Novos biomarcadores inflamatórios e de disfunção endotelial: predição de risco cardiovascular

Novel biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction: prediction of cardiovascular risk

Eduardo Pitthan[1], Oscar Morency Otto Martins[2], Juarez N. Barbisan[3]

RESUMO

Em consequência do avanço das pesquisas no campo da biologia molecular e celular, ampliou-se o entendimento dos mecanismos fisiopatológicos das doenças cardiovasculares (DCV) e, como consequência, uma nova série de biomarcadores tem emergido como promissoras ferramentas para refinar o diagnóstico, prognóstico e guia terapêutico, associado à análise individual do contexto clínico de cada paciente. Em recente publicação, o professor Eugene Braunwald apresentou a Classificação Braunwald de Biomarcadores para Insuficiência Cardíaca. A utilização desta estratégia de multimarcadores na abordagem das DCV permite a detecção da disfunção ventricular e coronariana sob a ótica dos diversos mecanismos fisiopatológicos envolvidos. O desenvolvimento rápido nas técnicas de identificação de centenas de proteínas de aplicabilidade potencial como marcadores prognósticos propiciou a incorporação de uma abordagem com multibiomarcadores na rotina clínica do atendimento de pacientes com suspeita de DCV. Este procedimento possibilita ao clínico identificar com mais precisão pacientes com alto risco e que devem demandar estratégias de um manejo de cuidados intensivos.

UNITERMOS: Endotélio, Prognóstico, Doenças Cardiovasculares.

ABSTRACT

As a result of the advancement of research in molecular and cell biology, our understanding of the pathophysiological mechanisms of cardiovascular disease (CV) was expanded and, as a result, a new set of biomarkers have emerged as promising tools to refine the diagnosis, prognosis and therapeutic course, associated with the individual analysis of each patient's clinical context. In a recent publication, Professor Eugene Braunwald presented the Braunwald classification of Biomarkers for Heart Failure. The use of this strategy of multiple markers in addressing CVD allows detection of ventricular and coronary dysfunction from the perspective of the different pathophysiological mechanisms involved. The rapid technical development in the identification of hundreds of proteins of potential applicability as prognostic markers allowed incorporating an approach with multiple biomarkers in the clinical routine of care of patients with suspected CVD. This procedure allows the clinician to identify more accurately patients at high risk and who should require strategies of intensive care management.

KEYWORDS: Endothelium, Prognosis, Cardiovascular Diseases.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) lideram as causas de morte na maioria dos países ocidentais e, com o envelhecimento da população, a expectativa é de que este cenário permaneça em crescimento nos próximos anos (1). Com a elevada prevalência dos fatores de risco (FR) para a DCV na população em geral, é cada vez mais frequente a necessidade de avaliação diagnóstica e prognóstica acurada (2).

[1] Mestre em Ciências da Saúde, Cardiologia. Diretor Científico do Departamento de Cardiogeriatria (DECAGE/ SOCERGS).
[2] Mestre em Ciências da Saúde, Cardiologia.
[3] Doutorado em Ciências da Saúde, Cardiologia.

Pesquisas recentes têm ampliado o entendimento dos mecanismos fisiopatológicos da DCV e, como consequência, uma nova série de biomarcadores tem emergido como promissoras ferramentas para diagnóstico, prognóstico e guia terapêutico (3). Os biomarcadores constituem um parâmetro biológico-qualitativo e quantitativo das alterações fisiológicas ou do processo patológico. Os biomarcadores devem apresentar alta sensibilidade e especificidade e também reprodutibilidade e custo-efetividade (4).

A discussão do uso de biomarcadores tem demonstrado resultados conflitantes no aspecto de custo-benefício para uma acurada identificação nos pacientes em risco e também o teor qualitativo e quantitativo dessas informações.

O estudo *Novel and Conventional Biomarkers for Prediction of Incident Cardiovascular Events in the Community* concluiu que a utilização dos biomarcadores (PCR e NT-pró-BNP para predição de evento cardiovascular; e NT-pró-BNP e MR-pró-ADM – Midregional pró-Adrenomedulina para evento coronariano) e como preditores apresentava valor na identificação dos pacientes com médio risco e insuspeitos de eventos cardiovasculares. Nos pacientes com mínimo risco, agregavam informações de predição clínica levemente superiores aos convencionais fatores de risco. Ressalte-se que o estudo foi de rastreamento de DCV, com base populacional de indivíduos assintomáticos, alocados abaixo da faixa de pré-teste. Evidências robustas mostram as vantagens clínicas da aplicabilidade dos biomarcadores na predição clínica em pacientes acima do limiar do pré-teste e do limiar de tratamento (5).

A abordagem com multimarcadores das DCVs define uma nova era e uma nova visão no manejo diagnóstico e prognóstico. Este novo capítulo, no estudo das DCVs, pode ser denominado *Era Proteômica*, determinada pela grande expansão dos estudos biomoleculares, das proteínas intra e extracelulares, suas concentrações, variações, funções e afinidades (6).

Recentemente, a estratégia de multimarcadores proposta por Rehman *et al.* (7) tem demonstrado vantagens ao reconhecer a expansão e o valor dos biomarcadores no diagnóstico e predição clínica. O professor Eugene Braunwald (3) apresentou a Classificação Braunwald de Biomarcadores para Insuficiência Cardíaca, constituída por sete eixos de ativação inflamatória, neuroendócrina, estresse oxidativo, remodelamento de matriz extracelular, isquemia de miócito, estresse de miócito e novos biomarcadores que proporcionam a elucidação da etiopatogenia, estratificação de risco, predição clínica e alvo terapêutico das DCVs.

BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS NA CARDIOPATIA ISQUÊMICA

A aterosclerose é altamente prevalente na sociedade moderna e, como é a causa primária de DAC e do AVC, torna-se responsável por quase 50% das mortes em países ocidentais. A necessidade de identificar os pacientes de alto risco e que devem demandar estratégias de manejo com cuidados intensivos determinou a incorporação de uma abordagem com biomarcadores na rotina clínica para a predição de eventos cardiovasculares.

A partir dos anos 1990, com a melhor compreensão da fisiopatologia da aterosclerose e dos eventos coronarianos agudos, acumulou-se uma robusta evidência de que a inflamação desempenha papel-chave e participa de todas as fases do processo aterosclerótico. Está bem demonstrado que marcadores inflamatórios podem auxiliar na estratificação e na predição de eventos cardiovasculares (8).

Dentre os marcadores inflamatórios estudados, até o momento, a Proteína C Reativa ultrassensível (PCRus) é o marcador que possui maior relevância clínica e também é o que fornece maior informação prognóstica adicional, de forma independente dos FR tradicionais (8). É um marcador de risco tanto em pacientes com quadros isquêmicos agudos, aos quais foi inicialmente associado (9), quanto na predição de risco futuro de IAM e acidente vascular cerebral (AVC) em pessoas aparentemente saudáveis, sejam homens (10) ou mulheres. Em 2003, uma diretriz conjunta do Centro de Controle de Doenças Americano (CDC) e da *American Heart Association (*AHA), de atualização e orientação para utilização clínica dos marcadores inflamatórios em DCV, já incluiu a PCRus na avaliação global de risco (11).

Da disfunção endotelial à ruptura da placa e o evento trombótico

Durante muitos anos, a aterosclerose foi considerada uma doença de acúmulo passivo de lipídios na parede arterial. Entretanto, especialmente a partir dos anos 1990, robusta evidência demonstra que a inflamação tem um papel central em todas as fases da aterosclerose, passando, atualmente, a ser considerada uma doença de resposta inflamatória arterial (9). Com o reconhecimento angiográfico de que a maioria dos IAM ocorria em lesões que não causavam estenoses hemodinamicamente severas (12) e do conceito de placa instável/vulnerável (13), constatou-se que as estratégias de predição de risco de eventos futuros possuíam limitações. Novos marcadores tornaram-se alvo de pesquisa, sendo que vários marcadores inflamatórios têm sido investigados, em uma série de cenários clínicos e cirúrgicos, que vão desde indivíduos aparentemente saudáveis até nos que apresentam síndrome coronariana aguda (SCA), doença arterial periférica (DAP), e outras manifestações da doença aterosclerótica (8).

O endotélio normal não permite a adesão de leucócitos, no entanto, na presença de FR como hipercolesterolemia, HAS, DM e tabagismo, porções de células arteriais endoteliais começam a expressar, na sua superfície, moléculas de adesão seletivas que se ligam a várias classes de leucócitos. Em particular, moléculas de adesão da célula

vascular (VCAM-1) ligam os monócitos e os linfócitos T, um dos eventos iniciais na aterosclerose (14). A reação que ocorre é do tipo autoimune, da parede do vaso pela modificação oxidativa das lipoproteínas no espaço subintimal, evento mais precoce na aterosclerose (14). Também são liberadas citocinas inflamatórias (IL-1β, IL-4, IL-6) e peptídeo 1-quimioatrativo de monócitos (MPC-1), que determinam maior expressão de moléculas de adesão, o que favorece o recrutamento e a adesão dos monócitos à superfície endotelial (15).

No espaço subintimal os macrófagos, que são as células inflamatórias mais importantes no processo aterosclerótico, fagocitam as LDL oxidadas, transformando-se nas células espumosas, conhecidas também como *foam cells*, as quais liberam grandes quantidades de Espécies Reativas ao Oxigênio (EROS). A expressão das moléculas de adesão é induzida por interação de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1β e TNF-α, pela PCR (reagente de fase aguda produzida no fígado em resposta principalmente a IL-6), pelo receptor sinalizante da protease-ativada, pela LOX-1 e pelo CD40 e CD40 ligante (8).

Os macrófagos, no entanto, não estão sozinhos na formação do ateroma. Os linfócitos T, células dendríticas, mastócitos também são recrutados para a placa de ateroma e, ativados, junto com os macrófagos, resultam na expressão do fator tecidual (TF), metaloproteinases de matriz (MMPs) e citocinas que perpetuam a inflamação (16).

Havendo a permanência dos FR, com a manutenção da disfunção endotelial, a inflamação persiste, e a placa de ateroma progride para uma lesão mais complexa com a migração e proliferação de células musculares lisas (SMC) e a síntese de colágeno, que forma, junto com a elastina, a capa fibrosa (17).

Finalmente, os macrófagos ativados, junto com as células musculares lisas, sintetizam e secretam MMPs de 1 a 9, os quais são enzimas que degradam a matriz extra e pericelular com a instabilização da placa aterosclerótica (provocando a ruptura de sua capa fibrótica), o que expõe uma superfície trombogênica que culmina nas SCA (18).

Alguns investigadores sugerem que a PCR, neste processo inflamatório, não seria apenas um marcador da inflamação vascular subjacente e que teria uma ação direta no dano do vaso (um fator de risco), determinando a ativação do complemento, ativando a inflamação e trombose, promovendo eventos cardiovasculares (19). A PCR atuaria quimicamente com os monócitos, ocasionando sua migração e adesão à parede arterial, além de interagir com moléculas de LDL, ativando o sistema de complemento e participando da formação de células espumosas, além de induzir à expressão das moléculas de adesão pelas células endoteliais e suprimindo a produção de óxido nítrico endotelial (20). Outros pesquisadores, no entanto, argumentam que a "presença na cena do crime não é evidência inequívoca de culpa por si mesmo", e estudos em ratos não sugerem este papel direto, deixando a questão a ser esclarecida futuramente (21).

Proteína C Reativa na cardiopatia isquêmica

A PCR é uma proteína reagente de fase aguda cuja concentração plasmática aumenta (ou diminui) em 25% ou mais em resposta à inflamação induzida por trauma, alterações metabólicas, imunológicas, infecciosas, ou outro processo em qualquer lugar do corpo (21). Durante a resposta de fase aguda, os níveis de PCR podem aumentar acima de 10 mg/L e mesmo níveis tão altos como 100-200 mg/L podem ser encontrados (22). Embora anteriormente houvesse consenso de que a PCR fosse produzida exclusivamente pelo fígado, onde sua produção é estimulada por citocinas inflamatórias (especialmente em resposta a IL-6) e, mais recentemente, tem sido demonstrado que a PCR também é produzida em outros tecidos, como: placa de ateroma, células musculares da parede coronariana, células endoteliais aórticas e nos adipócitos (23).

Há várias condições que alteram a PCR, além do estado inflamatório vascular. Algumas determinam sua elevação como: HAS, índice de massa corporal elevado, fumo, síndrome metabólica, DM, perfil lipídico de HDL baixo/triglicerídeos elevados, estrógeno e/ou uso de progesterona, infecções crônicas (como a gengivite e a bronquite), inflamações crônicas (como a artrite reumatoide). Há outras condições que determinam sua redução como: consumo moderado de álcool, atividade física elevada (bom condicionamento), perda de peso e medicações (estatinas, fibratos e niacina), entre outras, não parecendo haver interferência do sexo, idade ou raça.

A associação direta entre os níveis elevados de PCRus com eventos cardiovasculares, em pessoas aparentemente saudáveis, ou naquelas que apresentam FR associados, como obesidade e tabagismo, está evidenciada em estudos epidemiológicos clínicos prospectivos.

Os níveis usuais de PCRus, considerados como inflamação subclínica (baixo risco: <1 mg/L, intermediário: de 1 a 3; alto risco: >3 mg/L) e utilização até 10 mg/L pelo CDC/ACC 2003, capazes de predizerem eventos cardíacos, talvez possam ser ampliados, uma vez que valores extremos também fornecem informações prognósticas de risco cardiovascular (24).

Apesar de toda a evidência positiva demonstrada, mais recentemente, alguns autores têm emitido uma posição crítica com relação às recomendações do CDC e AHA de 2003 e solicitam uma revisão da mesma, entendendo que a contribuição da PCR é pequena em comparação com os Escores de Risco de *Framinghan* (25). Outros questionam se o excessivo interesse científico e do público teria embasamento atual que endossasse tal entusiasmo, pois o RR para indivíduos incluídos no *British Regional Heart Study* foi de 2,0 e no *Reykjavik Study* foi ainda mais modesto (RR 1,45) (26), e sugerem que a incorporação da PCR aos modelos de predição de risco cardiovascular não ocorra até que uma base mais sólida esclareça o real papel da mesma (27).

Vários novos marcadores inflamatórios emergentes estão sendo estudados, tais como: moléculas de adesão, cito-

cinas, TNF, fator de crescimento placentário, adiponectina, proteína plasmática associada à gravidez, fosfolipase A2 associada à lipoproteína, cistatina C, LOX-1, PARs, MMPs, com potencial de se tornarem alvo de predição, prevenção e tratamento das DCV, tendo, atualmente, seu uso clínico ainda indefinido e, por ora, limitado (17).

Mais sofisticadas dosagens de atividade de citocinas, adesão celular, e função imunológica (como IL-6, IMAC 1, ICAM1, IMC1 e CD40 ligante solúvel) têm mostrado associação com risco cardiovascular aumentado. Na visão atual, considera-se como improvável que tenham emprego clínico rotineiro por apresentarem meia-vida curta, o que limita sua utilização clínica e, como no caso do fibrinogênio (marcador tanto de trombose como de inflamação), pobre padronização (11).

As diretrizes da AHA/CDC de 2003, que sugerem a incorporação da PCR na avaliação global de risco, indicam a recomendação com nível de evidência B para estratégia terapêutica em pacientes enquadrados no risco intermediário (10 a 20%) pelo Escore de Risco de *Framinghan* (28).

BIOMARCADORES NA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

Os Biomarcadores apresentam capacidade de refinar o diagnóstico, a predição e estratificação de risco, identificação da etiologia e mecanismos fisiopatológicos presentes no quadro clínico da Insuficiência Cardíaca (IC), em conjunto com uma análise individual do contexto de cada paciente (29).

O papel dos biomarcadores na insuficiência cardíaca continua evoluindo, e são crescentes as evidências de que um painel de biomarcadores pode incrementar a acurácia diagnóstica da insuficiência cardíaca. Por exemplo, quando o BNP e a troponina estão ambos elevados na insuficiência cardíaca, o risco de mortalidade aumenta doze vezes comparado aos pacientes com diagnóstico de insuficiência cardíaca, porém com níveis indetectáveis de troponina I e baixos valores de BNP (6).

Do modelo de falência de bomba, como mecanismo primário da IC, para um modelo mais complexo incluindo conceitos de disfunção neuroendócrina, imunológico e inflamatório, também como alterações metabólicas no cardiomiócito e sistêmicas. Em recente publicação, o professor Eugene Braunwald (3) apresentou a Classificação Braunwald de Biomarcadores para Insuficiência Cardíaca, dividido em sete categorias (Quadro 1).

A estratégia de multimarcadores na abordagem da insuficiência cardíaca permite a detecção da disfunção ventricular sob a ótica dos diversos mecanismos fisiopatológicos em ação na evolução da insuficiência cardíaca. Os recentes avanços na identificação de centenas de proteínas biomarcadoras de IC, e a expansão desta tecnologia nos próximos dez anos, determinarão um impacto crescente na detecção diagnóstica, estratificação de risco e uma plataforma para projeção de uma maior complexidade no manejo terapêutico dos pacientes com insuficiência cardíaca (30).

Biomarcadores inflamatórios e disfunção endotelial

Os biomarcadores inflamatórios são particularmente importantes e ativos no processo evolutivo da IC. As citocinas produzidas nesse processo não devem ser tomadas

Quadro 1 – Biomarcadores na Insuficiência Cardíaca.

Biomarcadores Inflamatórios *Função: Etiopatogenia, Diagnóstico, Prognóstico e Risco de IC* PCR NTF-α FAS (APO-1) Interleucina 1, 6 e 18
Biomarcadores de Estresse Oxidativo *Função: Etiopatogenia, Diagnóstico, Prognóstico, Risco de IC e Alvo Terapêutico* Lipoproteína Oxidada de Baixa Densidade Mieloperoxidase Biopirrinas Urinárias Isoprostatanes Urinária Plasmática Malondialdeido Plasmático
Biomarcadores de Remodelamento de Matrix Extracelular *Função: Etiopatogenia, Diagnóstico, Prognóstico, Risco de IC e Alvo Terapêutico* MMPs – Metaloproteinases TIMPs – Inibidores Teciduais de Metaloproteinase Colágeno Pró-Peptídeos Tipo I Pró-Peptídeo Pró-Colágeno Tpo II Plasma Pró-Colágeno
Biomarcadores Neuro-hormonais *Função: Etiopatogenia, Diagnóstico, Prognóstico, Risco de IC e Alvo Terapêutico* Norepinefrina Renina Angiotensina II Aldosterona Arginina Vasopressina Endotelina
Biomarcadores de Isquemia de Miócito *Função: Etiopatogenia, Diagnóstico, Prognóstico, Risco de IC e Alvo Terapêutico* Troponina 1 e T CPK-MB Miosina quinase de cadeia leve I
Biomarcadores de Estresse de Miócito *Função: Etiopatogenia, Diagnóstico, Prognóstico, Risco de IC, Acompanhamento e Alvo Terapêutico* BNP NT-pró-BNP ST 2 MR-pró-ADM – Midregional pró-Adrenomedulina
Novos Biomarcadores *Função: Prognóstico e estratificação de risco* Galectina3 Osteoprotegerina Adiponectina Cromogranina Fator 15 de Crescimento

Ref.: Braunwald E. *Biomarkers in heart failure*. N Engl J Med. 2008;358(20):2148-59.

como meros mediadores inflamatórios, pois apresentam papel crucial na piora da função ventricular (30). A ativação das citocinas pró-inflamatórias ocorre precocemente na instalação da IC, analogamente à ativação neuro-hormonal, e a elevação dos níveis séricos dos biomarcadores inflamatórios pode servir como preditores de desfechos na IC (30). (Quadro 2)

Proteína C Reativa na insuficiência cardíaca

O interesse na presença de mediadores inflamatórios em pacientes com IC se iniciou em 1954, quando um ensaio para detectar a presença de PCR tornou-se disponível. Um estudo publicado em 1956 relatou que a PCR era detectável em 30 de 40 pacientes (75%) com ICC, e os que apresentavam quadro clínico mais severo tinham níveis mais elevados de PCR (31). Subsequentemente, a PCR foi descrita em uma fase aguda de IC sintetizada nos hepatócitos em resposta à citocina pró-inflamatória interleucina-6. O uso da PCR como biomarcador tornou-se mais comum com a acessibilidade e a alta sensibilidade do teste (31). Análises multivariadas indicaram que o aumento dos níveis plasmáticos da PCR é fator de predição, independentemente de desfechos adversos em pacientes com IC aguda e crônica (32). O *Framingham Heart Study* demonstrou que a PCR, assim como as citocinas inflamatórias e o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-α) identificavam idosos assintomáticos na comunidade e que apresentavam alto risco para o futuro desenvolvimento de IC (33).

A PCR exerce efeitos adversos no endotélio vascular, reduzindo a liberação do Óxido Nítrico e aumentando a produção de endotelina-1 e induzindo a expressão da adesão das moléculas endoteliais (3).

O estudo pioneiro a avaliar a PCR em 37 pacientes com IC foi publicado em 1990: 26 pacientes (70%) apresentavam níveis elevados (34). Outro estudo avaliou a elevação sérica da PCR em pacientes com IC descompensada, com diagnóstico de miocardiopatia dilatada e idiopática. Esse grupo de pacientes apresentava fração de ejeção menor que 40% e foram acompanhados por cinco anos. Os pacientes que evoluíram a óbito apresentavam níveis séricos de PCR significativamente mais elevados que os sobreviventes (1,05 ± 1,37 mg/dl *versus* 0,49 ± 1,04 mg/dl, p < 0,05) (35). Campbell (36) analisou 20 pacientes saudáveis durante 6 meses e relatou uma considerável variação plasmática inter e intrapessoal da PCR e concluiu que essas alterações podem sofrer influências de condições que escapam a diagnóstico, podendo ocorrer vieses na classificação e estratificação de risco utilizando-se a PCR.

A PCR foi examinada no estudo PRIDE por Rehman (7) *et al.*, que demonstraram a relevância da resposta inflamatória associada ao estiramento do miócito refletido na elevação da concentração plasmática do NT-pró-BNP. A análise dos dados demonstrou alta sensibilidade da Proteína C Reativa como marcador prognóstico independente na IC, e esta ação é potencializada quando associado na análise conjunta com NT-pró-BNP.

O valor das estatinas persiste como tema de debate na terapêutica da IC, particularmente tendo como alvo terapêutico a diminuição da PCR (37). Recentemente, ocorreu a publicação dos resultados do estudo *Controlled Rosuvastat in Multinational Trial in Heart Failure* (CORONA) (37), com 5.011 pacientes com diagnóstico de cardiopatia isquêmica com disfunção de VE. Os pacientes do CORONA foram randomizados em estudo duplo cego; grupo placebo e grupo rosuvastatina na dose de 10 mg/dia acompanhados por 32,8 meses. O desfecho primário foi composto de morte por causas cardiovasculares e IAM não fatal ou AVC não fatal. O CORONA apresentou 692 pacientes no grupo rosuvastatina e 732 no grupo placebo (HR: 0,92; IC: 0,83-1,02 p 0,12). As diferenças entre os desfechos nos dois grupos não foram significativas. É interessante ressaltar que se constatou diminuição significativa nos níveis séricos da PCR durante o acompanhamento do estudo p < 0,001. Essa redução da PCR não expressou melhora clínica e na sobrevida no grupo rosuvastatina. Esses dados subsidiam a discussão se a redução da PCR ainda é um objetivo que vale a pena persistir em pacientes com IC (37).

Quadro 2 – Efeitos Deletérios dos Biomarcadores Inflamatórios na IC.

Conhecidos:	Potenciais:
• Disfunção de VE • Edema Pulmonar • Miocardiopatia • Diminuição do Fluxo Sanguíneo em Músculos Esqueléticos • Disfunção Endotelial • Caquexia e Anorexia.	• Dessensibilização dos receptores da Adenil Ciclase • Ativação de Genes Fetais e • Apoptose dos Cardiomiócitos.

Ref.: Braunwald E. *Biomarkers in heart failure*. N Engl J Med. 2008; 358(20):2148-59.

Fator de Necrose Tumoral na Insuficiência Cardíaca – TNF-α

Em 1990, Levine (38) *et al.* descreveram elevações de TNF-α em pacientes com IC. O TNF-α é considerado protótipo fisiológico das citocinas pró-inflamatórias na IC (38). As citocinas foram descobertas em 1975 por Carswell, que isolou proteínas plasmáticas em ratos infectados por bacilos Calmettte-Guérin e tratados com endotoxina. Essas substâncias mimetizaram as ações de necrose tumoral da própria endotoxina. O TNF-α exerce suas ações por dois distintos receptores, TNFR-1 e TNFR-2. Na superfície celular, o TNFR-1 é expresso em grande quantidade e, aparentemente, exerce o principal papel como receptor. O TNFR-1 media os efeitos citotóxicos e deletérios no cardiomiócito (39). As evidências apontam que o TNFR-2 desempenha um papel de proteção no cardiomiócito (40). Ambos os receptores de TNF-α são

detectados na corrente sanguínea através da sua fórmula solúvel: sTNFR-1 e sTNFR-2 biologicamente ativo na forma de *homotrimer*. Rauchhaus (41), em 2000, demonstrou que o sTNFR-1 era o mais forte e mais acurado marcador inflamatório entre todas as citocinas após ajuste para classe funcional de NYHA, pico de consumo de oxigênio, pico VO_2, índice VE/VO_2, fração de ejeção de VE e presença de caquexia miocárdica. As citocinas pró-inflamatórias foram analisadas em um grande subestudo do *Vesnarinone Trial*. Neste estudo o TNF-α, sTNFR-1 e sTNFR-2, interleucina-6 (IL-6), e a forma solúvel do receptor da interleucina-6 (IL-6R) foram analisados no modelo multivariado, somente o sTNFR-2 permaneceu como preditor de mortalidade (p=0,001). Em pacientes com Insuficiência Cardíaca Sistólica, os níveis de TNF-α encontram-se elevados, e não nos pacientes com insuficiência cardíaca com fração de ejeção preservada (ICFEP), porém, o sTNFR-1, sTNFR-2 e a interleucina-6 (IL-6) encontram-se elevados em ICS e ICFEP, comparado aos indivíduos-controle (42).

A elevação dos níveis plasmáticos de TNF-α exerce papel preditor de mortalidade, a curto e longo prazo na IC, e esta associação foi comprovada em várias coortes de pacientes com fração de ejeção reduzida (43). Os níveis de TNF-α estão correlacionados com a elevação dos níveis séricos de BNP e ANP.

A hipótese do papel das citocinas na etiopatogenia da IC propõe que um evento precipitante, analogamente à lesão isquêmica cardíaca, desencadeie uma resposta inata de estresse endotelial, incluindo a liberação de citocinas pró-inflamatórias. A expressão dessas citocinas está associada com efeitos deletérios da função ventricular e fator de exacerbação das anormalidades hemodinâmicas e exercendo efeitos tóxicos no cardiomiócito, resultando na piora da IC (44). As citocinas pró-inflamatórias estão relacionadas como fator causal de apoptose e necrose de miócitos, a interleucina-6 induz à resposta hipertrófica de miócitos (45), e o TNF-α causa a dilatação do VE, provavelmente por ativação da matriz extracelular e liberação das metaloproteinases. As catecolaminas influenciam a secreção do TNF-α, e esse processo é principalmente devido à dessensibilização dos β-receptores e depende da duração da exposição às catelocaminas (45).

Interleucinas na insuficiência cardíaca

As interleucinas-1, 6 e 18 são consideradas citocinas pró-inflamatórias e são produzidas por células nucleadas cardíacas (30) em paciente com miocardiopatia dilatada e é fator de depressor da contratilidade miocárdica em intensidade diretamente proporcional à elevação dos níveis plasmáticos (46).

A interleucina-1 está envolvida no processo de apoptose do cardiomiócito, hipertrofia celular e arritmogênese, além das propriedades inflamatórias específicas de induzir febre, sono, anorexia e hipotensão (46).

A interleucina-18 (IL-18) pertence à família da interleucina-1 e foi demonstrado estimular especificamente células T-helper, induzir à secreção de TNF-α e interleucina-6 nos macrófagos. Naito (47) demonstrou a significativa elevação dos níveis séricos de IL-18 em uma coorte com IC estável.

Mallat (48) analisou a expressão de IL-18, IL-18 receptor-α e seu inibidor endógeno, e também a proteína de ligação da IL-18 em pacientes com significativa redução da fração de ejeção. Esses marcadores encontravam-se elevados, com exceção da proteína de ligação da IL-18, que estava reduzida em comparação com o grupo controle. A IL-18 induz à expressão atrial do mRNA do Peptídeo Natriurético Atrial (ANP).

As citocinas pró-inflamatórias são produzidas pela secreção de células monucleares, como os monócitos e os macrófagos, este processo ocorre somente em miocárdio lesado, e não em miocárdio saudável, determinando extravasamento das citocinas para a corrente sanguínea (49).

A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina pró-inflamatória liberada em resposta ao estímulo do TNF-α. Os níveis plasmáticos da IL-6 estão elevados em pacientes com IC e influenciam no desenvolvimento da hipertrofia do cardiomiócito, disfunção de VE e caquexia muscular. Os níveis elevados de IL-6 estão associados com pior prognóstico em pacientes com IC (41). Testes de radioimunoensaio para dosagem plasmática da IL-6 estão em crescente disponibilidade.

A elevação dos níveis plasmáticos da Interleucina-6 e TNF-α apresenta papel crescente como preditor de desenvolvimento de IC em pacientes idosos assintomáticos (50); entretanto, o bloqueio do TNF-α não tem resultado em benefício clínico em pacientes com IC, assim como o bloqueio das endotelinas (3). Também a elevação dos níveis séricos da gp130 (receptor glicoproteína transmembrana da IL-6) demonstrou o valor prognóstico de mortalidade dos pacientes com IC (51).

A inflamação é importante na patogênese e evolução da insuficiência cardíaca (IC), e os biomarcadores inflamatórios têm se tornado objeto de intensa pesquisa (30). Um grande número de marcadores inflamatórios tem sido identificado, e este campo de pesquisa está em constante crescimento. As pesquisas evidenciam que as citocinas pró-inflamatórias, particularmente os receptores sTNFR-1 e sTNFR-2, são as mais promissoras no papel de biomarcadores da IC.

Lipopolissacarídeos na Insuficiência Cardíaca – LPS

O lipopolissacarídeo (LPS), também conhecido como endotoxina, é um dos mais fortes indutores da produção do TNF-α e de outras substâncias pró-inflamatórias. Recentemente, os autores demonstraram que mínimas concentrações de LPS têm o poder de induzir a secreção de TNF-α em modelos experimentais com IC (52). Essas

quantidades mínimas de LPS são consideradas similares às grandes elevações plasmáticas que ocorrem *in vivo* em pacientes com ICC descompensada em fase edematosa. Os níveis elevados da LPS têm valor de predição na IC (53).

FAS – APO-1 na Insuficiência Cardíaca

FAS (também denominada de APO-1) é um membro da família de receptores da TNF-α e é expressa em uma grande quantidade de células, incluindo os miócitos. A ativação da FAS pelo *ligand* determina a ativação da apoptose celular e exerce papel determinante no desenvolvimento da IC. Níveis séricos elevados de formas solúveis de FAS têm sido descritos em pacientes com IC, níveis extremamente elevados estão associados a graus severos de IC (54). A inibição de FAS solúvel em estudos experimentais com animais resulta em redução do remodelamento pós-infarto de VE e melhora a sobrevida dos animais do experimento (55). Os esforços para reduzir farmacologicamente os níveis séricos da FAS estão em fase inicial, mas podem representar uma nova diretriz no tratamento e na prevenção da IC, pois essa redução apresenta melhora da função de VE em estudos em pacientes com miocardiopatia isquêmica ou dilatada (56).

O miocárdio hipoperfundido pela redução do débito cardíaco ativa os monócitos a produzir citocinas que atuam piorando a função ventricular. Citocinas produzidas nesse processo são identificadas na corrente sanguínea.

As perspectivas apontam que as mudanças no perfil dos biomarcadores inflamatórios ajudarão na identificação de processos inflamatórios específicos e indicarão a seleção de uma apropriada instituição terapêutica individualizada. Futuros estudos elucidarão a fisiopatologia destas moléculas, principalmente a adesão das moléculas na fase aguda do processo inflamatório.

Pró-Calcitonina Insuficiência Cardíaca (PCT)

A PCT é um precursor da calcitonina, e, principalmente, produzida na célula C da tireoide e em condições normais não é liberada na corrente sanguínea, porém eleva-se rapidamente em resposta a infecções bacterianas ou fúngicas sistêmicas, ou condições associadas à endotoxemia (57). A PCT é usada como marcador inflamatório precoce em casos de septicemia severa ou choque séptico, e a intensidade da elevação dos níveis séricos está associada com a gravidade do quadro. A dosagem do LPS sistêmico, o mais potente indutor da liberação do PCT, pode apresentar translocação nas paredes dos órgãos edemaciados por descompensação de IC. A dosagem de PCT pode ser auxiliar no diagnóstico diferencial de dispneia por IC *versus* dispneia de causas inflamatórias ou infecciosas (58).

P-seletina na Insuficiência Cardíaca

A P-seletina é expressa pela ativação das células endoteliais e é essencialmente envolvida no recrutamento de leucócitos no local da lesão durante o processo inflamatório. Yin (58) *et al.* estudaram pacientes sintomáticos com IC, que apresentaram níveis elevados da P-seletina comparados a um grupo controle. Esse estudo, em um pequeno número de pacientes, evidenciou a P-seletina como um biomarcador inflamatório e fator preditor de eventos adversos em pacientes com IC. Estudos complementares com maior número de pacientes são necessários para confirmar esses achados. A P-seletina se relacionou inversamente com a fração de ejeção com sVCAM-1 e sICAM-1.

Andreassen (59) relatou níveis elevados de P-seletina em uma coorte de pacientes com IC aguardando o transplante cardíaco, os níveis persistiram elevados dois anos após o transplante cardíaco. Os autores acreditaram que essas elevações de P-seletina estivessem relacionadas à elevação sérica da TNF-α, porém não conseguiram correlacionar a elevação de ambos os marcadores inflamatórios.

Molécula Celular de Adesão Vascular na Insuficiência Cardíaca – VCAM-1

A VCAM-1 media adesão de linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos nas células endoteliais. Elevações do VCAM-1 foram relatadas em pacientes com IC comparados a grupo controle saudável. Pacientes com classe funcional IV da NYHA e pacientes aguardando transplante cardíaco apresentavam níveis mais elevados de VCAM-1. Os níveis plasmáticos VCAM-1 diminuíram, porém não normalizaram no acompanhamento tardio pós-transplante (60).

COMENTÁRIO FINAL

As doenças cardiovasculares apresentam um componente fisiopatológico inflamatório intenso na sua evolução, e os marcadores inflamatórios têm demonstrado poder auxiliar na predição de eventos cardiovasculares. Apesar da incorporação à rotina clínica e da validação de alguns biomarcadores estarem em estágios iniciais, apresentam para o futuro um potencial para revolucionar o diagnóstico e a predição de risco e alvo terapêutico, principalmente em pacientes com risco moderado a severo.

REFERÊNCIAS

1. Mangano DT, Goldman L. Preoperative assessment of patients with known or suspected coronary disease. N Engl J Med. 1995;333(26):1750-6.
2. Fleisher LA, Eagle KA. Clinical practice. Lowering cardiac risk in noncardiac surgery. N Engl J Med. 2001;345(23):1677-82.
3. Braunwald E. Biomarkers in heart failure. N Engl J Med. 2008;358(20):2148-59.
4. Lainscak M, von Haehling S, Anker SD. Natriuretic peptides and other biomarkers in chronic heart failure: from BNP, NT-proBNP, and MR-proANP to routine biochemical markers. Int J Cardiol. 2009;132(3):303-11.

5. Melander O, Newton-Cheh C, Almgren P, Hedblad B, Berglund G, Engström G, et al. Novel and conventional biomarkers for prediction of incident cardiovascular events in the community. JAMA.2009;302(1):49-57.
6. Arab S, Gramolini AO, Ping P, Kislinger T, Stanley B, van Eyk J, et al. Cardiovascular proteomics: tools to develop novel biomarkers and potential applications. J Am CollCardiol. 2006;48(9):1733-41.
7. Rehman SU, Martinez-Rumayor A, Mueller T, Januzzi JL Jr. Independent and incremental prognostic value of multimarker testing in acute dyspnea: results from the ProBNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) study. ClinChimActa. 2008;392(1-2):41-5.
8. Blake GJ, Ridker PM. Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction. J Intern Med. 2002;252(4):283-94.
9. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuzzi AG, Pepys MB, *et al*. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. N Engl J Med. 1994;331(7):417-24.
10. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. N Engl J Med. 1997;336(14):973-9.
11. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. Circulation. 2003;107(3):363-9.
12. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. Circulation. 1995;92(3):657-71.
13. Davies MJ. Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture 1995. Circulation. 1996;94(8):2013-20.
14. Weintraub WS, Harrison DG. C-reactive protein, inflammation and atherosclerosis: do we really understand it yet? Eur Heart J. 2000;21(12):958-60.
15. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. Circulation. 2002;105(9):1135-43.
16. Hansson GK, Libby P, Schonbeck U, Yan ZQ. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. Circ Res. 2002;91(4):281-91.
17. Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. Circulation. 2003;108(16):1917-23.
18. Wainwright CL. Matrix metalloproteinases, oxidative stress and the acute response to acute myocardial ischaemia and reperfusion. CurrOpinPharmacol. 2004;4(2):132-8.
19. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. Circulation. 2000;102(18):2165-8.
20. Saadi S, Holzknecht RA, Patte CP, Platt JL. Endothelial cell activation by pore-forming structures: pivotal role for interleukin-1alpha. Circulation. 2000;101(15):1867-73.
21. Koenig W, Pepys MB. C-reactive protein risk prediction: low specificity, high sensitivity. Ann Intern Med. 2002;136(7):550-2.
22. Calabro P, Willerson JT, Yeh ET. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. Circulation. 2003;108(16):1930-2.
23. Calabro P, Chang DW, Willerson JT, Yeh ET. Release of C-reactive protein in response to inflammatory cytokines by human adipocytes: linking obesity to vascular inflammation. J Am CollCardiol. 2005;46(6):1112-3.
24. Ridker PM, Cook N. Clinical usefulness of very high and very low levels of C-reactive protein across the full range of Framingham Risk Scores. Circulation. 2004 109(16):1955-9.
25. Levinson SS, Miller JJ, Elin RJ. Poor predictive value of high-sensitivity C-reactive protein indicates need for reassessment. Clin Chem. 2004;50(10):1733-5.
26. Pepys MB. CRP or not CRP? That is the question. Arterioscler-ThrombVascBiol 2005; 25(6):1091-4.
27. Lloyd-Jones DM, Liu K, Tian L, Greenland P. Narrative review: Assessment of C-reactive protein in risk prediction for cardiovascular disease. Ann Intern Med. 2006;145(1):35-42.
28. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M,et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. Circulation. 2003;107(3):499-511.
29. Omland T, Hagve TA. Natriuretic peptides: physiologic and analytic considerations. Heart Fail Clin. 2009;5(4):471-87.
30. Anker SD, von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. Heart. 2004;90(4):464-70.
31. Elster SK, Braunwald E, Wood HF. A study of C-reactive protein in the serum of patients with congestive heart failure. Am Heart J. 1956;51(4):533-41.
32. Anand IS, Latini R, Florea VG, Kuskowski MA, Rector T, Masson S, et al. C-reactive protein in heart failure: prognostic value and the effect of valsartan. Circulation. 2005;112(10):1428-34.
33. Vasan RS, Sullivan LM, Roubenoff R, Dinarello CA, Harris T, Benjamin EJ, et al. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: the Framingham Heart Study. Circulation. 2003;107(11):1486-91.
34. Pye M, Rae AP, Cobbe SM. Study of serum C-reactive protein concentration in cardiac failure. Br Heart J. 1990;63(4):228-30.
35. Kaneko K, Kanda T, Yamauchi Y, Hasegawa A, Iwasaki T, Arai M, et al. C-Reactive protein in dilated cardiomyopathy. Cardiology. 1999;91(4):215-9.
36. Campbell B, Badrick T, Flatman R, Kanowski D. Limited clinical utility of high-sensitivity plasma C-reactive protein assays. Ann ClinBiochem. 2002;39(Pt 2):85-8.
37. von Haehling S. Statins for heart failure: still caught in no mans land? ClinSci (Lond). 2009;116(1):37-9.
38. Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. N Engl J Med. 1990;323(4):236-41.
39. Beutler B, van Huffel C. Unraveling function in the TNF ligand and receptor families. Science. 1994;264(5159):667-8.
40. Heller RA, Song K, Fan N, Chang DJ. The p70 tumor necrosis factor receptor mediates cytotoxicity. Cell. 1992;70(1):47-56.
41. Rauchhaus M, Doehner W, Francis DP, Davos C, Kemp M, Liebenthal C, et al. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure. Circulation. 2000;102(25):3060-7.
42. Niethammer M, Sieber M, von Haehling S, Anker SD, Munzel T, Horstick G,et al. Inflammatory pathways in patients with heart failure and preserved ejection fraction. Int J Cardiol. 2008;129(1):111-7.
43. Ferrari R, Bachetti T, Confortini R, Opasich C, Febo O, Corti A, et al.Tumor necrosis factor soluble receptors in patients with various degrees of congestive heart failure. Circulation. 1995;92(6):1479-86.
44. Seta Y, Shan K, Bozkurt B, Oral H, Mann DL. Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis. J Card Fail. 1996;2(3):243-9.
45. von Haehling S, Genth-Zotz S, Bolger AP, Kalra PR, Kemp M, Adcock IM, et al. Effect of noradrenaline and isoproterenol on lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha production in whole blood from patients with chronic heart failure and the role of beta-adrenergic receptors. Am J Cardiol. 2005;95(7):885-9.
46. Long CS. The role of interleukin-1 in the failing heart. Heart Fail Rev. 2001;6(2):81-94.
47. Naito Y, Tsujino T, Fujioka Y, Ohyanagi M, Okamura H, Iwasaki T. Increased circulating interleukin-18 in patients with congestive heart failure. Heart. 2002;88(3):296-7.
48. Mallat Z, Heymes C, Corbaz A, Logeart D, Alouani S, Cohen-Solal A, et al. Evidence for altered interleukin 18 (IL)-18 pathway in human heart failure. Faseb J. 2004;18(14):1752-4.
49. Lee DS, Vasan RS. Novel markers for heart failure diagnosis and prognosis. CurrOpinCardiol. 2005;20(3):201-10.
50. Gwechenberger M, Pacher R, Berger R, Zorn G, Moser P, Stanek B, et al. Comparison of soluble glycoprotein 130 and cardiac natriuretic peptides as long-term predictors of heart failure progression. J Heart Lung Transplant. 2005;24(12):2190-5.
51. Genth-Zotz S, von Haehling S, Bolger AP, Kalra PR, Wensel R, Coats AJ, et al. Pathophysiologic quantities of endotoxin-induced tumor necrosis factor-alpha release in whole blood from patients with chronic heart failure. Am J Cardiol. 2002;90(11):1226-30.
52. Niebauer J, Volk HD, Kemp M, Dominguez M, Schumann RR, Rauchhaus M, et al. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. Lancet. 1999;353(9167):1838-42.
53. Okuyama M, Yamaguchi S, Nozaki N, Yamaoka M, Shirakabe M, Tomoike H. Serum levels of soluble form of Fas molecule in patients with congestive heart failure. Am J Cardiol. 1997;79(12):1698-701.

54. Li Y, Takemura G, Kosai K, Takahashi T, Okada H, Miyata S, et al. Critical roles for the Fas/Fas ligand system in postinfarction ventricular remodeling and heart failure. Circ Res. 2004;95(6):627-36.
55. Gullestad L, Aukrust P. Review of trials in chronic heart failure showing broad-spectrum anti-inflammatory approaches. Am J Cardiol. 2005;95(11A):17C-23C.
56. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. Lancet. 1993;341(8844):515-8.
57. Stolz D, Christ-Crain M, Gencay MM, Bingisser R, Huber PR, Müller B, et al. Diagnostic value of signs, symptoms and laboratory values in lower respiratory tract infection. Swiss Med Wkly. 2006;136(27-28):434-40.
58. Yin WH, Chen JW, Jen HL, Chiang MC, Huang WP, Feng AN, et al. The prognostic value of circulating soluble cell adhesion molecules in patients with chronic congestive heart failure. Eur J Heart Fail. 2003;5(4):507-16.
59. Andreassen AK, Nordøy I, Simonsen S, Ueland T, Müller F, Frøland SS, et al. Levels of circulating adhesion molecules in congestive heart failure and after heart transplantation. Am J Cardiol. 1998;81(5):604-8.
60. Tousoulis D, Homaei H, Ahmed N, Asimakopoulos G, Zouridakis E, Toutouzas P,et al. Increased plasma adhesion molecule levels in patients with heart failure who have ischemic heart disease and dilated cardiomyopathy. Am Heart J. 2001;141(2):277-80.

✉ Endereço para correspondência
Juarez N. Barbisan
Av. Princesa Isabel, 395
90.620-000 – Porto Alegre, RS – Brasil
☎ (51) 3230-3600
juarez.pesquisa@gmail.com
Recebido: 24/7/2013 – Aprovado: 30/7/2013