação lipídica capazes de inativar os inibidores das proteases. Vasilyev et al.,<sup>50</sup> estudaram ratos nulos para MPO e ratos selvagens submetidos à ligadura crônica da artéria descendente anterior e ao modelo de isquemia-reperfusão, não encontrando diferenças quanto ao tamanho do infarto produzido entre os dois grupos, mas demonstrando menor dilatação e melhor função ventricular esquerda no grupo desprovido de MPO. Os autores concluíram que a MPO e seus oxidantes produziram efeitos inflamatórios distintos não afetando

significativamente a necrose tecidual, porém contribuindo seriamente com os efeitos adversos do remodelamento pós-IAM.

### ***MPO, genética e doença cardiovascular***

Estudos na área de genética têm incorporado alguns conhecimentos a mais no papel crítico que a MPO desempenha na inflamação vascular. Mutações que promovem deficiência dessa enzima afetam a sua biossíntese impedindo que ela atinja a sua fase madura, ou contribuindo para que ela apresente baixa atividade oxidante. Indivíduos com deficiência total ou subtotal de MPO parecem ter uma menor prevalência de doença cardiovascular.<sup>51</sup> O polimorfismo -463 G/A ou A/A (substituição do G por A), apresenta uma expressão da MPO duas a três vezes menor quando comparado com o genótipo G/G, que tem uma prevalência entre 60 a 66% em países ocidentais.<sup>52</sup> Num estudo caso-controle,<sup>53</sup> indivíduos com o genótipo G/A ou A/A foram identificados como tendo um risco menor de doença arterial coronariana (DAC), efeito esse mediado pelo polimorfismo -463 G/A na transcrição do gene da MPO. Um estudo de coorte,<sup>54</sup> no qual foram acompanhados 139 pacientes com DAC por um período de  $45 \pm 19$  meses, mostrou que aqueles com o genótipo G/G apresentaram maior taxa de eventos cardiovasculares do que os pacientes com os genótipos G/A ou A/A. No nosso meio, Wainstein et al.,<sup>55</sup> num estudo transversal, determinaram o genótipo da MPO em 118 pacientes estáveis submetidos a cateterismo cardíaco eletivo e não encontraram associação entre o polimorfismo -463 G/A da MPO e a gravidade da DAC avaliada por um escore angiográfico. Os níveis plasmáticos da MPO nesse estudo também não foram influenciados pelo polimorfismo. Segundo esses autores, no primeiro caso, a magnitude daquela associação pode ter sido menor do que se esperava e o poder do estudo não ter sido suficiente para demonstrá-la. E, no segundo caso, como se tratavam de pacientes

estáveis, sem ativação leucocitária, a MPO poderia estar armazenada dentro da célula não mostrando diferenças genóticas nos seus níveis plasmáticos. Outros polimorfismos são descritos para o gene da MPO, como o -638C > A e o V53F, que seriam capazes de alterar a expressão da MPO e, desta forma, estarem geneticamente envolvidos na fisiopatologia das doenças cardiovasculares.<sup>56</sup>

### ***MPO como marcador de risco e prognóstico***

Como expostos acima, vários mecanismos fisiopatológicos consistentes ligam a MPO com doença cardiovascular, onde está clara a sua participação no desenvolvimento e na progressão da aterosclerose. Nessa perspectiva, a MPO tem sido de grande interesse para os pesquisadores, talvez por representar processos distintos daqueles detectados pelas ferramentas tradicionais de estratificação de risco, como os marcadores de necrose. Embora deva ser reconhecida a sua especificidade diminuída diante de infecções e estados inflamatórios. Na verdade, na última década, diversos ensaios clínicos revelaram a sua importância como preditora de risco de DAC e de eventos clínicos cardiovasculares em diversos cenários.

#### **Marcador angiográfico de DAC:**

Zhang et al.,<sup>57</sup> num estudo caso-controle, comparando 158 pacientes com DAC estabelecida contra 175 controles sem DAC angiograficamente significativa, demonstraram que os pacientes no primeiro grupo apresentaram níveis plasmáticos e leucocitários de MPO significativamente maiores do que aqueles do grupo sem DAC ( $P < 0,001$ ). Numa análise global, os autores demonstraram que os níveis da MPO no mais alto quartil, comparando com o mais baixo quartil, foram associados com a presença de DAC, com uma razão de chances (RC) de 20,4 (IC 95%= 8,9-47,2) para os níveis plasmáticos, e de 11,9 (IC 95%= 5,5-25,5) para os níveis leucocitários. Essa

relação permaneceu significativa mesmo após ajuste estatístico para fatores de risco tradicionais, escore de risco de Framingham, contagem de leucócitos e dosagem de proteína C reativa. Em outro estudo que incluiu 389 pacientes encaminhados para cateterismo diagnóstico, Cavusoglu et al.,<sup>58</sup> avaliaram um painel de diversos marcadores inflamatórios e constataram através de análise de regressão múltipla que somente a contagem de leucócitos e os níveis plasmáticos de MPO foram preditores independentes de doença multiarterial (estenose  $\geq 2$  vasos), com a MPO demonstrando uma RC de 1,35 (IC 95%= 1,08-1,69;  $P < 0,01$ ). Por outro lado, Kubala et al.,<sup>59</sup> estudando 557 pacientes estáveis submetidos à angiografia coronariana eletiva, não encontraram diferença significativa nos níveis de MPO entre os pacientes com DAC e sem DAC, definida como a presença de estenose de, pelo menos, 50% em qualquer um dos 15 segmentos coronarianos analisados ( $P > 0,05$ ).

#### **Marcador prognóstico na síndrome coronariana aguda:**

Um estudo recente comparou os níveis plasmáticos da MPO em todo o espectro da DAC, concluindo que há um aumento progressivo e significativo desses níveis desde a DAC estável, passando pela síndrome coronariana aguda sem elevação do segmento ST (SCASEST) até o IAM com elevação de ST.<sup>60</sup> No nosso meio, um estudo também confirmou que a MPO está significativamente mais elevada na SCA do que na angina estável.<sup>61</sup> O fato dessa elevação ocorrer durante o processo de desestabilização da placa, desta forma precedendo a necrose miocárdica, originou a hipótese de que a MPO seria um marcador precoce nesses pacientes instáveis. Nesse cenário, diferentes estudos mostraram que os níveis de MPO estão aumentados, com uma sensibilidade entre 80 a 92%, e que essa elevação ocorre dentro das primeiras 3 horas após o início dos sintomas, ou seja, mais precocemente que a elevação da troponina, que é o marcador diagnóstico padrão-ouro de necrose miocárdica. Por outro lado, a principal limitação da

MPO como marcador na SCA parece ser a sua baixa especificidade, que se situa entre 40 e 50%.<sup>revisado na ref. 62</sup>

Dois estudos importantes mostraram fortes evidências preliminares do valor prognóstico complementar da MPO agregado ao da troponina, em pacientes com suspeita de SCA. No primeiro, Baldus et al.,<sup>63</sup> dentro do estudo CAPTURE, avaliaram 1090 pacientes, demonstrando que aqueles com níveis de MPO no tercil mais alto (>350 µg/L) apresentaram mais óbito ou infarto do miocárdio (IM) não fatal dentro de 72 horas, 30 dias e 6 meses da inclusão no estudo, do que aqueles com a MPO no tercil mais baixo ( $P < 0,001$ ). Um aspecto importante desse estudo foi que mesmo em pacientes com troponina negativa ( $TnT < 0,01$  µg/L), níveis de MPO >350 µg/L identificaram um subgrupo com risco aumentado de eventos cardiovasculares (15,9% vs 2%;  $P=0,001$ ). Esse achado sugere que a MPO expressa o estado de inflamação aguda na circulação coronariana indicativo de ativação neutrofílica que precede a injúria miocárdica, e isso explica o aumento precoce nos seus níveis plasmáticos. No outro estudo, Brennan et al.,<sup>64</sup> avaliaram 604 pacientes atendidos no departamento de emergência com dor torácica presumidamente de origem cardíaca, numa média de 4 horas do início dos sintomas, dos quais 78,5% receberam o diagnóstico final de SCA. Esses autores demonstraram que os níveis plasmáticos da MPO, coletada na apresentação dos pacientes, foram preditores de IM, necessidade de revascularização miocárdica, ou óbito, dentro de 30 dias e 6 meses após a apresentação inicial ( $P < 0,001$ ). Os pacientes com níveis plasmáticos de MPO no quartil mais alto ( $\geq 394,0$  pM) tiveram uma maior probabilidade de IM na apresentação, com uma RC de 3,9 (IC 95%= 2,2-6,8), e uma maior probabilidade de eventos cardíacos maiores em 30 dias e em 6 meses, com uma RC de 4,7 (IC 95%= 2,8-7,7) e 4,7 (IC 95%= 2,9-7,7), respectivamente. Semelhante aos achados de Baldus et al.,<sup>63</sup> esse estudo mostrou que a

MPO foi preditora de risco mesmo em pacientes com troponina negativa. Nesse subgrupo, aqueles com a MPO no quartil mais alto apresentaram mais eventos cardiovasculares maiores, em 30 dias e em 6 meses, com uma RC de 4,1 (IC 95%= 2,0-8,4) e 3,9 (IC 95%= 2,0-7,7), respectivamente. Da mesma forma, os níveis de MPO também se elevaram precocemente, dentro de 2 horas do início dos sintomas, o que, certamente, contribuiu para uma rápida estratificação de risco em se tratando de pacientes com dor torácica num departamento de emergência.

Mais recentemente, Cavusoglu et al.,<sup>65</sup> numa coorte de 193 indivíduos do sexo masculino com o diagnóstico de SCA encaminhados para cateterismo cardíaco, fizeram seguimento nesses pacientes de forma prospectiva até o final de 2 anos, observando o aparecimento dos desfechos IM e óbito. Após controle para as variáveis clínicas basais, laboratoriais e angiográficas, a MPO mostrou ser uma forte preditora independente de IM através de análise de regressão múltipla. Os autores demonstraram que a sobrevida livre de IM no período de 2 anos foi de 88% para o grupo de pacientes com valores abaixo de 20,34 ng/mL (mediana), e de 74% para o grupo com valores acima desses níveis (P=0,02 por log-rank test). Esse estudo mostrou o valor prognóstico da MPO também a longo-prazo em pacientes com um amplo espectro de SCA, mesmo naqueles com troponina negativa. Porém, ao contrário do desfecho IM, a MPO não foi preditora de mortalidade nessa coorte, talvez pelo pequeno tamanho da amostra ou porque os seus efeitos representem mais a instabilidade da placa e não outros determinantes poderosos de sobrevida a longo-prazo, como função ventricular esquerda.

Morrow et al.,<sup>66</sup> realizou dosagens de MPO e de CD40 ligante (L) dentro de 24 horas do início dos sintomas em 1524 pacientes com o diagnóstico de SCASEST, tratados com tirofiban e incluídos no ensaio clínico TACTICS-TIMI 18. Os resultados mostraram que pacientes com níveis de MPO acima de 884 pM tiveram um risco maior

de apresentar IM não fatal ou re-hospitalização por SCA no período de 30 dias (9,3 vs 4,6%;  $P < 0,001$ ). Nenhuma diferença foi encontrada com o CD40L quanto à ocorrência desses desfechos ( $P=0,31$ ). A MPO permaneceu associada com recorrência de isquemia após ajuste para idade, infradesnível de ST, DAC prévia, insuficiência cardíaca, troponina I (TnI), proteína C-reativa ultra-sensível (PCR-us) e CD40L, com um RC de 2,10 (IC 95%= 1,36-3,23). Por outro lado, essa associação foi atenuada em 180 dias, com uma RC de 1,26 (IC 95%, 0,95-1,68). Outro dado importante foi que a estratificação usando a combinação dos 3 marcadores MPO, BNP (peptídeo natriurético tipo B) e TnI, identificou um risco de eventos acima de 3 vezes no período de 30 dias, fato esse que desafia a introdução da MPO na rotina clínica, até mesmo em substituição à PCR-us.<sup>67</sup>

Dois estudos de pacientes com IAM foram publicados recentemente. No primeiro, Moccatta et al.,<sup>68</sup> investigaram em 512 pacientes a relação da MPO e do marcador de oxidação carbonil proteína com a mortalidade. Os autores observaram uma maior mortalidade no grupo de pacientes com  $MPO > 55 \mu\text{g/L}$  (mediana), dosada na admissão, com uma RC de 1,8 (IC 95%= 1,0-3,0;  $P=0,034$ ), em 5 anos de acompanhamento após o IAM. Ao contrário, a carbonil proteína não foi discriminatória de sobrevida nessa coorte ( $P= 0,31$ ). Curvas de sobrevida de Kaplan-Meier mostraram que a  $MPO > 55 \mu\text{g/L}$  combinada com a NT pro-BNP (N-terminal peptídeo natriurético tipo pro-B)  $> 110 \text{ pmol/l}$  ou com a fração de ejeção do ventrículo esquerdo  $< 49\%$ , foi preditora de mortalidade no final de 5 anos, inclusive, conferindo um prognóstico pior do que cada um desses outros marcadores isolados. No outro estudo de pacientes com IAM, desta feita com supradesnível do segmento ST, Khan et al.,<sup>69</sup> investigaram em 384 pacientes o valor prognóstico da MPO e fizeram a comparação com o NT pro-BNP. Para isso, foi utilizado o valor da mediana das dosagens de ambos marcadores durante

os 5 primeiros dias desde o início dos sintomas. Os resultados mostraram que a mediana dos níveis de MPO foi 50,6 (15,3-124,1) ng/mL nos pacientes que apresentaram óbito ou re-hospitalização por IM, e 33,5 (6,6-400,2) ng/mL nos sobreviventes sem recorrência de IM (P=0,001). Um modelo de regressão logística combinando os marcadores MPO e NT pro-BNP aumentou a área sob a curva ROC para 76% (IC 95%= 0,69-0,82; P< 0,001), incrementando a capacidade preditora de desfechos primários.

#### **Marcador prognóstico na DAC estável:**

Stefanescu et al.,<sup>70</sup> estudaram 382 pacientes com DAC estável documentada angiograficamente, avaliando de forma prospectiva a associação entre a MPO, coletada antes do estudo angiográfico, e a mortalidade em 5 anos de seguimento. Os pacientes no tercil mais alto de MPO (> 75 µg/L) apresentaram maior mortalidade do que aqueles nos tercils mais baixos (18,3% vs 10,5%, respectivamente), com uma RC de 1,96 (IC 95%= 1,02-3,76; P=0,04). Os pacientes que apresentaram óbito tiveram uma dosagem de MPO com uma tendência a ser mais alta do que a dos sobreviventes (P= 0,06). Por outro lado, a utilização de um modelo de regressão logística para ajuste com outros fatores de risco cardiovasculares não mostrou associação independente da MPO com a mortalidade (P= 0,77). No nosso meio, um estudo realizado com 178 pacientes com angina estável em acompanhamento ambulatorial trimestral, avaliou o valor prognóstico da MPO durante um seguimento médio de 13 ± 4 meses, não encontrando diferença significativa nos seus níveis entre os grupos com e sem eventos cardiovasculares (óbito, IAM, internação por suspeita de SCA e necessidade de revascularização miocárdica percutânea ou cirúrgica), com um valor de P de 0,48.<sup>61</sup>

Apesar de não estar confirmada como preditora independente de mortalidade na DAC estável, a elevação plasmática da MPO está associada com fatores de risco

cardiovasculares que determinam um prognóstico mais adverso e, nesse contexto, ela poderia também ser encarada como um marcador de risco.

### **Marcador prognóstico em indivíduos sadios:**

Um estudo caso-controle realizado entre os participantes do EPIC (European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition)- Norfolk study,<sup>71</sup> avaliou a associação dos níveis da MPO com o risco de DAC futura em indivíduos aparentemente sadios seguidos por um período de 8 anos. Os resultados mostraram que os níveis de MPO foram significativamente mais elevados nos casos (n=1138) do que nos controles (n= 2237), com um valor de  $P < 0,001$ . O risco de DAC foi significativamente mais elevado nos pacientes com o mais alto quartil da MPO comparado com aqueles com o quartil mais baixo, com uma RC de 1,49 (IC 95%= 1,20-1,84;  $P < 0,001$ ). Após ajuste para fatores de risco tradicionais esse risco continuou presente com uma RC de 1,36 (IC 95%= 1,07-1,73;  $P < 0,001$ ). De relevante, nesse estudo, os níveis de MPO foram associados com o risco de futuro aparecimento de DAC nessa população de indivíduos sadios, porém essa associação foi mais fraca do que aquela observada com os fatores de risco tradicionais e com a proteína C reativa (PCR). A MPO também não agregou valor prognóstico ao escore de risco Framingham.

### **MPO, disfunção sistólica e insuficiência cardíaca:**

Num estudo populacional<sup>72</sup> prospectivo, de rastreamento, realizado com 1331 indivíduos sadios de meias-idades, foram dosados os níveis plasmáticos do NT pro-BNP, da PCR e da MPO com a finalidade de detectar a presença de disfunção sistólica ventricular esquerda (DSVE), pré-definida como fração de ejeção  $< 40\%$  pelo ecocardiograma. Num modelo logístico com aqueles 3 fatores a adição da MPO e, em menor grau, da PCR, aumentou a especificidade do NT pro-BNP de 40,5% para 88,4% para o diagnóstico de DSVE oculta. Em outro estudo realizado em pacientes com

insuficiência cardíaca crônica (fração de ejeção < 50%), os níveis plasmáticos de BNP e MPO foram obtidos em 102 pacientes e em 105 controles saudáveis. Houve uma correlação positiva entre a MPO, pior classe funcional (New York Heart Association) e BNP. Os níveis de MPO foram fortemente associados com a prevalência de insuficiência cardíaca, com uma RC de 30,3 (IC 95%= 11,1-94,5), e essa associação permaneceu significativa mesmo após ajuste para idade e BNP (RC= 27,7; IC 95%= 3,6-371,1).<sup>73</sup> Tang et al.,<sup>74</sup> também autores do estudo prévio, estudaram 140 pacientes com insuficiência cardíaca crônica e disfunção sistólica grave (fração de ejeção < 35% pelo ecocardiograma), demonstrando que níveis aumentados de MPO foram associados com uma prevalência aumentada de disfunção diastólica ventricular esquerda e de disfunção sistólica ventricular direita, ambas graves, avaliadas pelo ecocardiograma. A MPO também foi preditora do risco ajustado de desfechos clínicos a longo-prazo (RR= 3,35; IC 95%= 1,52-8,86) e aumentou a acurácia do BNP em prever eventos clínicos adversos futuros.

Por fim, um estudo observacional publicado recentemente,<sup>75</sup> avaliou 412 pacientes atendidos no departamento de emergência com dispnéia, seguindo-os por um período de 1 ano. Diferentemente dos peptídeos natriuréticos BNP e NT pro-BNP, os níveis plasmáticos de MPO não distinguiram pacientes com ou sem o diagnóstico de insuficiência cardíaca aguda descompensada (P= 0,07). A MPO também não foi preditora de mortalidade no seguimento de 1 ano (ROC= 0,53; P=0,55), não adicionando informação prognóstica às dos peptídeos natriuréticos. Wu, em editorial,<sup>76</sup> afastou razões analíticas da MPO para discordância com outros estudos. Ele observou que os níveis de MPO aumentaram em todos os pacientes que se apresentaram com dispnéia aguda, até mais do que nos estudos com insuficiência cardíaca crônica, acima referidos, sugerindo que qualquer distúrbio associado com esse sintoma é suficiente

para estimular a liberação dessa enzima. Poderia se argüir, segundo Wu, que a MPO teria uma utilidade limitada na insuficiência cardíaca, a menos que outras causas de inflamação não cardíaca aguda ou crônica fossem afastadas.

### *Aspectos práticos da dosagem da MPO*

Enquanto os fatores de risco estão envolvidos no processo da doença, os marcadores de risco estão associados com esse processo. A ciência básica tem disponibilizado vários mecanismos para explicar a associação entre a MPO e doença cardiovascular através de estudos clínicos. Múltiplos marcadores de inflamação e de doença cardiovascular têm sido utilizados em conjunto na prática clínica com a idéia de serem mais informativos por agirem sinergicamente. Quando se avalia um marcador é necessário considerar certas especificações atribuíveis ao teste, como: 1) padronização; 2) limites de detecção, estabilidade e precisão; e 3) acessibilidade do custo.

A MPO pode ser dosada no sangue através do método de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), ou o seu conteúdo ser mensurado nos neutrófilos como um índice de degranulação através de citometria de fluxo.<sup>40</sup> Esse último caso envolve o isolamento de uma população de células e requer amostras com um volume maior de sangue. A dosagem da MPO ainda necessita de padronização, porém o método de ELISA tem sido amplamente utilizado em estudos que investigam a utilidade dessa enzima como preditora de risco ou prognóstico. Esse teste é disponibilizado em diversos kits frutos de pesquisa com fins comerciais.<sup>63-65,71</sup>

A dosagem da MPO no soro é mais alta do que no plasma porque além de refletir os níveis circulantes endógenos da MPO ela tem a contribuição da degranulação dos neutrófilos durante o processo de coagulação que ocorre na preparação do soro. Isso se torna mais evidente nos pacientes com uma alta carga aterosclerótica ou com vários

fatores de risco cardiovasculares.<sup>43</sup> A utilização de anticoagulante no tubo de coleta da amostra para posterior centrifugação e obtenção de plasma, vai minimizar essa amplificação da dosagem que ocorre quando se utiliza soro. Dados de Shih et al.,<sup>77</sup> analisando os efeitos do tipo de tubo de coleta utilizado e o manuseio pré-analítico da MPO, indicam que o EDTA (EthyleneDiamine Tetracetic Acid) inibe a liberação leucocitária dessa enzima à temperatura ambiente e, dessa forma, deve ser o anticoagulante preferido para utilização nas amostras.

Chang et al.,<sup>78</sup> observaram que a concentração plasmática da MPO aumentou com o passar do tempo se a amostra sanguínea foi mantida em temperatura ambiente antes de ser processada a centrifugação. Nesse caso, a MPO continuou sendo liberada dos leucócitos ocasionando um falso aumento no sangue. Por outro lado, não ocorreu, essencialmente, nenhum aumento da MPO se a amostra foi colocada imediatamente em banho de gelo logo após ser coletada, mesmo que a centrifugação tenha sido realizada em temperatura ambiente. Os autores recomendam que além da imersão imediata das amostras em banho de gelo, se utilize plasma ao invés de soro para a dosagem da MPO, pelas razões acima referidas.

### ***Implicações terapêuticas***

Baldus et al.,<sup>79</sup> avaliaram o efeito da administração de heparina em 109 pacientes submetidos a cateterismo cardíaco, observando um maior aumento dos níveis plasmáticos da MPO induzido pela medicação naqueles pacientes com doença arterial coronariana comparado com controles (P= 0,01). O tratamento com heparina provocou mobilização da MPO da parede arterial, presumidamente do espaço subendotelial, e a magnitude dessa mobilização se correlacionou com a melhora da função endotelial. Essas observações permitem a hipótese de que a modulação do conteúdo da MPO da

parede arterial após a administração da heparina pode promover efeitos anti-inflamatórios e aumentar a biodisponibilidade do óxido nítrico vascular.

Shishehbor et al.,<sup>80,81</sup> demonstraram em 2 estudos consecutivos que a atorvastatina reduziu os níveis dos oxidantes derivados da MPO e do óxido nítrico, nitrotirosina e clorotirosina, independentemente da redução apresentada nos níveis das lipoproteínas, conferindo, dessa forma, propriedades anti-oxidantes e anti-inflamatórias atribuídas aos efeitos pleotrópicos das estatinas. Mais recentemente, Zhou et al.,<sup>82</sup> num estudo com 78 pacientes com o diagnóstico de SCA, demonstraram que o tratamento com atorvastatina (n=40) obteve redução adicional significativa nos níveis de MPO e PCR (P=0,01 e 0,03, respectivamente), comparado com o tratamento convencional sem hipolipemiantes (n=38), após 1 semana da randomização. Esses efeitos poderiam explicar alguns benefícios clínicos observados com o uso das estatinas em pacientes com SCA.

O conhecimento da estrutura férrica da MPO e dos seus complexos junto com o completo entendimento dos mecanismos de reação, incluindo as propriedades redoxes dos seus intermediários, tem gerado interesse no desenvolvimento de estratégias terapêuticas específicas para inibir a atividade oxidativa dessa enzima. O desenvolvimento de inibidores da MPO sem o comprometimento de suas funções de defesa imune inata do organismo, constitui, entretanto, um grande desafio. Malle et al.,<sup>13</sup> em artigo publicado recentemente, faz uma revisão geral sobre os inibidores potenciais da MPO e o seu modo de ação, esse último, baseado na sua relação estrutura-função e relevância fisiopatológica.

### *Conclusões*

Além de participar da defesa imune inata do organismo, a MPO desempenha um papel importante no processo inflamatório vascular e na progressão da aterosclerose, até a desestabilização da placa coronariana, estando aumentada precocemente na SCA antes mesmo de ocorrer necrose miocárdica. Entretanto, a MPO não é específica para doença cardiovascular desde que pode estar aumentada em qualquer processo inflamatório, infeccioso ou infiltrativo. Em vista do conhecimento adquirido acerca da sua ligação mecânica com, virtualmente, todos os estágios de doença cardiovascular, a MPO tem sido utilizada como marcador de risco e prognóstico não somente na SCA, mas, também, na DAC estável, na insuficiência cardíaca e na doença vascular.

A dosagem da MPO ainda carece de padronização, sendo díspares os pontos de corte utilizados em diversos estudos, talvez devido aos diferentes tipos de amostras e manuseio pré-analítico. A informação de prognóstico adicional atribuída à MPO, além dos fatores de risco cardiovasculares tradicionais e de outros novos biomarcadores, ainda não está completamente caracterizada, necessitando de estudos que comprovem a sua utilidade para ser incorporada na prática clínica como ferramenta independente. Nesse aspecto, a MPO parece ser inferior à proteína C reativa. Por último, o seu papel em determinar intervenções terapêuticas específicas ainda está em investigação.

## **Avaliação angiográfica da doença arterial coronariana**

A angiografia coronariana seletiva é ainda o padrão-ouro para detectar estenoses graves na luz da artéria coronária, embora não informe sobre o processo da doença que ocorre na parede do vaso. Tipicamente, a angiografia somente é considerada positiva quando a estenose é grave o suficiente para limitar fluxo. Esse método diagnóstico permanece a base para fornecer elementos de indicação para revascularização miocárdica, percutânea ou cirúrgica, quer na doença arterial coronariana (DAC) estável, quer diante das síndromes coronarianas agudas.

De um modo geral, a avaliação da gravidade e da extensão das lesões coronarianas, do ponto de vista angiográfico, pode ser feita através de um sistema de escores de acordo com 3 técnicas diferentes. A saber:

1- *Escore do vaso*: Com algumas variações em cada estudo, no qual um valor unitário é dado para cada estenose de 50% ou mais no diâmetro luminal do vaso. O escore pode variar desde zero até o equivalente ao número de vasos coronarianos envolvidos (artérias descendente anterior, circunflexa e direita). Para lesão no tronco da coronária esquerda é também atribuído um valor unitário, assim como para ramos principais com diâmetros  $\geq 2,5$  mm.<sup>58,83,84</sup>

2- *Escore de gravidade*: Criado por Gensini,<sup>85</sup> esse escore tem como conceito fundamental a hipótese de que a gravidade da DAC deva ser considerada uma consequência da significância funcional da obstrução vascular e da extensão da área perfundida pelo vaso ou pelos vasos envolvidos. A presença de uma circulação colateral efetiva, ainda dentro desse conceito, pode modificar o significado funcional de uma obstrução grave ou de uma oclusão total. Resumidamente, de acordo com esse sistema de escores, a árvore arterial é dividida em segmentos. A importância funcional e o

percentual de estreitamento luminal das artérias coronárias nesses segmentos são avaliados e os escores calculados. Escores mais altos, representam doença mais grave. O escore de Gensini é amplamente utilizado. Para exemplificar, alguns estudos avaliaram a associação de hipóxia noturna devido a distúrbio do sono,<sup>86</sup> retinopatia em diabéticos,<sup>84</sup> esclerose valvar aórtica,<sup>87</sup> atividade da prolidase sérica,<sup>88</sup> e mieloperoxidase,<sup>89</sup> com a gravidade da DAC, utilizando esse escore. Este último estudo,<sup>89</sup> realizado com 48 pacientes estáveis com DAC obstrutiva pela angiografia, mostrou que os níveis de MPO se correlacionaram positivamente com o escore de Gensini ( $r= 0,228$ ;  $p= 0,044$ ), e com o escore de Cálcio, avaliado pela tomografia computadorizada com múltiplos detectores, em 30 pacientes controles ( $r= 0,433$ ;  $p= 0,017$ ).

3- *Escore de extensão*: Proposto por Sullivan et al.,<sup>83</sup> indica a proporção da árvore arterial coronariana envolvida, angiograficamente, pelo ateroma. A proporção desse envolvimento, indicado pela irregularidade luminal do vaso é, então, multiplicada por um fator relacionado com o comprimento daquele vaso. Por fim, os escores obtidos em cada vaso são somados para totalizarem um escore de até 100, que significa o percentual da área de superfície intimal coronariana envolvida pelo ateroma. Nesse estudo, foi demonstrada uma maior correlação do escore de extensão do que o escore de estenose com a idade e com as lipoproteínas, a ponto dos autores recomendarem a sua adoção em estudos que examinam a relação entre fatores de risco e aterosclerose coronariana.

Para finalizar, cumpre salientar que a estimativa do grau da estenose do vaso pode ser feita visualmente ou através de angiografia quantitativa em, pelo menos, 2 incidências ortogonais.

## Referências

1. Lau D, Baldus S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. *Pharm Therap* 2006;111:16-26.
2. Nicholls S, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1102-11.
3. Brown KE, Brunt EM, Heinecke JW. Immunohistochemical detection of myeloperoxidase and its oxidation products in Kupffer cells of human liver. *Am J Pathol* 2001;159:2081-8.
4. Green PS, Mendez AJ, Jacob JS, Crowley JR, Growdon W, Hyman BT, et al. Neuronal expression of myeloperoxidase is increased in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2004;90:724-33.
5. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 2005;77:598-625.
6. Hansson M, Olsson I, Nauseef WM. Biosynthesis, processing, and sorting of human myeloperoxidase. *Arch Biochem Biophys* 2006;445:214-24.
7. Klebanoff SJ, Waltersdorff AM, Rosen H. Antimicrobial activity of myeloperoxidase. *Methods Enzymol* 1984;105:399-403.
8. Rausch PG, Pryzwansky KB, Spitznagel JK. Immunocytochemical identification of azurophilic and specific granule markers in the giant granules of Chediak-Higashi neutrophils. *N Engl J Med* 1978;298:693-8.
9. Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Ann Intern Med* 1980;93:480-9.
10. Brennan ML, Hazen SL. Myeloperoxidase: a mechanistically linked biomarker for cardiovascular disease. *Current Cardiovascular Risk Reports* 2007;1:58-65.
11. van Dalen CJ, Whitehouse MW, Winterbourne CC, Kettle AJ. Thiocyanate and chloride as competing substrates for myeloperoxidase. *Biochem J* 1997;327:487-92.
12. Eiserich JP, Hristova M, Cross CE, Jones AD, Freeman BA, Halliwell B, et al. Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. *Nature* 1998;391:393-7.
13. Malle E, Furtmüller PG, Sattler W, Obinger C. Myeloperoxidase: a target for new drug development? *British J Pharm* 2007;152:838-54.
14. Podrez EA, Abu-Soud HM, Hazen SL. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 2000; 28:1717-25.
15. Roman RM, Wendland AE, Polńczyk CA. Mieloperoxidase e doença arterial coronariana: da pesquisa à prática clínica. *Arq Bras Cardiol* 2008;91:e12-e19.
16. Heinecke JW. Mechanisms of oxidative damage by myeloperoxidase in atherosclerosis and other inflammatory disorders. *J Lab Clin Med* 1999;133:321-5.

17. Andreadis AA, Hazen SL, Comhair SA, Erzurum SC. Oxidative and nitrosative events in asthma. *Free Radic Biol Med* 2003;35:213-25.
18. Matthijsen RA, Huugen D, Hoebbers NT, de Vries B, Peutz-Kootstra CJ, Aratani Y, et al. Myeloperoxidase is critically involved in the induction of organ damage after renal ischemia reperfusion. *Am J Pathol* 2007;171:1743-52.
19. Daugherty A, Dunn JL, Rateri DL, Heinecke JW. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1994;94:437-44.
20. Hazen SL, Heinecke JW. 3-Chlorotyrosine, a specific marker of myeloperoxidase-catalyzed oxidation, is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima. *J Clin Invest* 1997;99:2075-81.
21. Malle E, Waeg J, Schreiber R, Gröne EF, Sattler W, Gröne HJ. Immunohistochemical evidence for the myeloperoxidase/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> halide system in human atherosclerotic lesions: colocalization of myeloperoxidase and hypochlorite-modified proteins. *Eur J Biochem* 2000;267:4495-503.
22. Sugiyama S, Okada Y, Sukhova GK, Virmani R, Heinecke JW, Libby P. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *Am J Pathol* 2001;158:879-91.
23. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
24. Abu-Soud HM, Hazen SL. Nitric oxide is a physiological substrate for mammalian peroxidases. *J Biol Chem* 2000;275:37524-32.
25. Baldus S, Eiserich JP, Mani A, Castro L, Figueroa M, Chumley P, et al. Endothelial transcytosis of myeloperoxidase confers specificity to vascular ECM proteins as targets of tyrosine nitration. *J Clin Invest* 2001;108:1759-70.
26. Zhang C, Reiter C, Eiserich JP, Boersma B, Parks DA, Beckman JS, et al. l-arginine chlorination products inhibit endothelial nitric oxide products. *J Biol Chem* 2001;276:27159-65.
27. Vita JA, Brennan ML, Gokce N, Mann S, Goormastic M, Shishehbor MH, et al. Serum myeloperoxidase levels independently predict endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 2004;110:1134-9.
28. O'Brien KD, Alpers CE, Hokanson JE, Wang S, Chait A. Oxidation-specific epitopes in human coronary atherosclerosis are not limited to oxidized low-density lipoproteins. *Circulation* 1996;94:1216-25.
29. Packard RRS, Libby P. Inflammation and atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin Chem* 2008;54:24-38.
30. Steinberg D. The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an up to date. *J Lipid Res* 2009;50:S376-S381.

31. Podrez EA, Schmitt D, Hoff HF, Hazen SL. Myeloperoxidase-generated reactive nitrogen species convert LDL into an atherogenic form in vitro. *J Clin Invest* 1999;103:1547-60.
32. Podrez EA, Febbraio M, Sheibani N, Schmitt D, Silverstein RL, Hajjar DP, et al. Macrophage scavenger receptor CD36 is the major receptor for LDL modified by monocyte-generated reactive nitrogen species. *J Clin Invest* 2000;105:1095-108.
33. Mendez AJ, Anantharamaiah GM, Segrest JP, Oram JF. Synthetic amphipathic helical peptides that mimic apolipoprotein A-1 in clearing cellular cholesterol. *J Clin Invest* 1994;94:1698-1705.
34. Shao B, Oda MN, Oram JF, Heinecke JW. Myeloperoxidase: an inflammatory enzyme for generating dysfunctional high density lipoprotein. *Curr Opin Cardiol* 2006;21:322-8.
35. Zheng L, Nakuna B, Brennan ML, Sun M, Goormastic M, Settle M, et al. Apolipoprotein A-1 is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease. *J Clin Invest* 2004;114:529-41.
36. Bergt C, Pennathur S, Fu X, Byun J, O'Brien K, McDonald TO, et al. The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:13032-7.
37. Pennathur S, Bergt C, Shao B, Byun J, Kassim SY, Singh P, et al. Human atherosclerotic intima and blood of patients with established coronary artery disease contain high density lipoprotein damaged by reactive nitrogen species. *J Biol Chem* 2004;279:42977-83.
38. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-43.
39. Naruko T, Ueda M, Haze K, van der Wal AC, van der Loos CM, Itoh A, et al. Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Circulation* 2002;106:2894-900.
40. Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G, D'Onofrio G, Crea F, Maseri A. Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med* 2002;347:5-12.
41. Goldmann BU, Rudolph V, Rudolph TK, Holle A-K, Hillebrandt M, Meinertz T, et al. Neutrophil activation precedes myocardial injury in patients with acute myocardial infarction. *Free Radic Biol Med* 2009;47:79-83.
42. Hazen SL. Myeloperoxidase and plaque vulnerability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1143-6.
43. Brennan ML, Hazen SL. Myeloperoxidase: a mechanistically linked biomarker for cardiovascular disease. *Curr Cardiovasc Risk Rep* 2007;1:58-65.

44. Aikawa M, Libby P. Vascular inflammation and activation: new targets for lipid lowering. *Eur Heart J* 2001;3(Suppl B):B3-B11.
45. Fu X, Kassim SY, Parks WC, Heinecke JW. Hypochlorous acid oxygenates the cysteine switch domain of pro-matrilysin (MMP-7): a mechanism for matrix metalloproteinase activation and atherosclerotic plaque rupture by myeloperoxidase. *J Bio Chem* 2001;276:41279-87.
46. Sugiyama S, Kugiyama K, Aikawa M, Nakamura S, Ogawa H, Libby P. Hypochlorous acid, a macrophage product, induces endothelial apoptosis and tissue factor expression. Involvement of myeloperoxidase-mediated oxidant in plaque erosion and thrombogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1309-14.
47. Libby P. The molecular mechanisms of the thrombotic complications of atherosclerosis. *J Intern Med* 2008;263:517-27.
48. Penn MS. The role of leucocyte-generated oxidants in left ventricular remodeling. *Am J Cardiol* 2008;101(10A):30D-33D.
49. Askari TA, Brennan ML, Zhou X, Drinko J, Morehead A, Thomas JD, et al. Myeloperoxidase and plasminogen activator inhibitor 1 play a central role in ventricular remodeling after myocardial infarction. *J Exp Med* 2003;197:615-24.
50. Vasilyev N, Williams T, Brennan ML, Unzek S, Zhou X, Heinecke JW, et al. Myeloperoxidase-generated oxidants modulate left ventricular remodeling but not infarct size after myocardial infarction. *Circulation* 2005;112:2812-20.
51. Kutter D, Devaquet P, Vanderstocken G, Paulus JM, Marchal V, Gothot A. Consequences of total and subtotal myeloperoxidase deficiency: risk or benefit? *Acta Haematol* 2000;104:10-15.
52. Reynolds WF, Chang E, Douer D, Ball ED, Kanda V. An allelic association implicates myeloperoxidase in the etiology of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1997;90:2730-7.
53. Nikpoor B, Turecki G, Fournier C, Th  roux P, Rouleau GA. A functional myeloperoxidase polymorphic variant is associated with coronary artery disease in French-Canadians. *Am Heart J* 2001;142:336-9.
54. Asselbergs FW, Reynolds WF, Cohen-Tervaert JW. Myeloperoxidase polymorphism related to cardiovascular events in coronary artery disease. *Am J Med* 2004;116:429-30.
55. Wainstein R, Dornelles LV, Tozzati P, Ashton-Prolla P, Ewald IP, Vietta G, et al. Associação entre polimorfismos da mieloperoxidase e gravidade da doença arterial coronariana (dissertação de mestrado). Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.
56. Chevrier I, Tregouet DA, Massonnet-Castel S, Beaune P, Lorient MA. Myeloperoxidase genetic polymorphisms modulate human neutrophil enzyme activity: genetic determinants for atherosclerosis? *Atherosclerosis* 2006;188:150-4.

57. Zhang R, Brennan ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA* 2001;286:2136-42.
58. Cavusoglu E, Chopra V, Gupta A, Ruwende C, Yanamadala S, Eng C, et al. Usefulness of the white blood cell count as a predictor of angiographic findings in an unselected population referred for coronary angiography. *Am J Cardiol* 2006;98:1189-93.
59. Kubala L, Lu G, Baldus S, Berglund L, Eiserich JP. Plasma levels of myeloperoxidase are not elevated in patients with stable coronary artery disease. *Clin Chim Acta* 2008;394:59-62.
60. Ndrepepa G, Braun S, Mehilli J, von Beckerath N, Schömig A, Kastrati A. Myeloperoxidase level in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes. *Eur J Clin Invest* 2008;38:90-6.
61. Roman RM, Polanczyk CA. Valor prognóstico da mieloperoxidase na doença arterial coronariana: comparação entre pacientes estáveis e instáveis (dissertação de mestrado). Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.
62. Rudolph TK, Rudolph V, Baldus S. Contribution of myeloperoxidase to smoking-dependent vascular inflammation. *Proc Am Thorac Soc* 2008;5:820-3.
63. Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, Zeiher AM, Eiserich JP, Münzel T, et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;108:1440-5.
64. Brennan ML, Penn MS, Van Lente S, Nambi V, Shishehbor MH, Aviles RJ, et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med* 2003;349:1595-604.
65. Cavusoglu E, Ruwend C, Eng C, Chopra V, Yanamadala S, Clark LT, et al. Usefulness of baseline plasma myeloperoxidase levels as an independent predictor of myocardial infarction at two years in patients presenting with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2007;99:1364-8.
66. Morrow DA, Sabatine MS, Brennan ML, de Lemos JA, Murphy SA, Ruff CT, et al. Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18. *Eur Heart J* 2008;29:1096-12.
67. Weber M, Hamm C. Novel biomarkers-the long march from bench to bedside. *Eur Heart J* 2008;29:1079-81.
68. Mocatta TJ, Pilbrow AP, Cameron VA, Senthilmohan R, Frampton CM, Richards AM, et al. Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1993-2000.
69. Khan SQ, Kelly D, Quinn P, Davies JE, Ng LL. Myeloperoxidase aids prognostication together with N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in high-risk patients with acute ST elevation myocardial infarction. *Heart* 2007;93:826-31.

70. Stefanescu A, Braun S, Ndrepepa G, Koppa T, Pavaci H, Mehilli J, et al. Prognostic value of plasma myeloperoxidase concentration in patients with stable coronary artery disease. *Am Heart J* 2008;155:356-60.
71. Meuwese MC, Stroes ES, Hazen SL, van Miert JN, Kuivenhoven JA, Schaub RG, et al. Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPIC-Norfolk Prospective Population Study. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:159-65.
72. Ng LL, Pathik B, Loke IW, Squire IB, Davies JE. Myeloperoxidase and C-reactive protein augment the specificity of B-type natriuretic peptide in community screening for systolic heart failure. *Am Heart J* 2006;152:94-101.
73. Tang WH, Brennan ML, Philip K, Tong W, Mann S, Van Lente F, et al. Plasma myeloperoxidase levels in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2006;98:796-9).
74. Tang WH, Tong W, Troughton RW, Martin MG, Shrestha K, Borowski A, et al. Prognostic value and ecocardiographic determinants of plasma myeloperoxidase levels in chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:2364-70.
75. Shah KB, Kop WJ, Christenson RH, Diercks DB, Kuo D, Henderson S, et al. Lack of diagnostic and prognostic utility of circulating plasma myeloperoxidase concentrations in patients presenting with dyspnea. *Clin Chem* 2008;55:59-67.
76. Wu AHB. Novel biomarkers of cardiovascular disease: myeloperoxidase for acute and/or chronic heart failure? *Clin Chem* 2008;55:12-14.
77. Shih J, Datwyler SA, Hsu SC, Matias MS, Pacenti DP, Lueders C, et al. Effect of collection tube type and preanalytical handling on myeloperoxidase concentrations. *Clin Chem* 2008;54:1076-9.
78. Chang PY, Wu TL, Hung CC, Tsao KC, Sun CF, Wu LL, et al. Development of an ELISA for myeloperoxidase on microplate: normal references values and effect of temperature on specimen preparation. *Clin Chim Acta* 2006;373:158-63.
79. Baldus S, Rudolph V, Roiss M, Ito WD, Rudolph TK, Eiserich JP, et al. Heparins increase endothelial nitric oxide bioavailability by liberating vessel-immobilized myeloperoxidase. *Circulation* 2006;113:1871-8.
80. Shishehbor MH, Aviles RJ, Brennan ML, Fu X, Goormastic M, Pearce GL, et al. Association of nitrotyrosine levels with cardiovascular disease and modulation by statin therapy. *JAMA* 2003;289:1675-80.
81. Shishehbor MH, Brennan ML, Aviles RJ, Fu X, Penn MS, Sprecher DL, et al. Statins promote potent systemic antioxidant effects through specific inflammatory pathways. *Circulation* 2003;108:426-31.
82. Zhou T, Zhou SH, Qi SS, Shen XQ, Zeng GF, Zhou HN. The effect of atorvastatin on serum myeloperoxidase and CRP levels in patients with acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta* 2006;368:168-72.

83. Sullivan DR, Marwick TH, Freedman MB. A new method of scoring coronary angiograms to reflect extent of coronary atherosclerosis and improve correlation with major risk factors. *Am Heart J* 1990;119:1262-7.
84. Norgaz T, Hobikoglu G, Aksu H, Guveli A, Aksoy S, Ozer O, et al. Retinopathy is related to the angiographically detected severity and extent of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int Heart J* 2005;46:639-46.
85. Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1983;51:606.
86. Hayashi M, Fujimoto K, Urushibata K, Uchikawa S-I, Imamura H, Kubo K. Nocturnal oxygen desaturation correlates with the severity of coronary atherosclerosis in coronary artery disease. *CHEST* 2003;124:936-41.
87. Soydinc S, Davutoglu V, Dundar A, Aksoy M. Relationship between aortic valve sclerosis and the extent of coronary artery disease in patients undergoing diagnostic coronary angiography. *Cardiology* 2006;106:277-82.
88. Yildiz A, Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Altiparmak IH, Akyol S, et al. The association of serum prolidase activity with the presence and severity of coronary artery disease. *Coron Artery Dis* 2008;19:319-25.
89. Düzgünçinar O, Yavuz B, Hazirolan T, Deniz A, Tokgözoğlu SL, Akata D, et al. Plasma myeloperoxidase is related to the severity of coronary artery disease. *Acta Cardiol* 2008;63:147-52.

## **Hipótese conceitual**

Esse estudo parte da hipótese de que sendo a mieloperoxidase um marcador de inflamação e desestabilização da placa aterosclerótica coronariana, a sua expressão na síndrome coronariana aguda poderia ocorrer em razão direta da gravidade das lesões.

## Objetivos

1) Objetivo principal: avaliar a associação entre os níveis plasmáticos da mieloperoxidase e a gravidade angiográfica da doença arterial coronariana em pacientes com síndrome coronariana aguda sem elevação de ST.

2) Objetivos secundários:

a) Avaliar a associação dos níveis da mieloperoxidase com as enzimas troponina I e CK-MB;

b) Avaliar a associação da mieloperoxidase com a contagem de leucócitos;

c) Comparar os níveis da mieloperoxidase entre os pacientes com escore de risco TIMI  $> 4$  e  $\leq 4$ ;

d) Correlacionar os níveis da mieloperoxidase com o intervalo de tempo entre o início dos sintomas (evento índice) e o momento da coleta da amostra.

## **Artigo em Português**

**Associação entre os níveis plasmáticos da mieloperoxidase e a  
gravidade angiográfica da doença arterial coronariana em pacientes  
com síndrome coronariana aguda**

**Eraldo de Azevedo Lúcio (1,3), Sandro C. Gonçalves (1), Jorge P. Ribeiro (1,2),  
Gilberto L. Nunes (1,3), Jarbas R. de Oliveira (4), Marco V. Wainstein (1,2).**

1. Programa de Pós-graduação em Cardiologia: Universidade Federal do Rio Grande do Sul
2. Hospital de Clinicas de Porto Alegre
3. Hospital São Francisco da Santa Casa de Porto Alegre
4. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Titulo abreviado: Mieloperoxidase e síndrome coronariana aguda.

Palavras chaves: mieloperoxidase, síndrome coronariana aguda, doença arterial coronariana, angiografia.

Endereço para correspondência:

Eraldo de Azevedo Lúcio  
Rua Santa Cecília, 2001/401 – Rio Branco  
90420-041 – Porto Alegre – RS  
Fone: 51-33303793  
E-mail: [evalucio@terra.com.br](mailto:evalucio@terra.com.br)

## Resumo

**Fundamento:** Os níveis plasmáticos da mieloperoxidase (MPO) estão elevados em pacientes com síndrome coronariana aguda (SCA) como consequência de intensa ativação neutrofílica. A capacidade da MPO em prever a gravidade da doença arterial coronariana (DAC) nos pacientes com SCA é alvo de controvérsia.

**Objetivo:** Avaliar a associação entre os níveis plasmáticos da MPO e a gravidade das lesões ateroscleróticas coronarianas em pacientes com SCA sem elevação de ST.

**Métodos:** Pacientes com SCA de alto risco que foram submetidos à angiografia coronariana durante as primeiras 72 horas do início dos sintomas, realizaram uma única dosagem plasmática de MPO. O escore de Gensini foi utilizado para avaliar a gravidade angiográfica da DAC.

**Resultados:** Entre os 48 pacientes estudados, 85,4% tinham níveis elevados de troponina. As medianas dos níveis da MPO e do escore de Gensini foram 6,9 ng/mL (mínima= 4,4; máxima= 73,5), e 10 (mínima= 0; máxima= 87,5), respectivamente. O coeficiente de Spearman não mostrou correlação significativa entre os níveis de MPO e o escore de Gensini ( $r_s = 0,2$ ;  $P = 0,177$ ). Os pacientes com níveis de MPO  $\leq 6,9$  ng/mL apresentaram um escore de Gensini de 8,3, enquanto que aqueles com a MPO  $> 6,9$  ng/mL apresentaram um escore de 13,8, ( $P = 0,386$ ). Os pacientes com escore de Gensini  $\leq 10$  apresentaram níveis de MPO de 6,6 ng/mL, enquanto aqueles com escore  $> 10$  apresentaram níveis de MPO de 8,5 ng/mL ( $P = 0,126$ ). Não houve associação entre os níveis de MPO e a extensão da lesão coronariana ( $r_s = 0,047$ ;  $P = 0,756$ ). Na análise multivariada a MPO não mostrou correlação com nenhuma outra variável.

**Conclusões:** Não houve associação entre os níveis plasmáticos de MPO e a gravidade angiográfica da DAC em pacientes com SCA com indicação de estratificação invasiva. Esse achado sugere que a expressão da MPO como um biomarcador inflamatório está dissociada da gravidade anatômica das lesões coronarianas.

**Unitermos:** mieloperoxidase, síndrome coronariana aguda, doença arterial coronariana, angiografia.

## Introdução

Infiltração leucocitária pode ser observada nos estágios iniciais de formação da placa aterosclerótica em modelos experimentais com animais e em estudos clínicos.<sup>1</sup> Evidências de ativação leucocitária têm sido documentadas em pacientes com síndrome coronariana aguda (SCA)<sup>2,3</sup> e extensos infiltrados neutrofilicos têm sido identificados em placas coronarianas instáveis.<sup>4</sup> A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima secretada por células inflamatórias ativadas, predominantemente encontrada nos neutrófilos, nos monócitos e em alguns subtipos de macrófagos.<sup>5</sup> Ela forma radicais livres com atividade antimicrobiana<sup>6</sup> e, sob certas condições patológicas, pode também causar dano tecidual, contribuindo para o desenvolvimento e progressão da aterosclerose.<sup>7,8</sup> Existem evidências que sugerem que a MPO possa ter um papel causal na vulnerabilidade da placa.<sup>9</sup> Foi demonstrado que ela modula a atividade de distintas cascatas de proteases, participando nos processos de desestabilização da placa.<sup>10,11</sup>

Diversos estudos avaliaram o papel da MPO como preditora de futuros eventos cardiovasculares adversos. Brennan et al.,<sup>12</sup> demonstraram que uma simples medida plasmática da MPO em pacientes com dor torácica aguda, pode prever eventos adversos, a curto e a longo-prazo, a despeito de valores normais de troponina. Numa sub-análise de 1090 pacientes do estudo CAPTURE, Baldus et al.,<sup>13</sup> demonstraram que níveis elevados de MPO são preditores de eventos coronarianos, independentemente dos níveis de troponina. Níveis elevados da MPO também foram associados com o risco futuro de infarto do miocárdio<sup>14</sup> e apresentaram a mais alta sensibilidade para prever eventos isquêmicos recorrentes entre vários outros biomarcadores tradicionais.<sup>15-17</sup> Recentemente, foi demonstrado que a MPO aumenta progressivamente desde a doença arterial coronariana (DAC) estável, passando pela SCA sem elevação do segmento ST e alcança os mais altos níveis no infarto agudo do miocárdio com elevação do ST.<sup>18</sup>

A ligação entre a MPO e a DAC está muito bem estabelecida desde o processo inflamatório inicial, com a SCA representando o ápice do envolvimento dessa enzima. Os níveis de MPO estão aumentados em pacientes estáveis com DAC documentada<sup>19</sup> e em lesões culpadas de pacientes com SCA.<sup>4,20,21</sup> Entretanto, a associação entre a MPO e a gravidade da doença aterosclerótica na SCA ainda não foi estabelecida. O objetivo do presente estudo foi o de avaliar a associação entre os níveis plasmáticos da MPO e a gravidade angiográfica da DAC em pacientes com SCA sem elevação de ST.

## **Métodos**

### *Desenho do estudo e população*

Estudo transversal, realizado nos Hospitais de Clínicas e São Francisco, ambos da cidade de Porto Alegre, aprovados pelos respectivos Comitês de Ética, sendo o termo de consentimento informado obtido após a assinatura de cada paciente participante.

Nós recrutamos pacientes de 18 a 75 anos de idade encaminhados para cinecoronariografia com o diagnóstico de SCA sem elevação de ST, cujo quadro clínico foi caracterizado por dor torácica, ou equivalente isquêmico, em repouso, com duração maior que 10 minutos, associada a: 1) infra-desnível de ST  $\geq 1$  mm ou inversão de ondas t  $\geq 3$  mm em duas derivações contíguas; ou a 2) elevação das enzimas CK-MB ou troponina I; ou a 3) score de risco TIMI moderado a alto (3-7).<sup>22</sup> Os seguintes critérios foram considerados de exclusão: cirurgia de revascularização miocárdica prévia; stent coronariano implantado há menos que 30 dias; instabilidade hemodinâmica; insuficiência renal (depuração da creatinina endógena  $< 30$  mL/min.); quadros inflamatórios ou infecciosos; ou neoplasias em atividade.

### *Protocolo do Estudo*

Os pacientes foram submetidos à angiografia coronariana dentro de 72 horas decorridas após o último episódio de dor torácica ou equivalente isquêmico. Uma amostra de 10 mL de sangue foi coletada para a dosagem da MPO logo após a punção arterial com a colocação do introdutor, antes da administração de heparina e realização do cateterismo.

Todas as amostras coletadas foram colocadas em um tubo com heparina e imediatamente imersas num depósito com gelo, sendo centrifugadas dentro de 60 minutos, a 3000 rpm, durante 10 minutos e à temperatura ambiente. O plasma então obtido foi armazenado a uma temperatura de 80° C negativos para posterior análise dos níveis de MPO.

### *Análise Angiográfica*

Foi realizada angiografia coronariana quantitativa usando um sistema de detecção automatizado (Siemens®, Alemanha), utilizando o cateter guia como um parâmetro de calibração. Foram medidas as seguintes variáveis angiográficas: diâmetro luminal de referência e mínimo (mm); extensão (mm) e grau da estenose (percentual). O escore de Gensini foi aplicado após a análise quantitativa para avaliar a gravidade e a extensão das lesões.<sup>23</sup> Foi determinado um escore de gravidade para cada estenose coronariana de acordo com o grau de estreitamento luminal e sua importância geográfica. A redução do diâmetro luminal e a aparência radiológica das lesões concêntricas e das placas excêntricas foram avaliadas (às reduções de 25%, 50%, 75%, 90%, 99% e oclusão completas foram dados os escores de Gensini de 1, 2, 4, 8, 16 e 32, respectivamente). Para cada segmento vascular principal foi determinado um fator de correção de acordo com a significância funcional da área miocárdica suprida por aquele segmento: o tronco da coronária esquerda, \_ 5; o segmento proximal da artéria

descendente anterior (ADA), \_ 2,5; o segmento proximal da artéria circunflexa, \_ 2,5; o segmento médio da ADA, \_ 1,5; a artéria coronária direita, o segmento distal da ADA, o ramo pósterolateral e a artéria marginal obtusa, \_ 1; e outros, \_ 0,5.

Todas as medidas angiográficas foram realizadas por dois investigadores independentes, cegos quanto às características clínicas dos pacientes e quanto aos níveis de MPO.

#### *Análise bioquímica*

Todas as amostras armazenadas foram analisadas num único momento. Após serem descongeladas, as amostras de plasma foram diluídas numa proporção de 1:50 e colocadas numa placa com 96 poços. A dosagem plasmática da MPO foi determinada pelo método enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, Bender MedSystems, Viena, Áustria). Esse teste é baseado na técnica do sanduíche, na qual dois anticorpos monoclonais são dirigidos contra determinantes antigênicos separados, localizados na molécula da MPO. O limite inferior de detecção é de 0,026 ng/mL, e em indivíduos sadios os níveis esperados de MPO variam entre 1,45 e 72,67 ng/mL, com uma média de 17,02 ng/mL.

A dosagem de enzimas cardíacas, glicemia e lipídios, e o leucograma, foram determinados seguindo metodologia padrão.

#### *Variáveis clínicas*

Os fatores de risco coronarianos foram avaliados através dos registros médicos e de entrevistas com os pacientes. Hipertensão arterial foi definida no caso de uso de medicação anti-hipertensiva ou de documentação de níveis pressóricos > 140/90 mmHg em pelo menos duas ocasiões diferentes; tabagismo ativo como o consumo de, no mínimo, um cigarro por dia nos últimos 30 dias; hipercolesterolemia foi diagnosticada pela presença de níveis de colesterol total > 240 mg/dL ou pelo uso de estatinas; e

diabete melito pelo tratamento com dieta, hipoglicemiantes orais ou insulina. Por fim, uma historia de infarto do miocárdio no passado necessitou a confirmação por exame apropriado (ECG, ecocardiograma, cintilografia ou angiografia).

#### *Análise estatística*

Para detectar um coeficiente de correlação moderado (0,45), entre o escore angiográfico de gravidade da DAC (Gensini) e os níveis plasmáticos da MPO, considerando um  $\alpha= 0,05$  e um poder de 90%, foi calculada uma amostra com 48 pacientes.

As variáveis contínuas com distribuição paramétrica foram descritas como média  $\pm$  desvio-padrão. As variáveis não paramétricas, como os níveis de MPO e o escore de Gensini, foram apresentados como mediana (mínima e máxima), e analisadas pelo teste de Mann-Whitney. Os dados categóricos foram apresentados como freqüências e as suas diferenças foram analisadas pelo teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fischer. O coeficiente de correlação de Spearman foi usado para avaliar a associação entre os níveis plasmáticos de MPO e o escore de Gensini. Análise multivariada foi utilizada para avaliar a correlação entre os níveis de MPO e outros fatores de risco. Um valor de  $P < 0,05$  foi considerado significativo. A análise estatística foi realizada pelo programa SPSS, versão 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

## **Resultados**

As características basais dos 51 pacientes inicialmente incluídos são descritas na tabela 1. A MPO foi coletada numa média de 38 horas após o início do evento índice. Em três pacientes houve perda das amostras de plasma coletadas para o exame de MPO, perfazendo um total de 48 pacientes que efetivamente dosaram a enzima.

Todos os pacientes estavam em uso de anti-plaquetários, anti-trombóticos e estatinas no momento da coleta de sangue para o exame de MPO. Na sua grande maioria, os pacientes apresentaram níveis elevados de troponina I ( $> 0,01 \mu\text{g/L}$ ), e em pouco mais de 40% deles a CK-MB estava anormalmente elevada. Em cinco pacientes com o escore de risco TIMI com um valor de 2 a indicação de estratégia invasiva foi a presença de níveis elevados de troponina, conforme o protocolo.

As medianas dos níveis plasmáticos de MPO e do escore de Gensini foram 6,9 ng/mL (mínima= 4,4; máxima= 73,5), e 10 (mínima= 0; máxima= 87,5), respectivamente. O coeficiente de Spearman não mostrou associação significativa entre os níveis de MPO e o escore de Gensini, com um  $r_s= 0,2$  e um  $P= 0,177$  (figura 1). Os pacientes com níveis de MPO  $\leq 6,9$  ng/mL apresentaram um escore de Gensini de 8,3 enquanto que aqueles com níveis de MPO  $> 6,9$  ng/mL apresentaram um escore de 13,8, com um  $P= 0,386$  (figura 2). Os pacientes com escore de Gensini  $\leq 10$  apresentaram níveis de MPO de 6,6 ng/mL, enquanto que aqueles com escore  $> 10$  apresentaram níveis de 8,5 ng/mL, com um  $P= 0,126$  (figura 3). Não houve associação significativa entre os níveis plasmáticos de MPO e a extensão da lesão coronariana ( $r_s=0,047$ ;  $P=0,756$ ). A análise multivariada não mostrou associação dos níveis de MPO com nenhuma outra variável, a saber: idade, tabagismo ativo, diabetes melito, número de leucócitos, colesterol-LDL, troponina I, CK-MB e escore de risco TIMI.

## **Discussão**

No presente estudo, nós avaliamos a associação entre os níveis plasmáticos da MPO e a gravidade angiográfica da DAC em pacientes com SCA sem elevação de ST submetidos a cateterismo cardíaco diagnóstico. Entre os pacientes, 84% apresentavam níveis elevados de troponina, sendo considerados de alto risco. O escore de Gensini, que

foi usado para avaliar a gravidade das lesões coronarianas, não foi significativamente diferente em pacientes com níveis de MPO acima ou abaixo da mediana. Os níveis plasmáticos da MPO não foram significativamente mais elevados naqueles com o escore de Gensini acima da mediana.

A associação entre os níveis plasmáticos da MPO e DAC é alvo de controvérsia. Nosso estudo tentou esclarecer o papel da MPO em discriminar a gravidade angiográfica da DAC em pacientes com SCA de alto risco. Düşgünçinar et al.,<sup>24</sup> estudaram 48 pacientes com DAC estável, com lesões coronarianas documentadas por angiografia, demonstrando uma associação fraca, porém estatisticamente significativa entre os níveis de MPO e o escore de Gensini ( $r_s = 0,228$ ;  $P = 0,04$ ). Esses autores observaram, no entanto, uma associação mais forte entre os níveis de MPO e o escore de cálcio, avaliado pela tomografia computadorizada com múltiplos detectores, em 30 pacientes controles ( $r_s = 0,433$ ;  $P = 0,02$ ). Num outro estudo,<sup>25</sup> os níveis de MPO foram considerados preditores independentes de doença multiarterial ( $\geq 2$  vasos) em 389 pacientes não selecionados. Ndrepepa et al.,<sup>18</sup> num estudo de caso-controle que incluiu 680 pacientes com DAC, concluíram que os níveis de MPO foram mais elevados em pacientes com estenose  $\geq 2$  vasos. Por outro lado, Kubala et al.,<sup>26</sup> avaliaram 557 pacientes estáveis submetidos à angiografia coronariana eletiva e não encontraram diferença significativa nos níveis de MPO entre os pacientes com DAC, definida como a presença de estenose  $> 50\%$  em pelo menos 1 vaso, e pacientes sem DAC.

Os níveis de MPO estão aumentados em pacientes com SCA como consequência de intensa ativação neutrofílica<sup>3,4</sup> e são considerados um marcador de risco cardiovascular bem estabelecido.<sup>12-17</sup> Esse aumento pode ocorrer nos estágios iniciais da SCA, antes da evidência de necrose miocárdica, o que reflete a desestabilização da placa aterosclerótica.<sup>27,28</sup> A angiografia, a despeito de ser um método tradicionalmente

utilizado para avaliar a gravidade e a extensão da doença aterosclerótica coronariana, não oferece informações adequadas a respeito da vulnerabilidade da placa, como o seu conteúdo lipídico, a espessura da capa fibrosa e a presença de remodelamento positivo.<sup>29,30</sup> Esses achados são melhor avaliados por outros métodos diagnósticos, tais como o ultra-som intracoronariano e a tomografia de coerência ótica.<sup>29,30</sup>

No presente estudo, encontramos tanto níveis baixos de MPO em pacientes com escore de Gensini alto, como níveis altos em pacientes com escore muito baixo. Nós postulamos que esta discrepância entre os níveis plasmáticos de MPO e o escore de Gensini, em pacientes com SCA, pode ser atribuída ao fato de que esse escore, baseado em achados angiográficos, fornece dados de gravidade anatômica, mas não permite uma análise funcional e morfológica da placa aterosclerótica. Portanto, mesmo em pacientes com DAC obstrutiva leve, ou quando disfunção endotelial é a principal causa do evento isquêmico, os níveis de MPO podem estar elevados, a despeito dos achados angiográficos. O oposto também pode ser verdadeiro, na medida em que pacientes com lesões mutiarteriais podem apresentar níveis baixos de MPO.

Nosso estudo possui algumas limitações. As amostras de sangue para a dosagem de MPO foram coletadas dentro de 72 horas do início dos sintomas em momentos diferentes. Sabe-se que essa enzima apresenta uma elevação precoce na SCA, dentro de duas horas após o início dos sintomas e uma rápida queda nas horas subsequentes.<sup>12,28</sup> Esse achado pode indicar que um possível retardo na sua coleta possa ter distorcido os resultados. De qualquer forma, não houve correlação inversa entre o tempo decorrido até a coleta da amostra de sangue e os níveis de MPO ( $P=0,2$ ). A amostra com um limitado número de pacientes e a falta da dosagem de outros marcadores inflamatórios comparáveis, poderiam ser consideradas outras limitações do estudo.

Concluindo, no presente estudo, realizado em pacientes com SCA de alto risco, os níveis plasmáticos de MPO não foram preditores de gravidade angiográfica da DAC. Esse achado sugere que a expressão da MPO como um biomarcador inflamatório está dissociada da gravidade anatômica das lesões coronarianas. Nesse contexto, outros estudos incluindo um maior número de pacientes, com dosagens seriadas de MPO após o início dos sintomas e com a utilização de outras metodologias para melhor caracterizar a placa aterosclerótica coronariana, poderiam ser úteis para definir o papel da MPO na SCA.

## Referências

1. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-43.
2. de Servi S, Mazzone A, Ricevuti G, Mazzucchelli I, Fossati G, Angoli L, et al. Expression of neutrophil and monocyte CD11B/CD18 adhesion molecules at different sites of the coronary tree in unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1996;78;564-8.
3. Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G, D'Onofrio G, Crea F, Maseri A. Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med* 2002;347;5-12.
4. Naruko T, Ueda M, Haze K, van der Wal AC, van der Loos CM, Itoh A, et al. Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Circulation* 2002;106:2894-900.
5. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1102-11.
6. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 2005;77:598-625.
7. Podrez EA, Abu-Soud HM, Hazen SL. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 2000; 28:1717-25.
8. Brennan ML, Hazen SL. Emerging role of myeloperoxidase and oxidant stress markers in cardiovascular risk assessment. *Curr Opin Lipidol* 2003;14:353-9.
9. Hazen SL. Myeloperoxidase and plaque vulnerability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1143-6.
10. Shabani F, McNeil J, Tippett L. The oxidative inactivation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) by hypochlorous acid (HOCL) is suppressed by anti-rheumatic drugs. *Free Radical Res* 1998;28:115-23.
11. Fu X, Kassim SY, Parks WC, Heinecke JW. Hypochlorous acid oxygenates the cysteine switch domain of pro-matrilysin (MMP-7): a mechanism for matrix metalloproteinase activation and atherosclerotic plaque rupture by myeloperoxidase. *J Bio Chem* 2001;276:41279-87.
12. Brennan ML, Penn MS, Van Lente S, Nambi V, Shishehbor MH, Aviles RJ, et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med* 2003;349:1595-604.
13. Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, Zeiher AM, Eiserich JP, Münzel T, et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;108:1440-5.
14. Cavusoglu E, Ruwend C, Eng C, Chopra V, Yanamadala S, Clark LT, et al. Usefulness of baseline plasma myeloperoxidase levels as an independent predictor

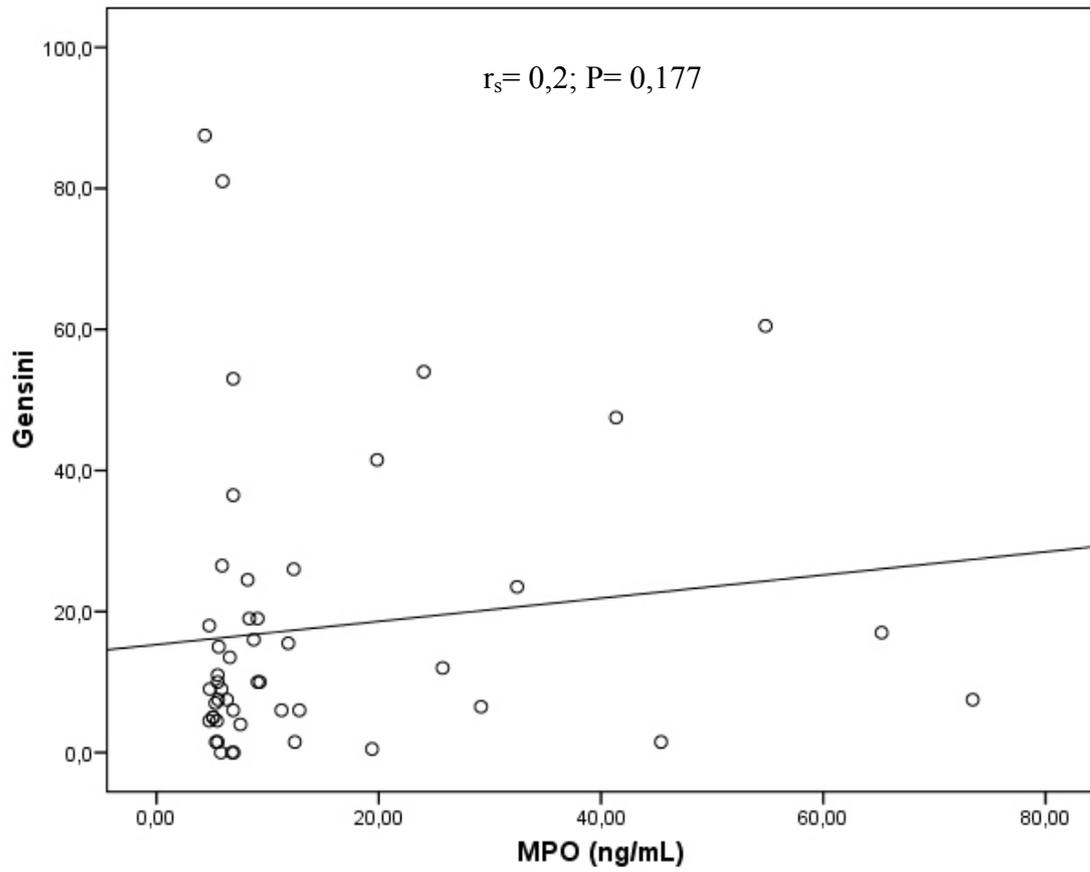
- of myocardial infarction at two years in patients presenting with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2007;99:1364-8.
15. Morrow DA, Sabatine MS, Brennan ML, de Lemos JA, Murphy SA, Ruff CT, et al. Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18. *Eur Heart J* 2008;29:1096-12.
  16. Mocatta TJ, Pilbrow AP, Cameron VA, Senthilmohan R, Frampton CM, Richards AM, et al. Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1993-2000.
  17. Khan SQ, Kelly D, Quinn P, Davies JE, Ng LL. Myeloperoxidase aids prognostication together with N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in high-risk patients with acute ST elevation myocardial infarction. *Heart* 2007;93:826-31.
  18. Ndrepepa G, Braun S, Mehilli J, von Beckerath N, Schömig A, Kastrati A. Myeloperoxidase level in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes. *Eur J Clin Invest* 2008;38:90-6.
  19. Zhang R, Brennan ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA* 2001;286:2136-42.
  20. Sugiyama S, Okada Y, Sukhova GK, Virmani R, Heinecke JW, Libby P. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *Am J Pathol* 2001;158:879-91.
  21. Tavora FR, Ripple M, Li L, Burke AP. Monocytes and neutrophils expressing myeloperoxidase occur in fibrous caps and thrombi in unstable coronary plaques. *BMC Cardiovasc Disord* 2009;9:27.
  22. Antman EM, Cohen M, Bernink PJLM, McCabe CH, Horacek T, Papuchis G, et al. The TIMI risk score for unstable angina / non ST elevation MI. A method for prognostication and therapeutic decision making. *JAMA* 2000;284:835-42.
  23. Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1983;51:606.
  24. Düzgünçinar O, Yavuz B, Hazirolan T, Deniz A, Tokgözoğlu SL, Akata D, et al. Plasma myeloperoxidase is related to the severity of coronary artery disease. *Acta Cardiol* 2008;63:147-52.
  25. Cavusoglu E, Chopra V, Gupta A, Ruwende C, Yanamadala S, Eng C, et al. Usefulness of the white blood cell count as a predictor of angiographic findings in an unselected population referred for coronary angiography. *Am J Cardiol* 2006;98:1189-93.
  26. Kubala L, Lu G, Baldus S, Berglund L, Eiserich JP. Plasma levels of myeloperoxidase are not elevated in patients with stable coronary artery disease. *Clin Chim Acta* 2008;394:59-62.

27. Rudolph TK, Rudolph V, Baldus S. Contribution of myeloperoxidase to smoking-dependent vascular inflammation. *Proc Am Thorac Soc* 2008;5:820-3.
28. Goldmann BU, Rudolph V, Rudolph TK, Holle A-K, Hillebrandt M, Meinertz T, et al. Neutrophil activation precedes myocardial injury in patients with acute myocardial infarction. *Free Radic Biol Med* 2009;47:79-83.
29. Young JJ, Phillips HR, Marso SP, Granada JF, McPherson JN, Waksman R, et al. Vulnerable plaque intervention: state of the art. *Catheter Cardiovasc Interv* 2008;71:367-74.
30. Schaar JA, Mastik F, Regar E, den Uil CA, Gijsen FJ, Wentzel JJ, et al. Current diagnostic modalities for vulnerable plaque detection. *Curr Pharm Des* 2007;13:995-1001.

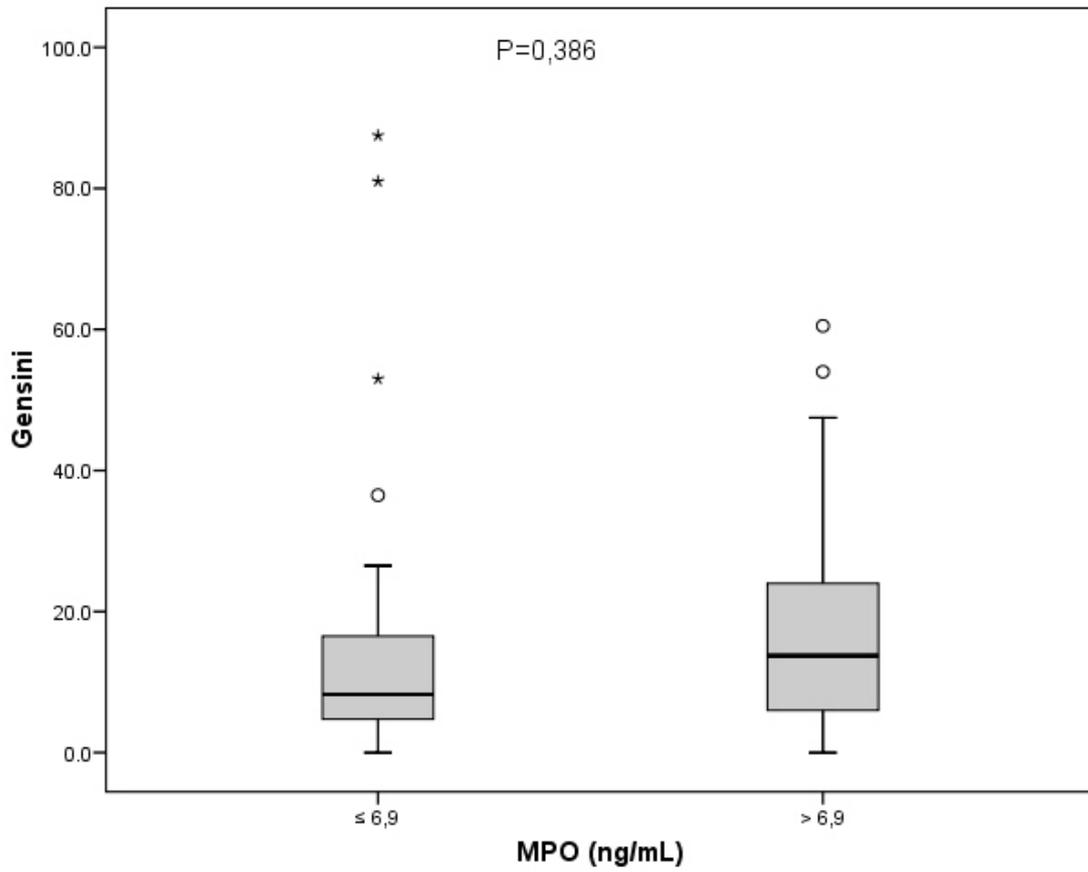
**Tabela 1** – Características demográficas e clínicas basais.

<b>Características</b>	<b>Síndrome coronariana aguda sem elevação de ST (n=51)</b>
<b><u>Demográficas</u></b>	<b>n (%)</b>
Idade (anos)*	61,7 ± 10,3
Sexo masculino	34 (66,7)
<b><u>Fatores de risco</u></b>	
Hipertensão arterial	37 (72,5)
Tabagismo ativo	15 (29,4)
Hipercolesterolemia	27 (52,9)
Diabete melito	16 (31,4)
Infarto prévio	10 (19,6)
<b><u>Tratamento farmacológico</u></b>	
Aspirina	50 (98)
Tienopiridínicos	51 (100)
Heparina não fracionada	35 (68,6)
Enoxaparina	16 (31,4)
Estatina	51 (100)
B-bloqueadores	46 (90,2)
Inibidores da ECA	36 (70,6)
<b><u>Enzimas/escore de risco</u></b>	
Troponina I (> 0,01 µg/L)	43 (84,3)
Ck-MB ≥ 2 x o normal	21 (41,2)
TIMI Risk 0-2	5 (9,8)
TIMI Risk 3-4	31 (60,8)
TIMI Risk 5-7	15 (29,4)

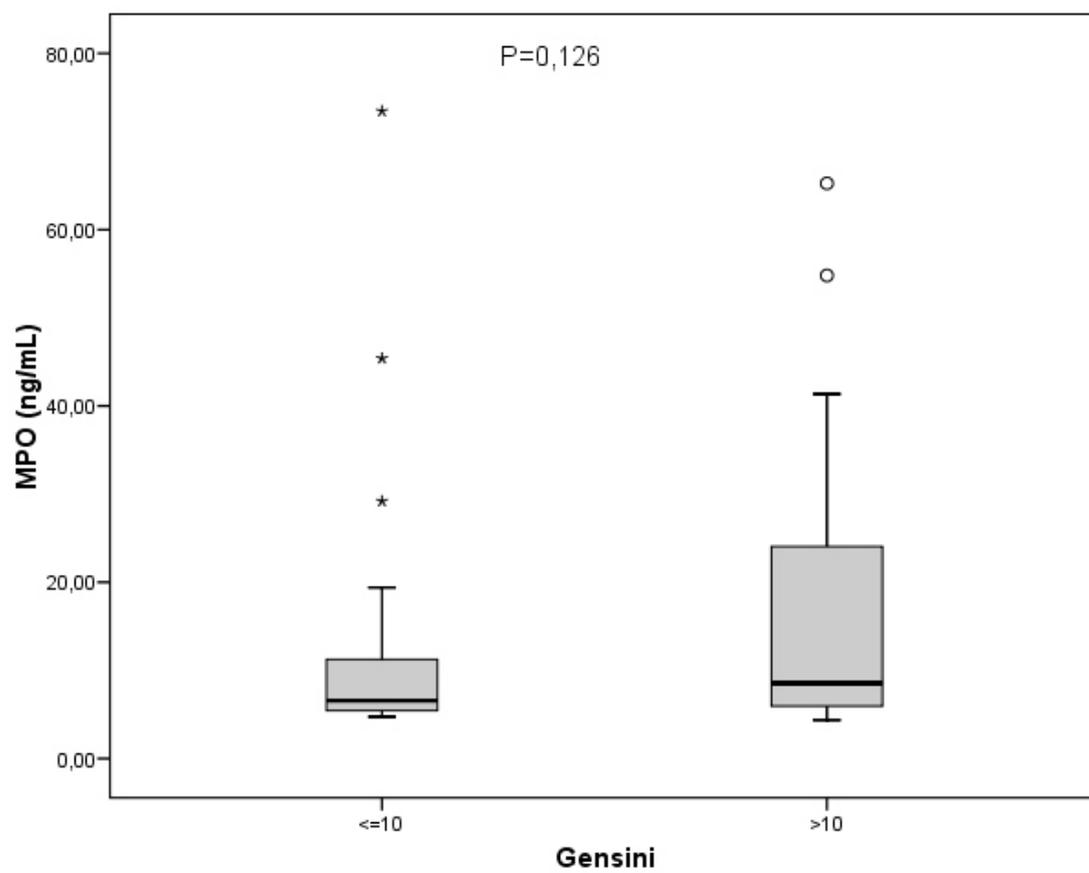
\* Dados expressos em outra unidade, média ± desvio padrão.



**Figura 1** – Correlação entre a MPO e o escore de Gensini.



**Figura 2** – Escore de Gensini abaixo e acima da mediana da MPO.



**Figura 3** – Valores da MPO abaixo e acima da mediana do escore de Gensini.

**Artigo em inglês**

**Association between plasma myeloperoxidase levels and  
angiographic severity of coronary artery disease in patients  
with acute coronary syndrome**

**Eraldo de Azevedo Lúcio (1,3), Sandro C. Gonçalves (1), Jorge P. Ribeiro (1,2),  
Gilberto L. Nunes (1,3), Jarbas R. de Oliveira (4), Marco V. Wainstein (1,2).**

1. Programa de Pós-graduação em Cardiologia: Universidade Federal do Rio Grande do Sul
2. Hospital de Clinicas de Porto Alegre
3. Hospital São Francisco da Santa Casa de Porto Alegre
4. Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Running title: Myeloperoxidase and acute coronary syndrome.

Keywords: myeloperoxidase, acute coronary syndromes, coronary artery disease, angiography.

Adress for correspondence:

Eraldo de Azevedo Lúcio  
Rua Santa Cecília, 2001/401 – Rio Branco  
90420-041 – Porto Alegre – RS  
Fone: 51-33303793  
E-mail: [eralucio@terra.com.br](mailto:eralucio@terra.com.br)

## **Abstract**

**Background:** Myeloperoxidase (MPO) plasma levels are elevated in patients with acute coronary syndrome (ACS) as a consequence of intense neutrophilic activity. MPO capacity to predict the severity of coronary artery disease (CAD) in ACS patients is controversial.

**Objective:** To evaluate the association between MPO plasma levels and severity of coronary atherosclerotic lesions in non-ST elevation ACS patients.

**Methods:** High-risk ACS patients who were submitted to coronary angiography within the first 72 hours after onset of symptoms had one single MPO plasma measurement. Gensini score was used to evaluate angiographic CAD severity.

**Results:** Among the 48 patients studied, 85.4% had elevated troponin levels. MPO plasma levels and Gensini median values were 6.9 ng/mL (range 4.4 to 73.5), and 10 (range 0 to 87.5), respectively. Spearman's coefficient did not show a significant correlation between MPO levels and Gensini score ( $r_s = 0.2$ ;  $P = 0.177$ ). Patients with MPO levels  $\leq 6.9$  ng/mL had a Gensini score of 8.3, whereas the patients with MPO levels  $> 6.9$  ng/mL had a Gensini score of 13.8 ( $P = 0.386$ ). Patients who presented a Gensini score  $\leq 10$  had MPO levels of 6.6 ng/mL, while the patients with Gensini score  $> 10$  presented MPO levels of 8.5 ng/mL ( $P = 0.126$ ). There was no significant association between MPO plasma levels and coronary lesion length ( $r_s = 0.047$ ;  $P = 0.756$ ). On multivariate analysis there was not association between MPO and any other variable.

**Conclusion:** There was no association between plasma MPO levels and CAD angiographic severity in ACS patients with indication of invasive stratification. This finding suggests that MPO expression as an inflammatory biomarker is dissociated from the anatomical severity of the coronary lesions.

**Keywords:** myeloperoxidase, acute coronary syndromes, coronary artery disease, angiography.

## **Introduction**

Leukocyte infiltration can be found in the early stages of atherosclerotic plaque formation, both in animal experimental models and in clinical studies.<sup>1</sup> Evidence of leukocyte activation has been documented in acute coronary syndrome (ACS) patients,<sup>2,3</sup> and extensive neutrophilic density has been identified in unstable coronary plaques.<sup>4</sup> Myeloperoxidase (MPO) is an enzyme secreted by activated inflammatory cells, found predominantly in neutrophils, monocytes and some subtypes of tissue macrophages.<sup>5</sup> MPO produces free-radicals with antimicrobial activity,<sup>6</sup> and under certain pathological conditions, might cause tissue damage leading to the development and progression of atherosclerosis.<sup>7,8</sup> There is also evidence to support the role of MPO in plaque vulnerability.<sup>9</sup> MPO has been shown to modulate overall activity of multiple distinct protease cascades that might participate in plaque instabilization.<sup>10,11</sup>

Several studies evaluated the role of MPO to predict future adverse cardiovascular events. Brennan et al,<sup>12</sup> demonstrated that a single MPO plasma measurement in patients with acute chest pain can be predictive of adverse events in short and long-term despite normal troponin levels. In a sub-analysis from 1090 patients of the CAPTURE trial, Baldus et al,<sup>13</sup> have shown that elevated MPO levels are independent predictors of coronary events, regardless of the troponin levels. Increased MPO levels were independently associated with the risk of developing a future myocardial infarction (MI),<sup>14</sup> and among several other traditional biomarkers, had the highest sensitivity to predict recurrent cardiovascular events.<sup>15-17</sup> Recently, it has been demonstrated that MPO progressively increases from stable CAD (coronary artery disease) to non-ST elevated ACS and reaches the highest levels in ST elevation acute MI patients<sup>18</sup>.

The link between MPO and CAD is well established since the initial inflammatory process, with ACS representing the peak of involvement of this enzyme. MPO levels are increased in stable documented CAD patients,<sup>19</sup> and in culprit lesions from ACS patients.<sup>4,20,21</sup> However, the association between MPO and the severity of atherosclerotic disease in ACS has not been determined. Therefore, the objective of the present study was to test the hypothesis that MPO levels would be increased in ACS patients with more extensive coronary angiographic involvement.

## **Methods**

### *Study design and population*

We performed a cross-sectional study at Hospital de Clinicas and Hospital São Francisco in Porto Alegre, Brazil. The study protocol was approved by the Ethics Committee and all subjects gave written informed consent.

We recruited patients aged 18 to 75 years who were undergoing diagnostic coronary angiography with non-ST elevation ACS characterized by the presence of chest pain or ischemic equivalent at rest lasting longer than 10 minutes associated to one of the following conditions: 1. ST depression  $\geq$  1mm or T-wave inversion  $\geq$  3 mm in two contiguous ECG derivations; 2. CK-MB or troponin I elevation; or 3. TIMI risk score moderate to high (3-7)<sup>22</sup>. Exclusion criteria were: previous coronary artery bypass graft surgery; coronary stent implanted in the last 30 days; hemodynamic instability; chronic renal failure (creatinine clearance less than 30 mL/min); inflammatory diseases; or malignancies in activity.

### *Study protocol*

All subjects were submitted to coronary angiography within the first 72 hours after the last episode of chest pain. Before heparin administration, immediately after arterial puncture, 10 mL of blood was drawn from the arterial sheath.

Whole blood drawn in the heparin tube was placed immediately on ice. Centrifugation was usually carried out within 60 minutes and was centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes at room temperature to obtain plasma. Plasma samples were stored in a -80 C freezer for MPO measurement.

### *Angiographic analysis*

Quantitative coronary angiography was performed using an automated edge detection system (SIEMENS®, Germany). The guiding-catheter was used for calibration. The following variables were analyzed: minimal lumen diameter (mm); reference vessel diameter (mm); lesion extension (mm), and stenosis degree (percent). After quantitative analyses, Gensini score was applied to evaluate lesion severity and extension.<sup>23</sup> The Gensini score was computed by assigning a severity score to each coronary stenosis according to the degree of luminal narrowing and its geographic importance. Reduction in the lumen diameter, and the roentgenographic appearance of concentric lesions and eccentric plaques were evaluated (reductions of 25%, 50%, 75%, 90%, 99%, and complete occlusion were given Gensini scores of 1, 2, 4, 8, 16, and 32, respectively). Each principal vascular segment was assigned a multiplier in accordance with the functional significance of the myocardial area supplied by that segment: the left main coronary artery, \_ 5; the proximal segment of left anterior descending coronary artery (LAD), \_ 2.5; the proximal segment of the circumflex artery, \_ 2.5; the mid segment of the LAD, \_ 1.5; the right coronary artery, the distal segment of the LAD, the posterolateral artery, and the obtuse marginal artery, \_ 1; and others, \_ 0.5.

All angiographic measurements were conducted by two independent investigators who were blinded to patients clinical characteristics and MPO levels.

#### *Biochemical analysis*

All stored plasma samples were analyzed at a single moment. After thawing, they were diluted in a proportion of 1:50 and placed in a plate with 96 wells. MPO was measured in plasma by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, Bender MedSystems, Viena, Austria). This test is based on a sandwich technique in which two monoclonal antibodies are directed against separated MPO antigens. The inferior detection range is 0.026 ng/mL and in healthy subjects MPO levels are expected to vary from 1.45 to 72.67 (average 17.02) ng/mL.

Measurements of cardiac enzymes, glucose, lipids and leucogram were carried on through standard laboratory techniques.

#### *Clinical variables*

Coronary risk factors were assessed from a review of the medical records and by patient interview. Hypertension was defined by the use of antihypertensive therapy or by documentation of blood pressure  $> 140/90$  mmHg in two different occasions; current smoking as at least one cigarette per day in the last 30 days; hypercholesterolemia was diagnosed by the presence of total cholesterol  $> 240$  mg/dL or by the use of statins, and diabetes mellitus by treatment with diet, oral hypoglycemics, or insulin. Patients were considered as having a previous MI by ECG, echocardiogram, nuclear scan, or angiographic documentation.

#### *Statistical analysis*

In order to detect a moderate correlation coefficient (0.45) between the angiographic CAD score (Gensini) and plasma MPO levels, considering  $\alpha$  5% and power of 90%, the calculated sample size was 48 patients.

Continuous variables with parametric distribution were described as mean  $\pm$  standard deviation, whereas non-parametric variables such as MPO levels and Gensini score are presented as median (minimal to maximal), and analyzed by Mann-Whitney's test. Categorical data are presented as frequencies and their differences were analyzed using the chi-square or Fisher's exact test. The association between plasma MPO levels and Gensini score was evaluated by Spearman's correlation coefficient. Multivariate analysis was used to assess the correlation between MPO levels and other risk factors. A P value  $< 0.05$  was considered significant. Statistical analyses were performed using SPSS version 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

## **Results**

Baseline characteristics from the 51 patients initially included in the study are shown in Table 1. MPO was collected in an average of 38 hours after the index event. In three subjects blood samples for MPO analysis were damaged, performing a total of 48 patients who effectively had MPO measurements.

All subjects were receiving anti-platelet agents, heparin, and statins when they were included in the study. The vast majority had elevated troponin I levels ( $> 0.01$   $\mu\text{g/L}$ ) and in approximately 40%, CK-MB levels were above the normal limit. In five patients the indication for an invasive strategy was the presence of elevated troponin levels, despite having a TIMI risk score of 2.

MPO plasma levels and Gensini score medians were 6.9 ng/mL (4.4 to 73.5), and 10 (0 to 87.5), respectively. Spearman's coefficient did not show a significant association between MPO levels and Gensini score ( $r_s=0.2$ ,  $P=0.177$ ) (Figure 1). Patients who had MPO levels  $\leq 6.9$  ng/mL presented a Gensini score of 8.3, whereas those with MPO  $> 6.9$  ng/mL had a score of 13.8,  $P=0.386$  (Figure 2). When patients

were divided according to their Gensini score, subjects with Gensini  $\leq 10$  had MPO levels of 6.6 ng/mL, while those with Gensini  $> 10$  presented MPO levels of 8.5 ng/mL,  $P=0.126$  (Figure 3). There was no significant association between coronary lesion length and MPO levels according to the Spearman's correlation test ( $r_s= 0.047$ ;  $P= 0.756$ ). Multivariate analysis did not show a significant association between MPO plasma levels and several other variables, including age, diabetes mellitus, tobacco use, leukocyte count, LDL-cholesterol, troponin I, CK-MB, and TIMI risk score.

## **Discussion**

In the present study, we examined the association between MPO plasma levels and angiographic CAD severity in ACS patients undergoing diagnostic cardiac catheterization. Among the subjects, 84% had elevated troponin levels and, therefore, were considered high-risk ACS patients. The Gensini score, which was used to evaluate the severity of coronary lesions, was not significantly different in patients above and below MPO median levels. MPO plasma levels were not significantly more elevated in subjects with Gensini score in the upper range.

The association between plasma MPO levels and CAD is controversial. Our study tried to clarify the role of MPO to discriminate angiographic CAD severity in high-risk ACS patients. Düşgünçinar et al.,<sup>24</sup> studied 48 stable CAD patients with angiographic documented coronary lesions and did demonstrate a weak but statistically significant association between MPO levels and Gensini score ( $r_s= 0.228$ ;  $P= 0.04$ ). However, they found a stronger association between MPO levels and the calcium score on Multi-Slice Computerized Tomography in 30 control patients ( $r_s= 0.433$ ;  $P= 0.02$ ). In another study, MPO levels were considered an independent predictor of multivessel disease ( $> 2$  vessels) in 389 unselected patients.<sup>25</sup> In a case-control study, Ndrepepa et

al.,<sup>18</sup> studied 680 patients with CAD and concluded that MPO levels were more elevated in those subjects who had stenosis in  $\geq 2$  coronary vessels. On the other hand, Kubala et al.,<sup>26</sup> evaluated 557 clinically stable patients submitted to coronary angiography and did not show a significant difference in MPO levels between patients with documented CAD (at least 1 vessel with  $> 50\%$  stenosis) and patients without CAD.

As part of the intense neutrophilic activity, MPO levels are elevated in ACS patients,<sup>3,4</sup> being considered a well established marker of cardiovascular risk.<sup>12-17</sup> This raise in MPO levels can occur in the early stages of ACS even prior to the evidence of myonecrosis, which reflects the instabilization of the atherosclerotic plaque.<sup>27,28</sup> Aside from the fact that coronary angiography is traditionally used to grade the severity and extension of CAD, it does not provide adequate information regarding plaque vulnerability as its lipid content, fibrous cap thickness, and positive remodeling.<sup>29,30</sup> These findings are better appreciated with other diagnostic tools, such as intravascular ultrasound and optical coherence tomography.<sup>29,30</sup>

We found low MPO plasma levels in patients with high Gensini score and elevated levels of MPO in subjects with low Gensini score in our study. We postulate that this discrepancy between MPO plasma levels and Gensini score, in patients with ACS, might be attributed to fact that the angiography-based Gensini score offers anatomical severity information, but does not allow a functional and morphological analysis of the atherosclerotic plaque. Therefore, even in patients with mild obstructive CAD, or when endothelial dysfunction is the principal cause of the ischemic insult, MPO levels can be elevated despite the angiographic findings. The opposite might be true in regards that multivessel disease patients could also present lower levels of MPO.

Our study has some limitations. Blood samples for MPO analysis were drawn in different moments within 72 hours after onset of symptoms. It's well known that this

enzyme presents an early elevation in ACS subjects in the first two hours after onset of symptoms, with its levels declining rapidly in the following hours.<sup>12,28</sup> This finding could indicate that a possible delay in MPO measurement could have distorted our results. Despite this, there was no inverse correlation between the time frame for blood samples collection and MPO levels (P=0.2). Our limited sample size and the lack of other comparative inflammatory biomarkers could have been considered other limitations of the present study as well.

In conclusion, the present study performed in high-risk ACS patients, MPO plasma levels were no predictive of the angiographic CAD severity. This finding suggests that MPO expression as an inflammatory biomarker is dissociated from the anatomical severity of the coronary lesions. In this context, further studies including a higher number of patients, with serial MPO measurements, and with employment of other diagnostic methodologies to better depict the coronary atherosclerotic plaque, might be useful to define the role of MPO in ACS.

## References

1. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-43.
2. de Servi S, Mazzone A, Ricevuti G, Mazzucchelli I, Fossati G, Angoli L, et al. Expression of neutrophil and monocyte CD11B/CD18 adhesion molecules at different sites of the coronary tree in unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1996;78;564-8.
3. Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G, D'Onofrio G, Crea F, Maseri A. Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med* 2002;347;5-12.
4. Naruko T, Ueda M, Haze K, van der Wal AC, van der Loos CM, Itoh A, et al. Neutrophil infiltration of culprit lesions in acute coronary syndromes. *Circulation* 2002;106:2894-900.
5. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1102-11.
6. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 2005;77:598-625.
7. Podrez EA, Abu-Soud HM, Hazen SL. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 2000; 28:1717-25.
8. Brennan ML, Hazen SL. Emerging role of myeloperoxidase and oxidant stress markers in cardiovascular risk assessment. *Curr Opin Lipidol* 2003;14:353-9.
9. Hazen SL. Myeloperoxidase and plaque vulnerability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1143-6.
10. Shabani F, McNeil J, Tippet L. The oxidative inactivation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) by hypochlorous acid (HOCL) is suppressed by anti-rheumatic drugs. *Free Radical Res* 1998;28:115-23.
11. Fu X, Kassim SY, Parks WC, Heinecke JW. Hypochlorous acid oxygenates the cysteine switch domain of pro-matrilysin (MMP-7): a mechanism for matrix metalloproteinase activation and atherosclerotic plaque rupture by myeloperoxidase. *J Bio Chem* 2001;276:41279-87.
12. Brennan ML, Penn MS, Van Lente S, Nambi V, Shishehbor MH, Aviles RJ, et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med* 2003;349:1595-604.
13. Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, Zeiher AM, Eiserich JP, Münzel T, et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;108:1440-5.
14. Cavusoglu E, Ruwend C, Eng C, Chopra V, Yanamadala S, Clark LT, et al. Usefulness of baseline plasma myeloperoxidase levels as an independent predictor of myocardial infarction at two years in patients presenting with acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2007;99:1364-8.

15. Morrow DA, Sabatine MS, Brennan ML, de Lemos JA, Murphy SA, Ruff CT, et al. Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18. *Eur Heart J* 2008;29:1096-12.
16. Mocatta TJ, Pilbrow AP, Cameron VA, Senthilmohan R, Frampton CM, Richards AM, et al. Plasma concentrations of myeloperoxidase predict mortality after myocardial infarction *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1993-2000.
17. Khan SQ, Kelly D, Quinn P, Davies JE, Ng LL. Myeloperoxidase aids prognostication together with N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in high-risk patients with acute ST elevation myocardial infarction. *Heart* 2007;93:826-31.
18. Ndrepepa G, Braun S, Mehilli J, von Beckerath N, Schömig A, Kastrati A. Myeloperoxidase level in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes. *Eur J Clin Invest* 2008;38:90-6.
19. Zhang R, Brennan ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA* 2001;286:2136-42.
20. Sugiyama S, Okada Y, Sukhova GK, Virmani R, Heinecke JW, Libby P. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *Am J Pathol* 2001;158:879-91.
21. Tavora FR, Ripple M, Li L, Burke AP. Monocytes and neutrophils expressing myeloperoxidase occur in fibrous caps and thrombi in unstable coronary plaques. *BMC Cardiovasc Disord* 2009;9:27.
22. Antman EM, Cohen M, Bernink PJLM, McCabe CH, Horacek T, Papuchis G, et al. The TIMI risk score for unstable angina / non ST elevation MI. A method for prognostication and therapeutic decision making. *JAMA* 2000;284:835-42.
23. Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. *Am J Cardiol* 1983;51:606.
24. Düzgünçinar O, Yavuz B, Hazirolan T, Deniz A, Tokgözoğlu SL, Akata D, et al. Plasma myeloperoxidase is related to the severity of coronary artery disease. *Acta Cardiol* 2008;63:147-52.
25. Cavusoglu E, Chopra V, Gupta A, Ruwende C, Yanamadala S, Eng C, et al. Usefulness of the white blood cell count as a predictor of angiographic findings in an unselected population referred for coronary angiography. *Am J Cardiol* 2006;98:1189-93.
26. Kubala L, Lu G, Baldus S, Berglund L, Eiserich JP. Plasma levels of myeloperoxidase are not elevated in patients with stable coronary artery disease. *Clin Chim Acta* 2008;394:59-62.
27. Rudolph TK, Rudolph V, Baldus S. Contribution of myeloperoxidase to smoking-dependent vascular inflammation. *Proc Am Thorac Soc* 2008;5:820-3.

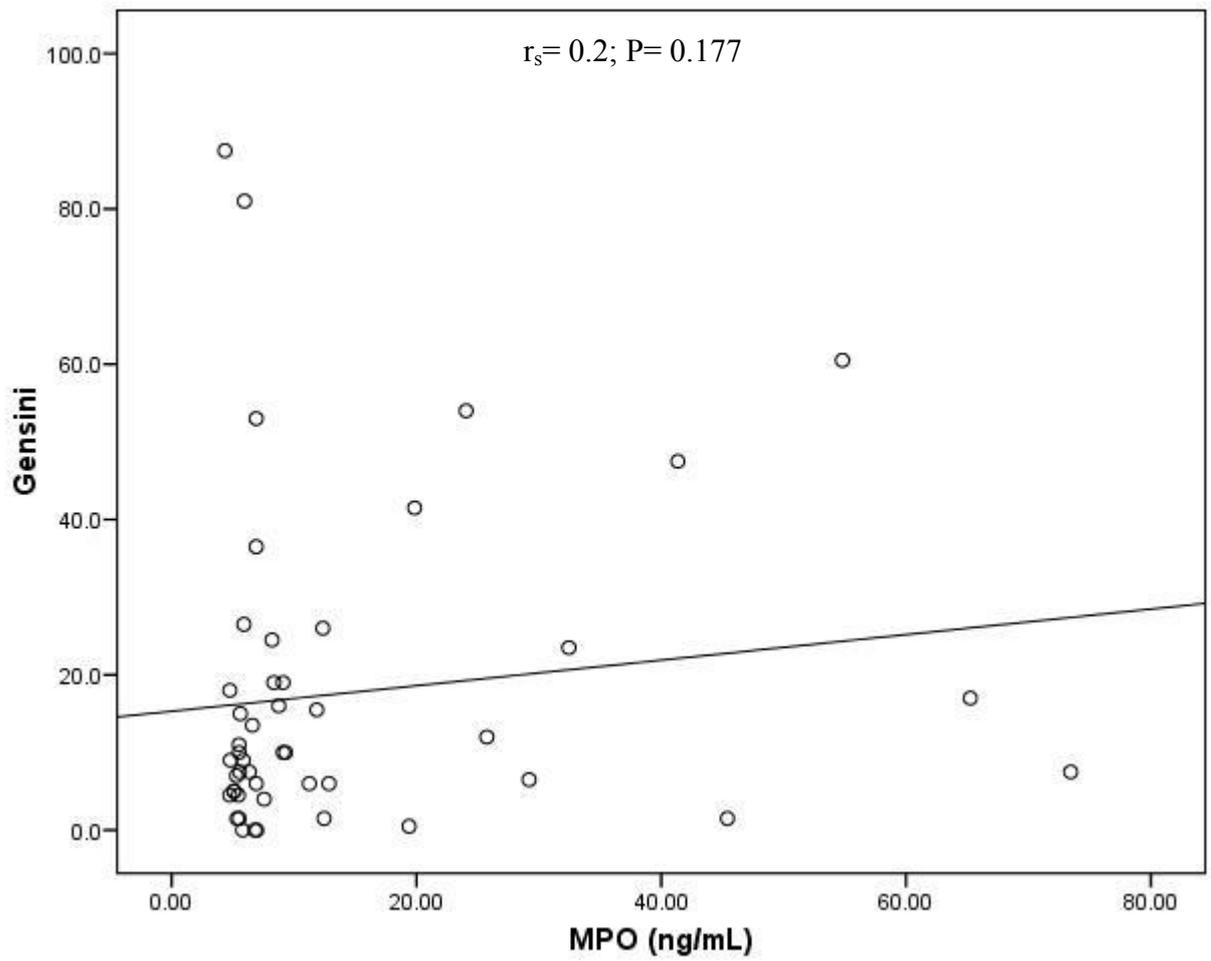
28. Goldmann BU, Rudolph V, Rudolph TK, Holle A-K, Hillebrandt M, Meinertz T, et al. Neutrophil activation precedes myocardial injury in patients with acute myocardial infarction. *Free Radic Biol Med* 2009;47:79-83.
29. Young JJ, Phillips HR, Marso SP, Granada JF, McPherson JN, Waksman R, et al. Vulnerable plaque intervention: state of the art. *Catheter Cardiovasc Interv* 2008;71:367-74.
30. Schaar JA, Mastik F, Regar E, den Uil CA, Gijzen FJ, Wentzel JJ, et al. Current diagnostic modalities for vulnerable plaque detection. *Curr Pharm Des* 2007;13:995-1001.

**Table 1** – Baseline clinical and demographic characteristics.

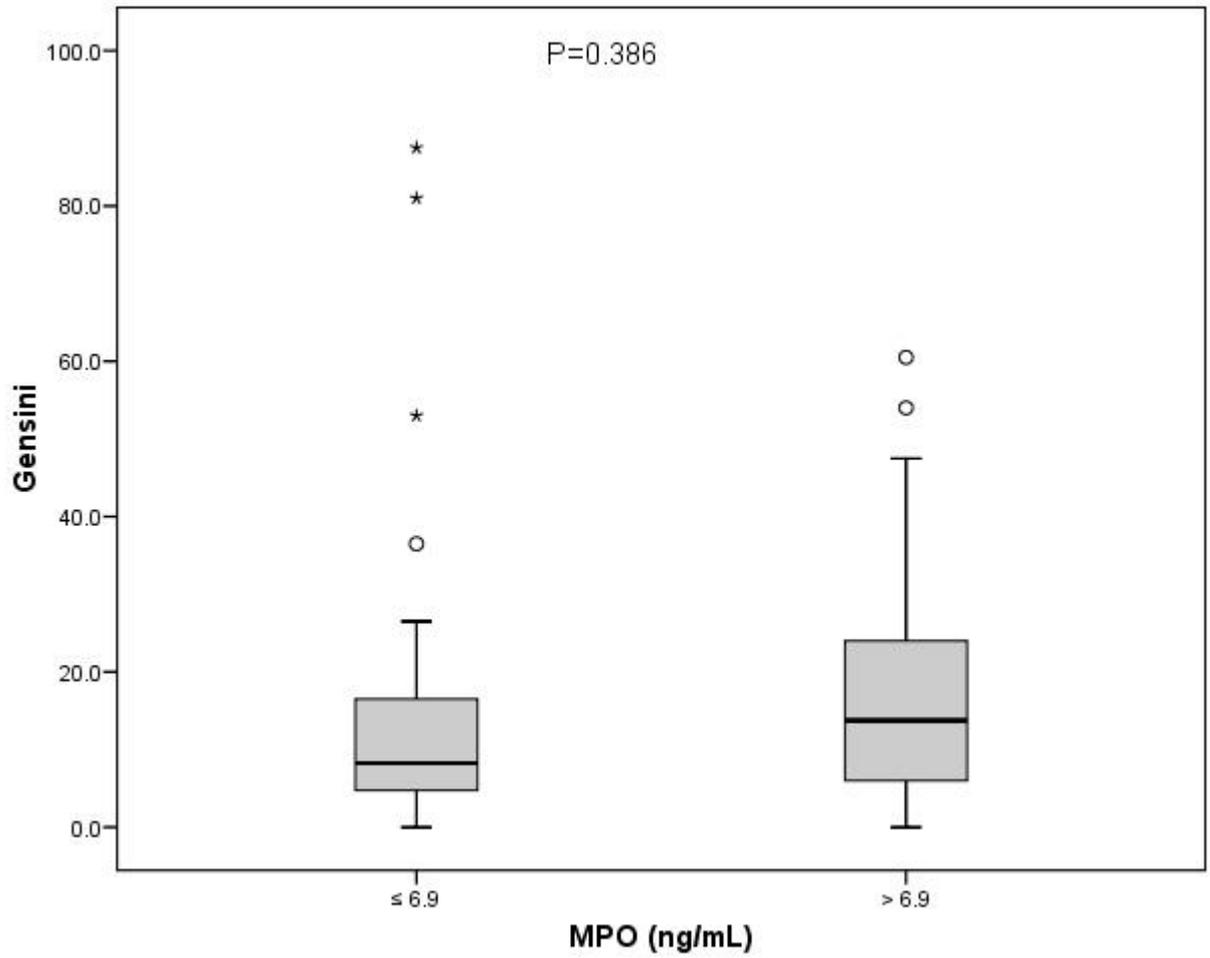
<b>Characteristic</b>	<b>Non-ST acute coronary syndrome (n=51)</b>
<b><u>Demographic</u></b>	
Age (years)*	61.7 ± 10,3
Male sex	34 (66.7)
<b><u>Risk factors</u></b>	
Arterial hypertension	37 (72.5)
Current smoking	15 (29.4)
Hypercholesterolemia	27 (52.9)
Diabetes mellitus	16 (31.4)
Previous myocardial infarction	10 (19.6)
<b><u>Pharmacological treatment</u></b>	
Aspirin	50 (98)
Thienopyridines	51 (100)
Non-fractionated heparin	35 (68.6)
Enoxaparin	16 (31.4)
Statin	51 (100)
Beta-blockers	46 (90.2)
ACE inhibitor	36 (70.6)
<b><u>Enzymes/risk score</u></b>	
Troponin I > 0.01 µg/L	43 (84.3)
Ck-MB ≥ 2 ULN**	21 (41.2)
TIMI Risk 0-2	5 (9.8)
TIMI Risk 3-4	31 (60.8)
TIMI Risk 5-7	15 (29.4)

\* Data are shown in another unit, median ± standard deviation.

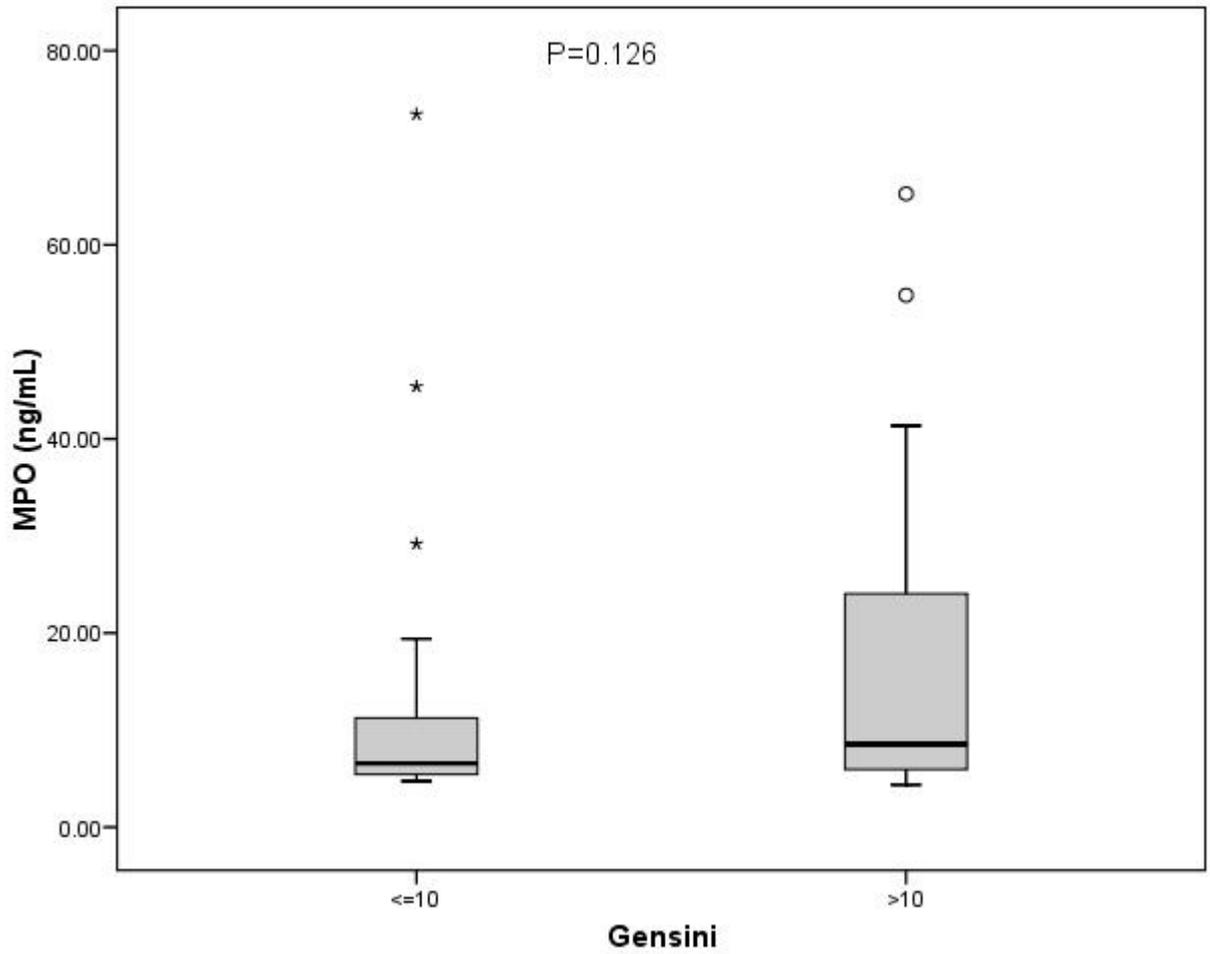
\*\* ULN= Upper limit of normal.



**Figure 1** – Correlation between MPO levels and Gensini score.



**Figure 2** – Gensini score below and above of MPO median levels.



**Figure 3** – Values of MPO levels below and above of Gensini median score.

## TERMO DE CONSENTIMENTO

Protocolo: Associação entre Mieloperoxidase e Gravidade da Doença Arterial Coronariana avaliada pela Angiografia em pacientes com Síndrome Coronariana Aguda

Investigador: Dr. Eraldo de Azevedo Lúcio

### OBJETIVOS

Solicitamos a sua permissão para participar de um protocolo de pesquisa, cujo objetivo é investigar a associação entre os níveis sanguíneos da *mieloperoxidase* e a gravidade das lesões nas artérias coronárias avaliada pela angiografia (cateterismo). Para melhor informá-lo(a), a *mieloperoxidase* participa do processo de aterosclerose desde a formação até a instabilidade da placa que obstrui as artérias coronárias.

### CONTATOS

No caso de qualquer dúvida relacionada a esse estudo o contato poderá ser feito com o Dr. Eraldo Lúcio ou com o Dr. Marco Wainstein, através dos telefones 99872562 ou 99160826, respectivamente.

### PROCEDIMENTOS

O(a) senhor(a) será submetido(a) ao cateterismo cardíaco e estudo angiográfico das artérias coronárias dentro de 72 horas do início dos seus sintomas agudos, cuja solicitação está totalmente a critério da equipe médica assistencial que indicou o tal exame. Uma amostra de 5 ml de sangue será coletada através da bainha arterial colocada durante o cateterismo, antes da injeção do meio de contraste. Essa amostra será armazenada num laboratório desse hospital para posterior análise da *mieloperoxidase*.

### RISCOS

Serão inerentes à realização do cateterismo cardíaco solicitado pelo seu médico-assistente, os quais o(a) senhor(a) já foi informado(a). O único procedimento dessa

pesquisa será a coleta de 5 ml de sangue para se dosar a *mieloperoxidase*, aspirado da bainha arterial colocada como procedimento obrigatório do exame de cateterismo.

## BENEFÍCIOS

A possibilidade da associação dos níveis sanguíneos da *mieloperoxidase* com a gravidade da doença arterial coronariana pode trazer informações importantes no que se refere ao diagnóstico e prognóstico da sua doença, e auxiliar uma estratégia de prevenção e tratamento de eventos cardiovasculares futuros. Além do mais, não haverá nenhum custo extra para o(a) senhor(a) ou para o seu seguro saúde pela sua participação nessa pesquisa.

## CONFIDENCIALIDADE

As informações médicas geradas por esta pesquisa farão parte do seu prontuário hospitalar, exceto em casos especificados no termo de consentimento. Aquelas informações que não constarem no seu prontuário serão mantidas no arquivo dos pesquisadores e identificadas apenas por um número. Os resultados desse estudo poderão ser publicados em uma revista ou livro texto da área médica com a finalidade de ensinamento.

## SOLICITAÇÃO DE INFORMAÇÕES ADICIONAIS

O(a) senhor(a) poderá solicitar mais informações a respeito do estudo a qualquer momento. Os investigadores fornecerão um número de telefone para contato onde ficarão disponíveis para as suas questões. O(a) senhor(a) será informado sobre novas descobertas que possam influenciar a continuidade da sua participação na pesquisa.

## RECUSA OU ABANDONO DO ESTUDO

O(a) senhor(a) não estará obrigado a participar desse estudo. Se a sua decisão for negativa, ela não afetará o seu tratamento futuro. Uma vez no estudo, o(a) senhor(a) poderá desistir do mesmo, a qualquer momento e por qualquer motivo, sem prejuízos

para o seu tratamento. Além do mais, o pesquisador responsável poderá decidir pelo término da sua participação no estudo a qualquer momento.

#### ASSINATURA

Eu confirmo que a proposta dessa pesquisa, os procedimentos do estudo e os possíveis riscos e desconfortos, bem como os potenciais benefícios, foram suficientemente explicados a mim. Todas minhas dúvidas foram respondidas. Eu li este termo de consentimento. A minha assinatura abaixo indica a minha concordância em participar do estudo.

_____	_____
Paciente	Data
_____	_____
Testemunha	Data
_____	_____
Assinatura adicional	Data

Eu expliquei o objetivo desse estudo e os procedimentos do mesmo, identificando aqueles considerados investigativos, os possíveis riscos e desconfortos bem como os potenciais benefícios, e respondi todas as dúvidas relacionadas da melhor forma possível.

_____	_____
Representante do estudo	Data

## FICHA DE ACOMPANHAMENTO

### Síndrome Coronariana Aguda Sem Elevação do Segmento ST

Nome:	Sexo: M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	Idade:
Data da coleta:	Número:	Registro:

Último episódio de dor ou equivalente isquêmico:

Data:	Horário:
-------	----------

Dados Clínicos:

IM Prévio: <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	Fumo <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	Ex Tabagista <input type="checkbox"/>
Creatinina $\geq 2,0$ : <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	DM <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	
HAS <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	Colesterol $\uparrow$ <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	IMC (kg/m <sup>2</sup> )= ,

Medicação pré-hospitalar:

Medicação intra-hospitalar:

AAS <input type="checkbox"/>	Beta-Bloqueadores <input type="checkbox"/>
Clopidogrel <input type="checkbox"/>	Ticlopidina <input type="checkbox"/>
Estatina <input type="checkbox"/>	Enoxa <input type="checkbox"/>
IECA <input type="checkbox"/>	Heparina <input type="checkbox"/>

Eletrocardiograma:

Infradesnível de ST  $\geq 0,5$  mm

Anterior <input type="checkbox"/>	Inferior <input type="checkbox"/>	Lateral <input type="checkbox"/>
-----------------------------------	-----------------------------------	----------------------------------

Onda t  $\geq 2$  mm

Anterior <input type="checkbox"/>	Inferior <input type="checkbox"/>	Lateral <input type="checkbox"/>
-----------------------------------	-----------------------------------	----------------------------------

Exames:

CK-MB $> 2x$ <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	C-HDL:
Troponina + <input type="checkbox"/> sim <input type="checkbox"/> não	C-LDL:
Colesterol Total:	Timi Risk:

### Escore de risco TIMI para AI e IAM sem supra de ST

HISTÓRICO	PONTOS
Idade $\geq$ 65 anos	1
$\geq$ 3 FR (HF, HAS, DM, fumo, $\uparrow$ colesterol)	1
DAC conhecida (estenose $\geq$ 50%)	1
Uso de AAS nos últimos 7 dias	1
<b>Apresentação clínica</b>	
Angina grave recente ( $\geq$ 2 episódios últimas 24 h)	1
$\uparrow$ de enzimas	1
Infra de ST $\geq$ 0,5 mm	1
<b>Escore de risco</b>	<b>Total de pontos=</b>
<b>Baixo- 0 a 2    Intermediário- 3 a 4    Alto- 5 a 7</b>	

FR= fatores de risco; HF= história familiar; HAS= hipertensão arterial sistêmica; DM= diabetes melito; DAC= doença arterial coronariana

### **Diagnóstico:**

<b>Angina Instável</b> <input type="checkbox"/>	<b>IAM SEST</b> <input type="checkbox"/>
---	--

### **Angiografia Coronariana:**

<b>CD</b>	<b>%</b>	<b>TCE</b>	<b>%</b>	<b>Cx</b>	<b>%</b>
<b>DP</b>	<b>%</b>	<b>DA</b>	<b>%</b>	<b>Mg 1</b>	<b>%</b>
<b>VP</b>	<b>%</b>	<b>Diag 1</b>	<b>%</b>	<b>Mg 2</b>	<b>%</b>
		<b>Diag 2</b>	<b>%</b>		

### **Angiografia Coronariana (Lesão Culpada):**

<b>Lesão B<sub>2</sub> ou C (ACC/AHA)</b>	<b>sim</b>	<input type="checkbox"/>	<b>não</b>	<input type="checkbox"/>
<b>Trombo</b>	<b>sim</b>	<input type="checkbox"/>	<b>não</b>	<input type="checkbox"/>
<b>Ulcação</b>	<b>sim</b>	<input type="checkbox"/>	<b>não</b>	<input type="checkbox"/>
<b>Fluxo TIMI &lt; 2</b>	<b>sim</b>	<input type="checkbox"/>	<b>não</b>	<input type="checkbox"/>

### **Escore de Gensini:**

MPO (ng/mL)= ,

### **Critérios de exclusão:**

- |  |
|--|
| <ol style="list-style-type: none"><li>1) Doenças inflamatórias ou infecciosas</li><li>2) Infarto do miocárdio com “ondas q” há menos de 30 dias</li><li>3) Implante de STENT nos últimos 30 dias</li><li>4) Cirurgia de revascularização miocárdica prévia</li><li>5) Insuficiência renal (DCE &lt; 30 mL/min)</li></ol> |
|--|