

## Marcadores Inflamatórios e Anticorpos Anti-*Chlamydia* em Pacientes com Síndrome Metabólica

*Inflammatory Markers and Antichlamydial Antibodies in Patients with Metabolic Syndrome*

Rosecler Riethmuller Franco<sup>1</sup>, Luiz Carlos Bodanese<sup>1</sup>, Giuseppe Repetto<sup>1</sup>, Jacqueline da Costa Escobar Piccoli<sup>2</sup>, Mario Wiehe<sup>1</sup>, Cassiane Bonato<sup>1</sup>, Marta Maria Medeiros Frescura Duarte<sup>3</sup>, Thiago Duarte<sup>2</sup>

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul<sup>1</sup>, Porto Alegre, RS; Universidade Federal Santa Maria<sup>2</sup>, Universidade Luterana do Brasil<sup>3</sup>, Santa Maria, RS - Brasil

### Resumo

**Fundamento:** A síndrome metabólica está associada ao aumento de risco de eventos cardiovasculares. Marcadores inflamatórios e anticorpos anti-*Chlamydia* têm sido relacionados ao desenvolvimento e à progressão da aterosclerose e dos eventos cardiovasculares.

**Objetivo:** Avaliar os marcadores inflamatórios interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) e os anticorpos anti-*Chlamydia pneumoniae* em pacientes com síndrome metabólica (SM), com e sem eventos cardiovasculares.

**Métodos:** Estudo transversal constituído por 147 indivíduos. Desses, 100 (68%) com SM e sem eventos cardiovasculares; e 47 (32%) com SM e com eventos cardiovasculares. Dos indivíduos que sofreram eventos cardiovasculares, 13 (6,11%) apresentam infarto agudo do miocárdio (IAM), e dez (4,7%), acidente vascular cerebral (AVC). O diagnóstico da SM foi determinado pelos critérios do NCEP-ATPIII.

**Resultados:** A média de idade dos sujeitos com eventos cardiovasculares foi de  $61,26 \pm 8,5$  e de  $59,32 \pm 9,9$  nos indivíduos sem esses eventos ( $p=0,279$ ), havendo predomínio do sexo feminino. O grupo com SM e sem evento apresentou maior peso, altura, IMC e circunferência abdominal. Para os indivíduos com eventos cardiovasculares ( $p=0,001$ ), os marcadores inflamatórios IL-6 e TNF- $\alpha$  e a doença vascular periférica foram significativamente maiores. Obtiveram-se níveis elevados de anticorpos IgG para *Chlamydia pneumoniae* no grupo SM, sem eventos e de IgA no grupo com eventos quando comparados os dois grupos. Com relação ao IAM e ao AVC, os anticorpos anti-*Chlamydia pneumoniae* não demonstraram significância estatística, comparados ao grupo sem eventos cardiovasculares. Associação foi observada com o uso de estatinas, hipoglicemiantes orais, injetáveis e anti-inflamatórios não esteroidais no grupo com esses eventos.

**Conclusão:** Marcadores inflamatórios encontram-se significativamente elevados em pacientes com SM, com IAM e AVC. Anticorpos anti-*Chlamydia* não mostraram diferença significativa em pacientes com SM, com e sem eventos. (Arq Bras Cardiol 2011; 96(2): 134-139)

**Palavras-chave:** Marcadores biológicos, anticorpos, *Chlamydia*, infecções por *Chlamydia*, síndrome metabólica.

### Abstract

**Background:** The metabolic syndrome is associated with increased risk of cardiovascular events. Inflammatory markers and antichlamydial antibodies have been linked to the development and progression of atherosclerosis and cardiovascular events.

**Objective:** To evaluate the inflammatory markers interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), as well as anti-chlamydia pneumoniae antibodies, in patients with metabolic syndrome (MS), with and without cardiovascular events.

**Methods:** Cross sectional study consisting of 147 individuals. Out of these, 100 (68%) with MS and without cardiovascular events; and 47 (32%) with MS and with cardiovascular events. Among the individuals who had had cardiovascular events, 13 (6.11%) had acute myocardial infarction (AMI) and ten (4.7%) had cerebrovascular accident (CVA). The diagnosis of MS was determined by the criteria of NCEP-ATPIII.

**Results:** The mean age of subjects with cardiovascular events was  $61.26 \pm 8.5$  and  $59.32 \pm 9.9$  in subjects without such events ( $p = 0.279$ ), with a predominance of females. The weight, height, BMI and waist circumference of the group with MS and without event was greater. Among individuals with cardiovascular events ( $p = 0.001$ ), the inflammatory markers IL-6 and TNF- $\alpha$  and the peripheral vascular disease were significantly greater. There were high levels of IgG antibodies to *C. pneumoniae* in the SM group, without events, and of IgA antibodies in the group with events, when the two groups were compared. With respect to AMI and stroke, the anti-chlamydia pneumoniae antibodies showed no statistical significance, compared to the group without cardiovascular events. An association was observed with the use of statins, nonsteroidal anti-inflammatory drugs and injectable, oral hypoglycemic agents, in the group with these events.

**Conclusion:** The inflammatory markers were significantly elevated in patients with MS, with acute myocardial infarction and stroke. There was no significant difference in anti-chlamydial antibodies in patients with MS, with and without events. (Arq Bras Cardiol 2011; 96(2): 134-139)

**Keywords:** Biological markers; antibodies; Chlamydia; Chlamydia infectious; metabolic syndrome.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Rosecler Riethmuller Franco •

Rua Sete de Setembro, 243 Apto. 301 - Centro - 98700-000 - Ijuí, RS - Brasil

E-mail: rosecler.franco@unijui.edu.br

Artigo recebido em 23/02/10; revisado recebido em 16/04/10; aceito em 16/06/10.

## Introdução

As doenças cardiovasculares são as principais causas de morte entre adultos em todo o mundo, principalmente em países em desenvolvimento<sup>1</sup>. A síndrome metabólica (SM) - caracterizada por obesidade central, dislipidemia, hiperglicemia e hipertensão - é considerada uma epidemia mundial, em ascensão nas diversas populações e que resulta em eventos cardiovasculares e em diabetes tipo 2<sup>2</sup>.

A prevalência da SM aumenta com a idade, principalmente acima dos 60 anos, independentemente do sexo. Nos Estados Unidos, esse índice é similar entre homens e mulheres brancas na proporção de 25% após os 20 anos de idade e pode chegar a 43% nos indivíduos com mais de 60 anos<sup>3</sup>. No Brasil, esses índices alcançam cerca de 30% e podem aumentar para 48% acima dos 55 anos<sup>4</sup>.

A presença da SM está significativamente associada ao crescimento da mortalidade cardiovascular, independentemente de alterações na tolerância à glicose. No entanto, a resistência à insulina (RI) está relacionada à disfunção endotelial, constituindo um elo entre a SM e a inflamação<sup>5</sup>. Diante desse processo, ocorre um aumento na circulação de marcadores inflamatórios, o que um estado de inflamação crônica subclínica acompanhada por aumentados níveis da proteína C reativa<sup>5</sup>.

A disfunção endotelial é o evento inicial de inúmeras doenças de natureza inflamatória ou imune, e a aterosclerose é resultante do acúmulo de lipídios, células inflamatórias e elementos fibrosos, que são responsáveis pela formação de placas ou estrias gordurosas que podem ocasionar a própria ruptura<sup>6</sup>.

Agentes infecciosos, como a *Chlamydia pneumoniae*, têm sido vistos como contribuidores para a patogênese na formação da placa aterosclerótica<sup>7,8</sup>. Estudos revelam que esse patógeno microbiano dissemina-se sistematicamente dos pulmões por meio do sangue periférico de células mononucleares. A *Chlamydia pneumoniae* localiza-se nas artérias - em que infectaria células endoteliais, células da musculatura lisa, monócitos e macrófagos - e pode promover o processo inflamatório aterogênico<sup>7</sup>.

Por desconhecer o envolvimento completo desse patógeno com doenças cardíacas, pesquisas buscam elucidar se a formação da lesão deve-se à gravidade do processo infeccioso ou, caso haja uma placa, se esse agente favoreceria o seu desenvolvimento<sup>9</sup>.

O objetivo deste estudo é avaliar os níveis séricos de biomarcadores inflamatórios, interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), bem como dos anticorpos anti-*Chlamydia pneumoniae* em pacientes com síndrome metabólica com e sem eventos cardiovasculares.

## Métodos

O estudo do tipo transversal envolveu pacientes com síndrome metabólica divididos em dois grupos, com e sem eventos cardiovasculares. A população do estudo foi constituída por indivíduos pertencentes ao banco de dados e atendida regularmente no ambulatório cardiometabólico do serviço de cardiologia do Hospital São Lucas da Pontifícia

Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS). Esses participantes foram selecionados de acordo com os critérios do NCEP/ATP III para SM, independentemente de sexo ou de raça, e mediante consentimento informado pelo próprio paciente ou por parente próximo. Sujeitos que aceitaram participar da pesquisa responderam a uma entrevista estruturada por avaliação sociodemográfica, clínica e de histórico familiar. Foram excluídos do estudo sujeitos com as seguintes características: idade inferior a 18 anos, gestantes, obesos mórbidos (IMC  $\geq 40$  kg/m<sup>2</sup>) e todos aqueles que estavam em tratamento para doenças da tireoide, inflamatórias crônicas, reumatismas, hepáticas e neoplásicas. Também foram excluídos os pacientes que não concordaram em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Amostras de sangue dos pacientes que concordaram em participar do estudo foram coletadas após jejum de 12 horas. Essas amostras foram imediatamente centrifugadas para a obtenção de soro e de plasma - estocados em freezer a -80°C para a posterior realização das dosagens laboratoriais. As análises bioquímicas para avaliação do perfil lipídico, anticorpos anti-*chlamydia pneumoniae* IgG e IgA e proteína C reativa ultrasensível (PCR-us) foram realizadas no Laboratório de Imunologia do Hospital São Lucas da PUC-RS. As análises laboratoriais dos marcadores inflamatórios IL-6 e TNF- $\alpha$  foram realizadas pelo Laboratório de Análises Clínicas Labimed de Santa Maria/RS. A concentração de IL-6 e TNF- $\alpha$  foi determinada por ensaio imunoenzimático (ELISA) por meio de kits reagentes imunológicos específicos para humanos, marca eBioscience - Human IL-6 (Interleukin-6) ELISA - [www.ebioscience.com.br](http://www.ebioscience.com.br). A sensibilidade e a curva padrão estabelecida para a IL-6 foram, respectivamente, 2 pg/ml e 2-200 pg/ml, enquanto para o TNF- $\alpha$  a sensibilidade foi de 4 pg/ml e a curva padrão de 4-500 pg/ml. A determinação quantitativa da PCR-us foi executada por meio da utilização do reagente hsCRP VITROS *Chemistry Products* com sensibilidade analítica de 0,02. A detecção de anticorpos humanos de *Chlamydia pneumoniae* IgG/IgA foi realizada por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA), cujos resultados foram obtidos pela absorvância das amostras, avaliadas por espectrofotometria com comprimento de onda de 405 nm. Para a avaliação dos resultados, foram utilizadas a curva padrão e a tabela de valores, com as quais a atividade do anticorpo presente poderia ser atribuída a cada valor OD existente na preparação do teste. Na tabela de avaliação, estava indicado o valor teórico do soro padrão, assim como sua gama de validade. Além disso, o valor médio OD do soro padrão deveria encontrar-se dentro da gama de validade indicada no certificado de controle de qualidade específico para o lote, após a dedução do valor vazio do substrato.

O índice de massa corporal (IMC) foi calculado por meio do índice de Quetelet, dividindo-se o peso (kg) pela altura elevada ao quadrado (m<sup>2</sup>). Foram considerados normais os valores entre 18,5 a 24,9 com baixo risco de comorbidades; entre 25 a 29,9, sobrepeso; de 30,0 a 34,9, obesidade de grau I, com moderado risco de comorbidades; de 35,0 a 39,9, obesidade de grau II, com alto risco de comorbidades; e maior ou igual a 40 kg/m<sup>2</sup>, obesidade de grau III com altíssimo risco de comorbidades. A circunferência abdominal (CA) foi medida com o auxílio de fita métrica (cm), em posição vertical, na

metade da distância entre a crista ilíaca e o rebordo costal inferior, com abdome relaxado.

A análise dos dados obtidos foi realizada utilizando-se o programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) para *Windows*, versão 12.0. Foi utilizado o teste *t* de *Student* para comparar as médias das variáveis entre os indivíduos com SM com e sem eventos cardiovasculares. A comparação dos dados assimétricos de amostras independentes foi feita por meio do teste de *Mann Whitney*. A associação entre as variáveis categóricas foi calculada pelo teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ) ou exato de Fischer. Para verificar a independência das variáveis, foi utilizada a análise de regressão logística pelo método de *Backward Conditional*. Foram calculados *odds ratios* (OR) com intervalo de confiança de 95% (IC95%) para estimar o grau de associação entre categorias de medicamentos utilizados e eventos. As associações das variáveis foram mostradas em tabelas. Todos os testes foram considerados estatisticamente significativos quando  $p < 0,05$ .

O projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUC-RS, Protocolo nº 09/04724. Os participantes do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de acordo com a Resolução nº 196/96 do conselho Nacional de Saúde, que estabelece as normativas envolvendo pesquisa com seres humanos.

## Resultados

A amostra global do estudo foi de 147 indivíduos, dos quais 100 (68%) com SM e sem eventos cardiovasculares, e 47 (32%) com SM e eventos cardiovasculares, em que 13 (6,11%) tiveram IAM, e dez (4,7%), AVC. Do total de participantes, 108 (72,8%) pertenciam ao sexo feminino, e 39 (26,5%) pertenciam ao sexo masculino. A idade média dos sujeitos com eventos foi de  $61,26 \pm 8,5$  e de  $59,32 \pm 9,92$  para os indivíduos sem eventos cardíacos, não havendo diferença estatística entre os grupos ( $p=0,279$ ).

Variáveis como HAS, dislipidemia, intolerância à glicose e tabagismo apresentaram médias mais elevadas no grupo de SM com eventos quando comparados ao grupo de SM sem eventos, sem demonstrar significância estatística. Doença vascular periférica foi a única variável que apresentou diferença estatística entre os grupos. As demais características estão expressas na Tabela 1.

Após ajustes, a análise de regressão logística foi realizada obtendo-se OR para as diferentes classes medicamentosas em conjunto com os grupos de SM com eventos e de SM sem eventos cardíacos. Associação positiva foi observada com o uso de estatinas, hipoglicemiantes orais, injetáveis e anti-inflamatórios não esteroidais no grupo com eventos (Tabela 2), demonstrando que esses pacientes do grupo de SM com eventos são tratados de forma mais efetiva por apresentarem maior risco.

Posteriormente, marcadores inflamatórios e anticorpos anti-*Chlamydia pneumoniae* foram comparados aos grupos de indivíduos que possuíam SM com e sem eventos cardíacos prévios. De acordo com a Tabela 3, os marcadores IL-6 e TNF-alfa apresentaram níveis significativamente maiores

**Tabela 1 - Características gerais dos indivíduos portadores de SM com e sem eventos cardiovasculares**

Variáveis	SM com evento	SM sem evento	p
	n=47	n=97	
Idade (anos)	61,3 ± 8,5	59,3 ± 9,9	0,279
Sexo; n (%)	n=47	n=99	
Feminino n (%)	28 (59,6)	79 (79,8)	0,017
Raça, n (%)	n=38	n=84	
Cor branca	32 (84,2)	65 (77,4)	0,533
Peso (kg)	n=44	n=81	
	79,3 ± 14,5	83,2 ± 16,8	0,206
Altura (m)	n=43	n=78	
	1,58 ± 0,10	1,59 ± 0,08	0,885
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	n=43	n=78	
	31,6 ± 5,5	33,1 ± 6,0	0,163
Circ. abd. (cm)	n=43	n=79	
	104,0 ± 11,2	108,3 ± 15,1	0,106
HAS, n (%)	n=47	n=97	
	43 (91,5)	84 (86,6)	0,564
Dislipidemia, n (%)	35 (74,5)	71 (73,2)	1,00
Intol. glicose, n (%)	20 (42,6)	31 (32,0)	0,289
Tabag. atual, n (%)	3 (6,4)	3 (3,1)	0,392
Tabag. prévio, n (%)	n=47	n=96	
	25 (53,2)	32 (33,3)	0,036
DVP, n (%)	n=47	n=97	
	10 (21,3)	2 (2,1)	< 0,001

SM - síndrome metabólica; n - número amostral; IMC - índice de massa corporal; Circ. abd. - circunferência abdominal; HAS - hipertensão arterial sistêmica; Intol. glicose - intolerância à glicose; Tabag. - tabagismo; DVP - doença vascular periférica.

nos indivíduos com eventos cardíacos ( $p=0,001$ ). Para a presença de anticorpos IgG para *Chlamydia pneumoniae*, observaram-se níveis mais elevados de positividade no grupo controle (63%), enquanto a IgA estava presente no grupo com eventos cardiovasculares (13%). Níveis séricos para PCR-us foram semelhantes entre os grupos e não apresentaram diferenças estatísticas.

Diante da importância em comparar os grupos que apresentavam SM, com e sem eventos cardíacos, foi realizada uma análise entre os marcadores inflamatórios e a positividade para os anticorpos anti-*Chlamydia pneumoniae* IgG e IgA, e entre dois eventos cardiovasculares, o IAM e o AVC, comparando-se com indivíduos portadores de SM sem eventos cardiovasculares (Tabela 4). Um total de 13 sujeitos compõe o grupo dos portadores de SM e IAM. A média de idade desses indivíduos foi de  $56,31 \pm 10,4$  anos, sendo seis (46,2%) do sexo feminino e sete (53,8%) do sexo masculino. Além disso, a média de idade dos indivíduos com SM e AVC foi de  $64,6 \pm 7,6$  anos, sendo sete (70,0%) do sexo feminino, e três (30,0) do sexo masculino.

Tabela 2 - Odds ratio ajustados para o uso de medicamentos nos diferentes grupos

Medicamentos	SM com evento n=97	SM sem evento n=47	OR	IC 95%	p
Diurético, n (%)	32 (68,1%)	72 (74,2%)	1,67	0,63-4,46	0,440
Beta-bloqueador, n (%)	38 (80,9%)	62 (63,9%)	0,57	0,20-1,52	0,039
IECA, n (%)	36 (76,6%)	56 (57,7%)	0,84	0,29-2,41	0,027
BCa, n (%)	8 (27,6%)	21 (21,6%)	0,88	0,27-2,82	0,516
BAT-1, n (%)	3 (6,4%)	9 (9,3%)	2,25	0,37-13,55	0,556
Insulina, n (%)	15 (31,9%)	6 (6,2%)	0,12	0,04-0,38	<0,001
Glibenclâmida, n (%)	17 (36,2%)	17 (17,5%)	0,31	0,13-0,76	0,014
Metformina, n (%)	29 (61,7%)	36 (37,1%)	0,74	0,30-1,87	0,005
AAS, n (%)	36 (76,6%)	46 (47,4%)	0,68	0,26-1,93	<0,001
Sinvastatina, n (%)	39 (83%)	42 (43,3%)	0,19	0,08-0,48	<0,001

IECA - inibidores da enzima conversora da angiotensina; BCa - bloqueadores dos canais de cálcio; BAT-1 - bloqueadores dos receptores AT-1; AAS - ácido acetil salicílico.

Tabela 3 - Comparação entre citocinas inflamatórias e anticorpos anti-*Chlamydia pneumoniae* em indivíduos com SM com e sem eventos cardíacos prévios

Variáveis	SM com evento n=46	SM sem evento n=100	p
IL-6, (pg/ml)	165,0 ± 16,3	106,6 ± 21,3	< 0,001
TNF- $\alpha$ , (pg/ml)	216,4 ± 25,3	135,6 ± 12,1	< 0,001
PCR-us, (mg/l)	0,31 (0,01-2,00)	0,32 (0,03-20,30)	0,339
<i>C. pneumoniae</i> , n (%) IgG			<0,001
Positivo	22 (47,8)	63 (63)	
Limitrofe	14 (30,4)	6 (6,0)	
Negativo	10 (21,7)	31 (31)	
<i>C. pneumoniae</i> , n (%) - IgA			0,307
Positivo	6 (13,0)	6 (6,0)	
Limitrofe	1 (2,2)	5 (5,0)	
Negativo	39 (84,8)	89 (89,0)	

IL-6 - interleucina 6; TNF- $\alpha$  - fator de necrose tumoral- $\alpha$ ; PCR-us - Proteína C reativa ultrasensível; *C. pneumoniae* - *Chlamydia pneumoniae*.

Níveis inflamatórios foram significativamente maiores ( $p=0,001$ ) nos grupos com eventos cardíacos quando comparados ao controle. Marcador de fase aguda (PCR-us), assim como a presença de anticorpos anti-*Chlamydia* IgG e IgA, predominaram nos pacientes com IAM e AVC. No entanto, os resultados não foram estatisticamente significativos entre os grupos de indivíduos.

## Discussão

O presente estudo avaliou um grupo de pacientes que faz parte de uma coorte de um banco de dados de um ambulatório de risco cardiometabólico. Quando comparamos indivíduos portadores de SM, com e sem eventos cardíacos, houve um predomínio de positividade de imunoglobulina da classe G nos sujeitos sem eventos cardiovasculares.

Porém, quando se associam os anticorpos IgG ao IAM e ao AVC, as proporções de positividade foram maiores no grupo com eventos cardíacos, mas sem significância estatística. Provavelmente, isso tenha ocorrido por eventualidade, em virtude do pequeno número de sujeitos com eventos cardíacos presentes na amostra estudada.

Segundo Maia e cols.<sup>10</sup>, a IgG é uma imunoglobulina que tem uma vida média de 20 a 30 dias e é o anticorpo que mais bem expressa a atividade do processo infeccioso, em decorrência de reinfecções prévias. A presença do processo infeccioso poderia estar restrita apenas aos mecanismos de instabilidade da placa, pois o grupo sem eventos poderia envolver um processo aterosclerótico em andamento<sup>10</sup>.

Ustunsoy e cols.<sup>11</sup> avaliaram em seu estudo a soroprevalência de anticorpos IgG em pacientes que foram submetidos à cirurgia para aterosclerose periférica em comparação a pacientes saudáveis. Foram encontrados 60% de soroprevalência de IgG para *Chlamydia pneumoniae* no grupo em estudo e 40% no grupo controle. Resultados semelhantes foram obtidos em nosso estudo quando avaliamos pacientes com IAM (61,5%) e com AVC (60%).

Essa associação também foi encontrada em estudo de soroprevalência realizado com pacientes que apresentavam idade inferior a 45 anos, no sul da Índia, acometidos de derrame agudo isquêmico. Foi encontrada uma positividade de anticorpos IgG para *Chlamydia pneumoniae* de 27,5% e 5% de anticorpos IgA nos mesmos pacientes, sempre comparados a um grupo controle<sup>12</sup>. Em nossa pesquisa, foram encontrados valores bem superiores de anticorpos para os pacientes com AVC em comparação aos pacientes com SM sem evento cardiovascular, não havendo significância estatística. Nosso estudo não avaliou pacientes em fase aguda e não os comparou a um grupo saudável, o que provavelmente dificultou a detecção desses anticorpos e a observação de poder estatístico.

Entretanto, a consideração dos resultados limítrofes encontrados em nosso estudo como positivos possibilitaria a observação de uma maior proporção de IgG em pacientes com evento cardíaco. Optou-se por considerar

**Tabela 4 - Comparação entre marcadores inflamatórios e anticorpos IgG e IgA para *Chlamydia pneumoniae* entre pacientes com SM com IAM, AVC e sem eventos cardiovasculares**

Variáveis	SM com IAM n=13	SM sem evento n=130	p	SM com AVC n=10	SM sem evento n=133	p
IL-6,p (g/ml)	164,08 ± 17,5	121,97 ± 32,4	< 0,001	166,80 ± 16,08	122,71 ± 32,53	< 0,001
TNF, (pg/ml)	208,2 ± 25,8	156,84 ± 40,1	< 0,001	227,10 ± 27,65	156,58 ± 38,34	< 0,001
PCR, (mg/l)	0,34 (0,01-1,06)	0,31 (0,01-20,30)	0,649	0,29 (0,06-1,19)	0,32 (0,01-20,30)	0,704
<i>C. pneumoniae</i> , n (%) IgG			0,417			0,805
Positivo	8 (61,5)	75 (57,7)		6 (60,0)	77 (57,9)	
Limitrofe	3 (23,1)	17 (13,1)		2 (20,0)	18 (13,5)	
Negativo	2 (15,4)	38 (29,2)		2 (20)	38 (28,6)	
<i>C. pneumoniae</i> , n (%) IgA			0,168			0,248
Positivo	3 (23,1)	9 (6,9)		2 (20,0)	10 (7,5)	
Limitrofe	0 (0,0)	6 (4,6)		0 (0,0)	6 (4,5)	
Negativo	10 (76,9)	115 (88,5)		8 (80,0)	117 (88,0)	

estatisticamente esses resultados devido ao pequeno número amostral de pacientes com evento cardiovascular, e a utilização do método laboratorial referido deve-se a sua disponibilidade em nosso hospital.

Além disso, desde a década de 80, a associação entre infecção e aterosclerose tem sido investigada, em que a *Chlamydia pneumoniae* (Cp) é um dos patógenos que apresentava maiores evidências na presença de doença aterosclerótica estável, no IAM e no AVC. Estudo de metanálise que buscava artigos publicados entre janeiro de 1966 e outubro de 2002 observou que a Cp possui associação com aterosclerose por meio de estudos soropidemiológicos e patológicos, em que se mostravam elevados títulos desse agente e evidências de lesão aterosclerótica<sup>13</sup>. No entanto, estudo utilizando azitromicina após implante de *stent* intracoronariano não demonstrou atenuar desfechos angiográficos tardios, mas atenuou os níveis de PCR-us, o que pode indicar um efeito anti-inflamatório<sup>14</sup>.

Em outro momento, Razin e cols.<sup>15</sup> por meio de necropsia, visualizaram uma grande quantidade de células infectadas pela Cp em placas de ateroma, com identificação da presença de outro agente patógeno chamado *Mycoplasma pneumoniae* (Mp), que se caracterizaria como um superantígeno com necessidades de colesterol para sobreviver<sup>15</sup>. A partir desse momento, surge uma hipótese de que a MP funcionaria como um gatilho para a ativação da Cp, ocasionando a instabilidade da placa aterosclerótica<sup>15</sup>.

Pesquisas revelam que proteínas de choque térmico (Hsp) originárias de agentes inflamatórios como a Cp, são consideradas homólogas às Hsp endoteliais de 60 kilodaltons (kDa). Essas participam diretamente da aterogênese ao estimular a migração de células musculares lisas para a camada íntima e ativarem monócitos. Anticorpos cruzados anti-Hsp poderiam acelerar o dano endotelial autoimune<sup>16</sup>. Concentrações de biomarcadores inflamatórios, TNF e IL6, entre os pacientes portadores de SM com e sem eventos cardíacos foram mensurados uma vez. Evidenciou-se um aumento com significância estatística desses níveis,

principalmente quando verificamos seu comportamento diante dos eventos cardiovasculares, em concordância com a literatura. Segundo Volp e cols.<sup>17</sup>, indivíduos com doença cardíaca apresentam níveis elevados de IL-6 e podem apresentar risco relativo de 2,11 para óbito dentro de 24 meses. Nesse contexto, níveis dessa citocina podem prever morbidade em pessoas saudáveis e mortalidade em pessoas que já apresentaram algum evento cardíaco.

Sujeitos com excesso de peso (> 27 kg/m<sup>2</sup>) possuem níveis mais elevados de TNF-alfa em comparação a pessoas com peso normal. Contudo, a TNF-alfa possui correlação com os componentes da SM e pode prever risco de doenças cardiovasculares e infarto, com risco relativo de 3,09 para óbito dentro de 24 meses de acordo com a literatura, embora fosse um marcador independente para IAM<sup>18</sup>.

Nesse estudo, a maioria dos participantes eram obesos, seguidos por pacientes que estavam com sobrepeso, e os marcadores inflamatórios mostraram-se realmente elevados. Quanto ao marcador de fase aguda, níveis séricos de PCR-us mantiveram-se iguais nos dois grupos, sem mostrar significância estatística. A hipótese que justificaria esse resultado deve-se ao fato de esses indivíduos estarem sob rígido tratamento medicamentoso, principalmente com estatinas. Essas agem para melhoria da função endotelial, redução da inflamação vascular, estabilização da placa aterosclerótica, entre outras funções<sup>19</sup>, e constituem-se um fator protetor desses eventos. A eficácia da terapia com estatinas está diretamente relacionada à diminuição dos níveis de colesterol LDL e PCR. Pacientes que sofreram algum tipo de evento normalmente são tratados de forma mais efetiva, com uma diversidade de medicamentos, como visto neste estudo, a fim de controlar e evitar outros eventos. Por outro lado, pacientes que se encontram na faixa de risco são controlados e orientados de forma a prevenir eventos cardíacos futuros.

Estudo realizado por Marcinkowski e cols.<sup>20</sup>, com avaliação de marcadores inflamatórios dez semanas depois do IAM, observou que pacientes com episódios recorrentes tinham aumentos significativos de marcadores inflamatórios, entre

os quais a PCR, nas dez semanas seguintes ao IAM. Porém, pacientes com eventos coronarianos entre o décimo dia e a décima semana não apresentaram aumento desses marcadores, o que pode mostrar que eles são considerados fatores de risco independente para eventos cardiovasculares recorrentes.

Doença vascular periférica e tabagismo prévio também mostraram resultados significativos quando comparados os dois grupos. Infecções por *Chlamydia pneumoniae* são mais comuns em pacientes fumantes do que em não fumantes. Estudo de estimativa de risco relativo realizado na Finlândia para soropositividade de Cp mostrou que fumantes possuem 1,5 vezes mais chances de ter infecção por esse patógeno do que indivíduos que nunca fumaram. Além disso, a presença de título de anticorpos positivos para IgG e IgA é mais comum em fumantes e ex-fumantes do que em não fumantes, independentemente da idade<sup>21</sup>.

## Conclusão

Existe associação entre níveis elevados de marcadores inflamatórios - IL6 e TNF-alfa - à SM, em pacientes com eventos cardiovasculares, comparados aos que não apresentavam

eventos cardiovasculares. A PCR-us não demonstrou ser um marcador de risco para esses eventos.

Por meio da avaliação dos pacientes com SM, com IAM e AVC, verificou-se que não há diferenças estatisticamente significantes nos níveis de anticorpos anti-*Chlamydia pneumoniae* IgG e IgA em relação ao grupo sem eventos cardiovasculares.

## Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

## Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Rosecler Riethmuller Franco pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS.

## Referências

1. James PT, Leach R, Kalamara E, Shayeghi M. The worldwide obesity epidemic. *Obes Res.* 2001; 9 (4): 228-33.
2. Meigs JB. The metabolic syndrome. *BMJ.* 2003; 327 (7406): 61-2.
3. Rigo JC, Vieira JL, Dalacorte RR, Reichert CL. Prevalência de síndrome metabólica em idosos de uma comunidade: comparação entre três métodos diagnósticos. *Arq Bras Cardiol.* 2009; 93 (2): 85-91.
4. Salaroli LB, Barbosa GC, Mill JG, Molina MCB. Prevalência de síndrome metabólica em estudo de base populacional, Vitória, ES – Brasil. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2007; 51 (7): 1143-52.
5. Bahia L, Aguiar LGK, Villela NR, Bittino D, Bouskela E. O endotélio na síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2006; 50 (2): 291-303.
6. Gottlieb MGV, Bonardi G, Moriguchi EH. Fisiologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose. *Scientia Medica* [periódico online]. 2005; 15 (3): 203-7. [Acesso em 2009 out 21]. Disponível em <http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/scientiamedica/article/viewFile/1568/1171>
7. Sess R, Nicoletti M, Di Pietro M, Schiavoni G, Santino I, Zagaglia C, et al. *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis: current state and future perspectives. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2009; 22 (1): 9-14.
8. Watson C, Alp NJ. Role of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerosis. *Clin Sci (Lond).* 2008; 114 (8): 509-31.
9. Stassen FR, Vainas T, Bruggeman CA. Infection and atherosclerosis: an alternative view on an outdated hypothesis. *Pharmacol Rep.* 2008; 60 (1): 85-92.
10. Maia IL, Nicolau JC, Machado MN, Maia LN, Takakura IT, Cordeiro JA, et al. Prevalência de *Chlamydia pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae* em diferentes formas da doença coronariana. *Arq Bras Cardiol.* 2009; 92 (6): 439-45.
11. Ustunsoy H, Sivrikoz C, Sirmatel F, Bakir K, Murma O, Kazaz H. Is *Chlamydia pneumoniae* a risk factor for peripheral atherosclerosis. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 2007; 15 (1): 9-13.
12. Bandaru VC, Boddu DB, Laxmi V, Neeraja M, Kaul S. Seroprevalence of *Chlamydia pneumoniae* in stroke in young. *Can J Neurol Sci.* 2009; 36 (6): 725-30.
13. Kalayoglu MV, Libby P, Byrne GI. *Chlamydia pneumoniae* as an emerging risk factor in cardiovascular disease. *JAMA.* 2002; 288 (21): 2724-31.
14. Ikeoka DT, Vieira CZ, Lemos PA, Strabelli TV, da Silva EE, Perin MA, et al. Azithromycin does not prevent six-month myointimal proliferation but attenuates the transient systemic inflammation occurring after coronary stenting. *Clin Res Cardiol.* 2009; 98 (1): 44-51.
15. Razin S, Yogev D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998; 62 (4): 1094-156.
16. Mayr M, Metzler B, Kiechl S, Willet J, Schett G, Xu Q, et al. Endothelial cytotoxicity mediated by serum antibodies to heat shock proteins of *Escherichia coli* and *Chlamydia pneumoniae*: immune reactions to heat shock proteins as a possible link between infection and atherosclerosis. *Circulation.* 1999; 99 (12): 1560-6.
17. Volp ACP, Alfenas RCG, Costa NMB, Minim VP, Stringueta PC, Bressan J. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em prever a síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2008; 52 (3): 537-49.
18. Barreto-Filho JAS. Síndrome metabólica: um estado pró-trombótico. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo.* 2004; 14 (4): 590-5.
19. Rang HP, Dale MM, Ritte JM, Moore PK. Hormônios locais, inflamação e reações imunológicas. In: Rang HP. *Farmacologia* (tradução). 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2004. p. 272-3.
20. Marcinkowski M, Czarna D, Jastrzebski M, Fedak D, Kawecka-Jaszcz K. Inflammatory markers 10 weeks after myocardial infarction predict future cardiovascular events. *Cardiol J.* 2007; 14 (1): 50-8.
21. Majja L. *Chlamydia pneumoniae* and other risk factors for atherosclerosis. *J Infect Dis.* 2000; 181 (Suppl 3): 414-6.