

# Perspectivas laboratoriais na avaliação da resposta inflamatória

## Perspectives on the laboratory evaluation of the inflammatory response

Letícia Eichstaedt Mayer<sup>I</sup>

Karine Santos De Bona<sup>I</sup>

Faida Husein Abdalla<sup>I</sup>

Fernanda Leiria de Almeida<sup>I</sup>

Rochele Camila Rohde Pozzobon<sup>I</sup>

Mariele Feiffer Charão<sup>II</sup>

Maria Beatriz Moretto<sup>I,II,III</sup>

Rafael Noal Moresco<sup>I,III,\*</sup>

<sup>I</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, Brasil

<sup>II</sup> Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, Brasil

<sup>III</sup> Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, Brasil

**RESUMO** - As respostas do organismo humano frente a insultos de natureza traumática, infecciosa e não infecciosa, ocorrem através da liberação de mediadores inflamatórios. Dentre esses mediadores, acredita-se que os iniciadores dessa resposta são as citocinas, como as interleucinas e o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), o que acaba levando a síntese hepática do principal marcador inflamatório, a proteína C reativa (PCR). A PCR é um importante marcador inflamatório em patologias como aquelas relacionadas às desordens do miocárdio, doenças arteriais, diabetes *melittus* e, até mesmo, na doença obstrutiva crônica. Apesar da especificidade limitada, a PCR é bastante utilizada clinicamente, por tratar-se de um marcador sensível, estável e de fácil dosagem. Durante a resposta inflamatória, os marcadores TNF- $\alpha$  e IL-6 são induzidos juntamente. Ambos podem apresentar tanto efeitos benéficos quanto deletérios para o organismo, dependendo do local e da quantidade em que são produzidos. O TNF- $\alpha$  caracteriza-se por ser uma importante proteína pró-inflamatória com largo espectro de ação. Outros marcadores mais recentes também são revisados nesse artigo, como o CD40 e seus ligantes, relacionados principalmente às doenças cardíacas, o fator de crescimento placentário (PIGF) e as moléculas de adesão (ICAM-1 e VCAM-1).

**Palavras-chave:** Inflamação. Biomarcadores. Laboratório.

**ABSTRACT** - *The inflammatory response of the human body to traumatic, infectious or non-infectious insults occurs through the release of inflammatory mediators. Initiators of this response are cytokines, such as interleukins and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), which leads to the hepatic synthesis of a major inflammatory marker, C reactive protein (CRP). CRP is an important marker for inflammatory diseases, such as those related to disorders of the myocardium, arterial disease, diabetes and chronic obstructive disease. Despite limited specificity, CRP is widely used in the clinic because it is a stable and sensitive marker that is easily dosed. During the inflammatory response, TNF- $\alpha$  and IL-6 are induced together; which may result in beneficial or deleterious effects to the body, depending on the location and quantity in which they are produced. TNF- $\alpha$  is known to be an important pro-inflammatory protein with a broad spectrum of action. Other markers are further reviewed, such as CD40 and their ligands in relation to heart disease, placental growth factor (PIGF) and adhesion molecules (ICAM-1 and VCAM-1).*

**Keywords:** *Inflammation. Biomarkers. Laboratory.*

## INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem sido cada vez maior a compreensão de que o organismo humano responde de modo muito semelhante a insultos de diversas naturezas, traumática, infecciosa ou não-infecciosa, através da liberação de uma cascata de mediadores inflamatórios, que irão determinar uma resposta proporcional à magnitude da agressão. Tal resposta é acompanhada quase simultaneamente pelo desencadeamento de mecanismos contra-reguladores, que, agindo via mediadores antiinflamatórios, normalmente são capazes de manter o processo em equilíbrio (BONE, 1996; BONE *et al.*, 1997; FANNING *et al.*, 1999; PAYEN *et al.*, 2000).

O sistema imunológico apresenta, em sua composição, proteínas responsáveis pela mediação das suas respostas, tornando-as mais eficazes. As citocinas, proteínas reguladoras de baixo peso molecular, são produzidas por diferentes tipos celulares, principalmente macrófagos e monócitos dos sítios inflamatórios. As citocinas agem de maneira autócrina, parácrina e endócrina em resposta a inúmeros estímulos (ABBAS *et al.*, 1994; GABAY, 2006; SALGADO FILHO *et al.*, 2005; SILVEIRA, 2003). Além de agir como mediadores das respostas inflamatória e imune, atuam no crescimento e diferenciação de outras células, podendo exercer mecanismo reguladores positivos ou negativos sobre essas respostas (SALGADO FILHO *et al.*, 2005; SILVEIRA, 2003).

Os padrões de produção de citocinas e de resposta de fase aguda variam em virtude das diferentes condições inflamatórias. Suas alterações refletem a presença e intensidade da inflamação e têm sido muito utilizadas, nesse sentido, como um guia para o diagnóstico clínico e acompanhamento de diversas patologias (GABAY, 2006). Acredita-se que a resposta inflamatória é iniciada quando citocinas inflamatórias, como interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-6 (IL-6) são liberadas a partir de um tecido afetado e induzem a síntese hepática

de proteínas de fase aguda, tais como a proteína C-reativa (PCR) (DINARELLO & PORAT, 2005).

Vários estudos sugerem que o aumento dos níveis plasmáticos de marcadores inflamatórios, como IL-6 e PCR, estão relacionados com a presença da aterosclerose, infarto do miocárdio e aumento da pressão sanguínea (TANAKA *et al.*, 2005; VITALE *et al.*, 2005). Durante a lesão aterosclerótica, as células agredidas expressam e produzem uma série de moléculas, como a molécula de adesão intercelular (ICAM-1) e a molécula de adesão vascular (VCAM-1) que juntamente com outros fatores facilitam a entrada e o recrutamento de neutrófilos para a túnica média dos vasos (SPRINGER & CYBULSKY, 1996).

Diversos são os marcadores associados com a inflamação. Nessa revisão procuramos abranger marcadores tradicionais como a PCR, a IL-6 e o TNF- $\alpha$ , além de marcadores relativamente novos como os da família CD40, fator de crescimento placentário (PIGF) e moléculas de adesão, como ICAM-1 e VCAM-1.

## PROTEÍNA C-REATIVA (PCR)

A PCR é um importante marcador inflamatório. É um polímero não glicosilado, composto por cinco subunidades idênticas. É produzida pelo fígado sob estímulo primário da IL-6 e TNF- $\alpha$  (DENARDI *et al.*, 2008) e possui tempo de meia-vida de 19 horas (TEIXEIRA *et al.*, 2009). Caracteriza-se principalmente por participar da resposta imune inata, na ativação do complemento, modulação da ativação plaquetária e na remoção de restos celulares. A PCR é considerada um bom marcador clínico por apresentar boa estabilidade, sensibilidade, reprodutibilidade e precisão, além de estar em níveis elevados no sangue apenas quando há estímulo para sua produção, como no caso, um processo inflamatório (DENARDI *et al.*, 2008; TEIXEIRA *et al.*,

2009). Aparece aumentada em diversas situações clínicas, dentre elas: doença coronariana, artrite reumatóide, diabetes mellitus, doença pulmonar obstrutiva crônica e outras.

Os métodos mais utilizados para dosagem de PCR são imunoturbidimetria e nefelometria. Ensaios tradicionais não são suficientemente sensíveis para monitorar doenças inflamatórias crônicas e, com isso, foram desenvolvidos métodos com maior sensibilidade analítica (PCR ultrasensível - PCRus) quando comparados à detecção tradicional da PCR (FRANCISCO *et al.*, 2006).

Vários estudos epidemiológicos têm demonstrado que níveis de PCRus têm sido um forte preditor independente de disfunção endotelial, futura disfunção do miocárdio, acidente vascular cerebral, doença arterial e morte vascular em indivíduos sem doença cardiovascular conhecida (PASCERI *et al.*, 2000). Estudos sugerem que a inflamação desempenha um importante papel na patogênese da aterosclerose e síndromes coronarianas agudas. Em virtude de a PCR estar aumentada nos processos inflamatórios, tem sido considerada um importante marcador dessas patologias (DUARTE *et al.*, 2009; PASCERI *et al.*, 2000). Há evidências, também, de que a inflamação é um determinante crítico na estabilidade da placa aterogênica, servindo assim, a PCR, para predizer risco de ruptura da placa (PASCERI *et al.*, 2000).

O infarto agudo do miocárdio (IAM) está sendo associado com extensa resposta inflamatória sistêmica e, com isso, ocorrem aumentos significativos nos níveis de marcadores inflamatórios (TEIXEIRA *et al.*, 2009). Como visto em trabalho de Ridker, a PCR apresentou níveis elevados em pacientes com IAM (RIDKER, 2005). Além disso, mulheres com doença arterial coronariana apresentaram níveis elevados de PCR (MORA *et al.*, 2006). Estudos recentes demonstraram correlação entre os níveis de PCR e o desenvolvimento de insuficiência cardíaca (ROST *et al.*, 2001; TEIXEIRA *et al.*, 2009). Do mesmo modo, a PCR representa uma ferramenta no prognóstico de insuficiência cardíaca. Tal fato é relatado em estudo feito em pacientes com angina estável, os quais apresentaram forte correlação entre os níveis de marcadores inflamatórios, como a PCR, e disfunção do ventrículo esquerdo (ARROYO-ESPLIGUERO *et al.*, 2009).

Por outro lado, muitos estudos têm relatado que a PCR pode estar envolvida no mecanismo da doença inflamatória, tendo assim um efeito pró-inflamatório, estando implicada na patogênese da dilatação e remodelamento do ventrículo esquerdo. Isto porque ela reforça diretamente a expressão e síntese de óxido nítrico (NO) e óxido nítrico sintase em miócitos cardíacos, que podem exercer inotropismo negativo e efeitos tóxicos sobre essas células. A PCR também está implicada na estimulação da produção de IL-6 e TNF- $\alpha$  pelos monócitos e essa produção aumentada serve como um mecanismo para contínua produção de PCR pelo fígado (ARROYO-ESPLIGUERO *et al.*, 2009) (Fig. 1A). Tal efeito

pró-inflamatório também é relatado por outros autores, sendo que estudos realizados *in vitro* demonstraram que células endoteliais incubadas com PCR aumentaram a expressão de moléculas de adesão como VCAM, ICAM e selectina-E (PASCERI *et al.*, 2000; VERMA *et al.*, 2002) sugerindo então, que a PCR pode contribuir para o desenvolvimento da aterosclerose (PASCERI *et al.*, 2000). Um estudo recente também evidenciou o aumento na secreção de endotelina-1 e IL-6 em células endoteliais incubadas com PCR, além de demonstrar que a PCR promove a secreção de proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) e a captação de colesterol pelos macrófagos (VERMA *et al.*, 2002) (Fig. 1B).

Estudos demonstraram que a PCR pode ser responsável pelo aumento da ligação da lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDL-ox) a macrófagos/monócitos, reforçando a idéia do envolvimento da PCR no processo aterosclerótico. Em trabalho realizado em pacientes com hipercolesterolemia foram relatadas correlações positivas entre a PCR-us e LDL-ox, anticorpos LDL-ox, triglicérides e albumina modificada pela isquemia (IMA), sugerindo que a hipercolesterolemia está associada com o aumento desses parâmetros e marcadores inflamatórios como a PCR (DUARTE *et al.*, 2009). A obesidade também mostrou aumentar os níveis de PCR, sendo que a adiposidade estimula sua produção pelo fígado (PAIVA *et al.*, 2006).

Vários dados experimentais sugerem que a inflamação desempenha importante papel na patogênese do diabetes mellitus tipo 2, assim a PCR estaria envolvida também nessa patologia. Pradhan e colaboradores, em estudo prospectivo envolvendo mulheres que foram acompanhadas durante um período de quatro anos e que não tinham diagnóstico de diabetes tipo 2, relataram que dois marcadores de inflamação, IL-6 e PCR, estão associados com a hiperglicemia e a resistência à insulina (PRADHAN *et al.*, 2001). Também foi encontrado que o risco relativo de desenvolver diabetes mellitus tipo 2 foi maior naquelas mulheres que apresentaram elevados níveis de IL-6 e PCR quando comparadas àquelas que apresentaram níveis menores destes marcadores (PRADHAN *et al.*, 2001).

Há relatos também de que muitas das manifestações clínicas desenvolvidas na doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) são mediadas pelo aumento de proteínas inflamatórias (KOLSUM *et al.*, 2009). A DPOC é uma doença respiratória, caracterizada por um processo inflamatório nos brônquios e parênquima pulmonar, com isso há evidências de que há aumento nos níveis séricos de marcadores inflamatórios. Piehl-Aulin e colaboradores observaram aumento nos níveis de PCR, IL-6 e TNF- $\alpha$  com o agravamento da DPOC estável (PIEHL-AULIN *et al.*, 2009).

Em resumo, a PCR por ser um marcador inflamatório de fácil dosagem, sensível, estável e confiável como indicador de processo inflamatório sistêmico e é bastante utilizada

cl clinicamente. Entretanto, seu uso como marcador específico de alguma patologia apresenta um papel limitado, uma vez que a PCR está envolvida na gênese do processo inflamatório, independentemente da doença.

## INTERLEUCINA-6 (IL-6)

A interleucina-6 (IL-6) é uma citocina de resposta aguda nos processos inflamatórios. É induzida juntamente com o TNF- $\alpha$  e IL-1 e age estimulando células T e B, induzindo proteínas de fase aguda nos hepatócitos. Também é liberada por linfócitos T e B ativados, fibroblastos, monócitos, macrófagos e células endoteliais (CHIBANTE *et al.*, 2007; VAN WAGONER & BENVENISTE, 1999). Possui a capacidade de estimular a produção hepática de PCR, assim como regular a expressão de outras citocinas inflamatórias, como IL-1 e TNF- $\alpha$  (CASELLA FILHO *et al.*, 2003).

A IL-6 participa não apenas de reações de fase aguda, controlando a extensão da resposta inflamatória no tecido, mas também no desenvolvimento de respostas imunes humoral e celular, incluindo a fase final de diferenciação das células B, secreção de imunoglobulina e ativação de células T. A IL-6 é muito importante para a transição entre a fase aguda e a inflamação crônica, além de agir nas respostas dirigidas contra as re-infeções (GABAY, 2006).

O aumento dos níveis séricos de IL-6 fornece a base para a ampliação da fase inflamatória crônica. Em doenças auto-imunes, a IL-6 não só mantém a inflamação, mas também modifica a resposta imunológica (GABAY, 2006; ISHIHARA & HIRANO, 2002). Na sepse neonatal, importante causa de mortalidade e morbidade entre os recém nascidos devido à imaturidade imunológica, a dosagem da IL-6 permite um diagnóstico mais precoce, auxiliando na decisão médica de iniciar ou não o tratamento antimicrobiano frente a um recém nascido com suspeita de sepse (CALDAS *et al.*, 2008).

Desde que foram encontradas quantidades elevadas de IL-6 no líquido sinovial de pacientes com artrite reumatóide (AR), várias evidências sugerem o envolvimento da IL-6 em doenças auto-imunes, doenças inflamatórias crônicas proliferativas, e neoplasias de células B, incluindo o lúpus eritematoso sistêmico (ISHIHARA & HIRANO, 2002). Além disso, níveis séricos de IL-6 estão aumentados em doenças como, artrite sistêmica idiopática juvenil, espondilite anquilosante, psoríase e doença de Crohn (GABAY, 2006; ISHIHARA & HIRANO, 2002).

A expressão local de IL-6 pode estimular o recrutamento de leucócitos, promover a maturação e ativação osteoclástica, suprimir condrócitos e estimular a proliferação sinovial, culminando na lesão articular (FLANNERY *et al.*, 2000; LIPSKY, 2008). Estudos focando o tratamento da

AR vem pesquisando novos medicamentos que agem como anticorpos monoclonais inibindo o receptor da IL-6 e, por conseqüência, retardando a progressão dessa lesão articular (NISHIMOTO, 2009). Na artrite idiopática juvenil, os pacientes que apresentam níveis elevados de IL-6 têm o seu crescimento comprometido (SOUZA, 2008).

O envolvimento da IL-6 no diabetes tipo I é sugerido já que a expressão elevada da IL-6 induz a diferenciação da célula B, a qual pode ser importante no desenvolvimento de doença auto-imune (ISHIHARA & HIRANO, 2002). Além disso, a redução de peso em associação com exercício reduz IL-6 e TNF- $\alpha$ , além de estar associada com a melhora na sensibilidade à insulina e função endotelial. No diabetes tipo II as concentrações plasmáticas de IL-6 também se mostram elevadas (CARVALHO *et al.*, 2006).

A expressão e regulação da IL-6 no sistema nervoso central (SNC), particularmente em astrócitos, tem sido estudada e muitas pesquisas sugerem que fatores pró-inflamatórios podem ter papel central na expressão de IL-6 durante doenças no SNC. Além disso, essa interleucina exerce múltiplos efeitos, tanto benéficos quanto destrutivos, sobre as células deste local (VAN WAGONER & BENVENISTE, 1999). Nas lesões isquêmicas do SNC os estudos experimentais são conflitantes quanto ao papel neuroprotetor ou neurotóxico da IL-6. Cita-se, por exemplo, que concentrações elevadas de IL-6 são tóxicas em culturas de neurônios. Já em outro estudo, a injeção intracerebral de IL-6 reduziu o volume da lesão pós isquemia (SILVEIRA, 2003).

A obesidade tem sido associada com uma ativação crônica da resposta de fase aguda. Este estado inflamatório parece ser devido à ação de duas principais citocinas pró-inflamatórias, IL-6 e TNF- $\alpha$ . A gordura visceral é conhecida como um importante local de secreção de IL-6 em humanos. Pacientes com síndrome metabólica apresentaram níveis superiores de IL-6 que pacientes obesos sem síndrome metabólica, embora essas diferenças não tenham sido significativas estatisticamente (SOLÁ *et al.*, 2008).

Segundo CHIBANTE e cols., essa citocina demonstrou atividade anti-inflamatória nos derrames pleurais pós-revascularização do miocárdio (CHIBANTE *et al.*, 2007) já em outros estudos a IL-6, participa da instabilidade coronariana e tem papel no quadro de ruptura ou erosão da placa de aterosclerose (RAMOS *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2008). É possível que a IL-6 reproduza os fatores de risco cardiovascular de um modo semelhante ao da PCR e seus níveis aumentem com a idade; idosos com doença cardiovascular e níveis elevados de IL-6 apresentaram um risco quatro vezes maior de morte. Cita-se também que a IL-6 foi melhor preditor de mortalidade do que a PCR entre os idosos, e níveis de IL-6  $\geq 3,19$   $\mu\text{g/dL}$  foram associados com um risco duas vezes maior de morte (RAMOS *et al.*, 2008). Os níveis de IL-6 estão aumentados principalmente em

situações como infarto do miocárdio, angina instável e mesmo em intervenções percutâneas coronarianas, sendo por isto considerado como bom marcador inflamatório de aterosclerose (CASELLA FILHO *et al.*, 2003).

Outro estudo interessante avaliou o papel da IL-6 na replicação do Vírus da Hepatite B (HBV), verificando que essa citocina foi capaz de reprimir eficazmente a replicação e evitar o acúmulo de círculos de DNA fechados por ligação covalente (cccDNA) de HBV em uma linhagem celular humana com carcinoma hepatocelular (KUO *et al.*, 2009).

Nesse contexto, nota-se que a IL-6 é uma citocina envolvida nas mais variadas patologias, podendo apresentar papel benéfico ou não, dependendo do local e da quantidade em que é produzida. Além disso, é um marcador inflamatório que pode ser usado tanto na predição de doenças futuras como na avaliação de patologias já instaladas.

## **FATOR DE NECROSE TUMORAL-ALFA (TNF- $\alpha$ )**

O TNF- $\alpha$  foi descoberto em 1975 por Carswell e cols., sendo considerado uma das principais citocinas relacionadas aos processos inflamatórios e imunes, agindo em diferentes partes do organismo. É secretado por macrófagos, linfócitos e monócitos, sendo a presença de lipopolissacarídeos (LPS) bacterianos o principal estímulo para que isto ocorra (CARSWELL *et al.*, 1975; SASTRY *et al.*, 1999). Após ser produzido e liberado, o TNF- $\alpha$  irá ligar-se a receptores específicos denominados de receptores de TNF (p 55 e p 75 TNFR) encontrados em diferentes células para produzir seu efeito biológico, incluindo: leucócitos, células dendríticas, células endoteliais vasculares e mesenquimais (MCDONNELL *et al.*, 2001).

O principal efeito fisiológico do TNF- $\alpha$  é promover a resposta imune e a inflamatória por meio do recrutamento de neutrófilos e monócitos para o local da infecção, além de ativá-los. Para isto, o TNF- $\alpha$  provocará uma série de efeitos no organismo. Em baixas concentrações, age nas células endoteliais promovendo vasodilatação e estimulando-as a secretarem um grupo de citocinas que têm ação quimiotática em relação aos leucócitos, promovendo, desta forma, um processo inflamatório local que possibilita o combate a quadros infecciosos. No hipotálamo age como pirógeno endógeno induzindo febre, enquanto que no fígado vai estimular a produção das proteínas de fase aguda do processo inflamatório e de fibrinogênio (ABBAS *et al.*, 1994).

O TNF- $\alpha$  pode ocasionar, também, uma série de complicações, como diversos tipos de artropatias e artrites, ou ainda, ter efeitos negativos relacionados à menor contratilidade do miocárdio, redução da perfusão tissular, relaxamento da musculatura vascular, diminuição da pressão sanguínea e aumento do risco de coagulação intravascular disseminada.

Estes fatores devem-se, principalmente, à produção em excessivas quantidades de TNF- $\alpha$  e, conseqüentemente, maior liberação, em excesso, de toda a cascata inflamatória, processo este que acarreta todo um ciclo em cascata extremamente citotóxico (PIETRO *et al.*, 2004).

Vários marcadores inflamatórios foram estudados como preditores de eventos cardiovasculares, entre eles o TNF- $\alpha$ . Seus níveis estariam associados a eventos recorrentes coronarianos em pacientes após infarto agudo do miocárdio (IAM) (RIDKER *et al.*, 2000) por depressão direta da contratilidade e pela indução de apoptose do miócito. Além disso, estudos relatam que o TNF- $\alpha$  reage com várias células do sistema imune, influenciando na produção e secreção de outras citocinas, sendo citotóxico para as células  $\beta$  pancreáticas, tendo por isso papel na patogênese do diabetes mellitus tipo 1 (HUSSAIN *et al.*, 1996; MY'SLIWSKA *et al.*, 1995).

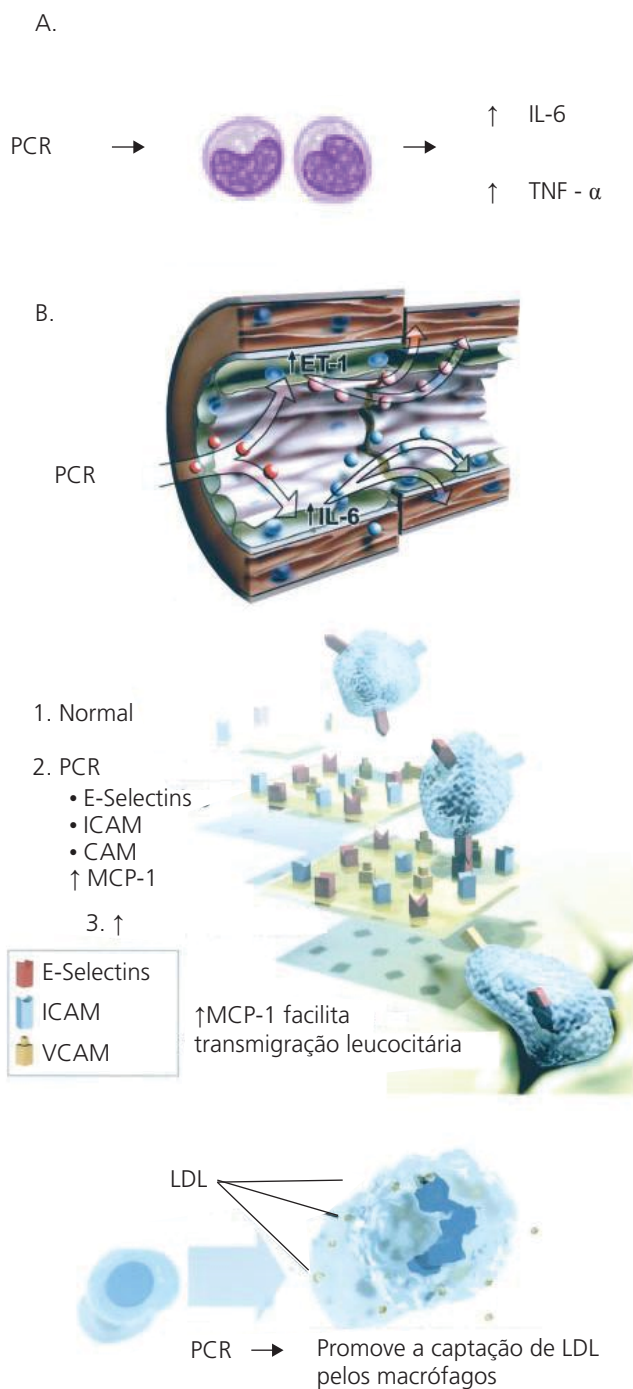
O TNF- $\alpha$  está também envolvido na associação da hipertensão e dislipidemia com a obesidade e resistência à insulina (RECASENS *et al.*, 2004). Estimula a lipólise e inibe a lipase lipoprotéica, aumentando os ácidos graxos livres no plasma e causando resistência a insulina (MAEDA *et al.*, 2001). No tecido adiposo ele inibe a produção de adiponectina e estimula a produção de IL-6, o que também contribui para esta resistência (LAIMER *et al.*, 2002). Estudos demonstram que pacientes obesos apresentam níveis de TNF- $\alpha$  maiores quando comparados ao grupo controle, o que sugere que a obesidade está associada com um aumento dos níveis plasmáticos dessa citocina (SOLÁ *et al.*, 2008).

Recentemente, agentes biológicos têm sido utilizados no arsenal terapêutico das doenças auto-imunes. Na Artrite Idiopática Juvenil (AIJ) refratária, os inibidores de fator de necrose tumoral alfa parecem promissores (SCHNEIDER & PASSO, 2002), já que o TNF é uma citocina pró-inflamatória com papel relevante na patogênese da artrite reumatóide (DAYER *et al.*, 1985; SÁEZ-LLORENS *et al.*, 1991) e da AIJ (EBERHARD *et al.*, 1994; MANGGE *et al.*, 1995). O TNF está elevado no líquido sinovial e no soro de crianças com AIJ e seu valor sérico está relacionado com o grau de atividade de doença (MANGGE *et al.*, 1995).

Portanto, na atualidade, o TNF- $\alpha$  é reconhecido como uma importante citocina pró-inflamatória com largo espectro de ação e os efeitos biológicos mediados por esta citocina podem ser benéficos ou deletérios para o corpo, dependendo da quantidade produzida e duração de exposição na célula (MARTINS E SILVA, 1991).

## **CD 40 E SEUS LIGANTES**

Inicialmente identificado em linfócitos B, o CD40 é um receptor protéico de membrana pertencente à família do TNF (ANDRÉ *et al.*, 2002(a); ANDRÉ *et al.*, 2002(b); INWALD *et al.*, 2003;



**Figura 1.** (A) PCR estimula monócitos, aumentando a produção de IL-6 e TNF- $\alpha$ . (B) PCR interage com células endoteliais para estimular a produção de IL-6 e endotelina. Além disso, a PCR facilita a adesão plaquetária (estimula VCAM, ICAM e selectina-E) e a transmigração leucocitária pelo estímulo da MCP-1. Finalmente, a PCR promove a captação de LDL pelos macrófagos. Adaptado de VERMA *et al.* (2002).

PHIPPS, 2000). Seu ligante, CD40L, também da família do TNF, é uma proteína transmembranar que foi inicialmente descoberta em células do sistema imunológico (ANDRÉ *et al.*, 2002(a); ANDRÉ *et al.*, 2002(b); WAGNER, 2005). Tanto CD40 como CD40L foram identificados em macrófagos, células endoteliais,

células da musculatura lisa vascular, fibroblastos e, mais notavelmente, em plaquetas (ANDRÉ *et al.*, 2002(a); ANDRÉ *et al.*, 2002(b); HENN *et al.*, 1998; HENN *et al.*, 2001; WAGNER, 2005). Quando as plaquetas são ativadas, CD40L se move de dentro da célula para a superfície (ANDRÉ *et al.*, 2002(a); ANDRÉ *et al.*, 2002(b); INWALD *et al.*, 2003; WAGNER, 2005). O CD40L expresso na membrana da célula pode então ser clivado, produzindo um fragmento trimérico solúvel conhecido como ligante solúvel CD40 (sCD40L) (ANDRÉ *et al.*, 2002(a); ANDRÉ *et al.*, 2002(b); INWALD *et al.*, 2003).

Vários autores associam o CD40L ao início das respostas inflamatórias, incluindo a expressão de receptores de adesão e fator tecidual (TF), assim como a liberação de citocinas e quimiocinas (ANDRÉ *et al.*, 2002(a); ANDRÉ *et al.*, 2002(b); HEESCHEN *et al.*, 2003; SCHÖNBECK *et al.*, 2000). O CD40L também desempenha um papel na trombose pela indução da expressão de TF em células endoteliais e monócitos, operando como um ativador plaquetário e estabilizador de trombo arterial (ANDRÉ *et al.*, 2002(a); ANDRÉ *et al.*, 2002(b); INWALD *et al.*, 2003). Notavelmente, estas funções não são mediadas exclusivamente pela interação CD40-CD40L, uma vez que receptores de integrina também foram encontrados ligados ao CD40L (ANDRÉ *et al.*, 2002(a); ANDRÉ *et al.*, 2002(b); LÉVEILLÉ *et al.*, 2007).

Dado o envolvimento na inflamação e trombose, não é surpresa que CD40L tenha sido implicado na fisiopatologia de muitas doenças auto-imunes e inflamatórias crônicas. Níveis aumentados de sCD40L têm sido encontrados em adultos com síndrome coronariana aguda e são fortemente associados com um risco aumentado de desenvolver eventos cardiovasculares em homens saudáveis (AUKRUST *et al.*, 2004; SCHÖNBECK *et al.*, 2000). O sCD40L tem sido também encontrado em níveis elevados em pessoas com hipercolesterolemia, diabetes, anemia falciforme (LEE *et al.*, 2006), lúpus eritematoso sistêmico (KATO *et al.*, 1999), artrite reumatóide e alguns tipos de hipertensão arterial pulmonar e câncer (DAMAS *et al.*, 2004; ROSELLI *et al.*, 2004). Anticorpo monoclonal contra CD40L tem sido usado no tratamento imunossupressor em modelos de transplante em animais, onde a administração deste anticorpo atrasa a rejeição, e tem efeito sinérgico com outros tipos de medicação imunossupressora (SKOV *et al.*, 2000; YU *et al.*, 2001). Medicamentos e anticorpos que bloqueiam a interação CD40-CD40L estão sendo amplamente pesquisados e podem se tornar uma nova opção terapêutica para o tratamento de doenças auto-imunes e cardiovasculares. Diversas evidências sugerem que o ligante CD40 possui um papel fundamental na progressão da aterosclerose, estando diretamente relacionado à desestabilização da placa aterosclerótica. Estudos estão sendo desenvolvidos para a possível aplicação do CD40L como um novo e confiável marcador de inúmeras doenças, especialmente nas doenças cardíacas (HEESCHEN *et al.*, 2003; PHIPPS, 2000).

## FATOR DE CRESCIMENTO PLACENTÁRIO (PIGF)

O PIGF é um membro da família do fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) que foi identificado pela primeira vez na placenta, mas também é conhecido por estar presente no coração, pulmão e nas articulações (YOO *et al.*, 2008). Igualmente ao VEGF, o PIGF é uma glicoproteína homodimérica pertencente à superfamília de fatores de crescimento, cujos membros caracterizam-se por apresentar oito cisteínas espacialmente conservadas, que estão envolvidos na formação intra e intermolecular de pontes dissulfeto (GREEN *et al.*, 2001; LUTTUN *et al.*, 2004). Muitos tipos de células produzem PIGF, incluindo as células endoteliais, células musculares lisas, células inflamatórias, células hematopoéticas, queratinócitos, células da medula óssea, neurônios, especialmente quando as mesmas são ativadas (CAO, 2009; LUTTUN *et al.*, 2004).

O PIGF também é conhecido como um fator angiogênico, desempenhando um papel importante no estímulo do crescimento vascular, tanto em condições fisiológicas, tais como desenvolvimento embrionário e cicatrização de feridas, como em condições patológicas, tais como crescimento de tumores e inflamação. Exerce seus efeitos biológicos através de alta afinidade aos seus receptores VEGFR-1 e VEGFR-2 (HU *et al.*, 2009). Ele possui propriedades angiogênicas potentes, induz o crescimento e a migração de células endoteliais, estimula a produção do fator tecidual, a quimiotaxia em monócitos, e também elevação de TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8 e MCP-1, o que sugere que o PIGF modula diretamente o processo inflamatório. Encontra-se elevado na artrite reumatóide pela indução da produção de VEGF nas células mononucleares (GREEN *et al.*, 2001).

Durante o período gestacional ocorre um aumento fisiológico da angiogênese para que ocorra o fenômeno da placentação. Alterações no balanço entre fatores pró-angiogênicos e anti-angiogênicos parecem estar envolvidos na patogênese da pré-eclâmpsia. O PIGF é um interruptor patológico na angiogênese e estimula a vascularização no crescimento tumoral, afetando vários tipos de células vasculares (células endoteliais, células musculares lisas e células progenitoras endoteliais) ou células não-vasculares (células tronco ou progenitoras hematopoéticas, células inflamatórias e células tumorais). O PIGF modula a função endotelial por sinergismo com o VEGF e pode contribuir para a mobilização das células progenitoras endoteliais indiretamente por regulação de VEGF (LUTTUN *et al.*, 2004). Além disso, o PIGF parece estar envolvido na patogênese da doença renal isquêmica e outras doenças isquêmicas da retina (GREEN *et al.*, 2001).

## MOLÉCULAS DE ADESÃO (ICAM-1 E VCAM-1)

O endotélio exerce um papel importante na inflamação, principalmente na regulação da permeabilidade vascular para

macromoléculas e leucócitos, no tônus vascular, na homeostasia e na produção de mediadores inflamatórios. Durante a ativação do endotélio estimulada por uma série de substâncias, há um aumento na expressão de moléculas de adesão pelos leucócitos (TSIOTOU *et al.*, 2005).

A molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e a molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) são dois membros da superfamília das imunoglobulinas que possuem um papel importante, mas diferente, na adesão de células sanguíneas ao endotélio vascular (POSTADZHIYAN *et al.*, 2008). São expressas principalmente pelas células endoteliais que participam da adesão celular como contra-receptores de algumas integrinas dos leucócitos. São também expressas em células alvos para linfócitos T ativados (HUNSCHE, 2001).

A ICAM-1 é expressa na superfície de vários tipos celulares, incluindo leucócitos e células endoteliais. No endotélio vascular, a ICAM-1 está presente em níveis baixos sob condições normais e a sua expressão é dramaticamente estimulada após ativação das células endoteliais pelo TNF- $\alpha$ , interleucina-1, interferon-gama e endotoxina, tendo seu pico aproximadamente 1-2 horas após exposição a essas substâncias e permanecem assim por mais de 24 horas. No endotélio, a ICAM-1 tem um importante papel na migração dos leucócitos aos sítios de inflamação, permitindo a adesão e a diapedese dos leucócitos via interação com seus ligantes (HUNSCHE, 2001).

Seth e cols. (1991) foram os primeiros a demonstrar a presença da ICAM-1 no soro humano, através do uso de método de identificação imunológica que utiliza eletroforese em gel (SETH *et al.*, 1991). No mesmo ano, Rothlein e cols. confirmaram este achado por meio da utilização do método de ensaio enzimático imunoabsorvente quantitativo (ELISA) (ROTHLEIN *et al.*, 1991). Os níveis de ICAM-1 estão elevados na inflamação, infecção e no câncer, bem como em pacientes infectados pelo HIV (ROTHLEIN *et al.*, 1991).

Durante a exposição aos agentes pró-inflamatórios, a VCAM-1 torna-se proeminentemente expressa pelas células endoteliais. Sua expressão é induzida pela IL-1 $\beta$ , IL-4, TNF- $\sigma$  e endotoxina, sustentando a adesão dos linfócitos, monócitos e eosinófilos através da ligação com seu contra-receptor, a integrina  $\sigma 4\beta 1$ . Estudos prévios (GALKINA & LEY, 2007; RAY *et al.*, 2006) sugerem a sua ligação com a iniciação do processo de aterosclerose. Seus níveis estão elevados no soro de pacientes com câncer e com doenças inflamatórias, bem como em pacientes apresentando rejeição a transplantes cardíacos (HUNSCHE, 2001).

As moléculas de adesão exercem papéis no recrutamento e captura dos leucócitos e podem estar associadas com a ativação endotelial ou com dano na síndrome coronariana aguda (GALKINA & LEY, 2007; RAY *et al.*, 2006). Estudos demonstraram que estes biomarcadores podem ser bons candidatos para a estratificação de risco durante a fase de inflamação vascular

da síndrome coronariana aguda (APPLE *et al.*, 2005; RAY *et al.*, 2006;). Além disso, a concentração elevada de VCAM-1, juntamente com a presença de angina instável ou infarto do miocárdio, é um preditor de eventos isquêmicos futuros. Estes achados fortalecem a evidência de que um processo inflamatório é um ponto crítico na patogênese das síndromes coronarianas e sugerem que a intensa resposta inflamatória pode influenciar na recuperação dos pacientes com estas síndromes (POSTADZHIYAN *et al.*, 2008). Níveis elevados das moléculas de adesão também são encontrados na retinopatia diabética (CLAUSEN *et al.*, 2000; OLSON *et al.*, 2007). Alguns autores reportaram que este aumento exerce um papel importante nas complicações macrovasculares (JUDE *et al.*, 2002; MATSUMOTO *et al.*, 2002) e microvasculares do diabetes (CLAUSEN *et al.*, 2000; MATSUMOTO *et al.*, 2002; OLSON *et al.*, 2007).

A análise das moléculas de adesão possui muitas limitações metodológicas. Elas são instáveis, a menos que sejam congeladas. Além disso, pouco se sabe sobre a sua depuração

(BLANN & LIP, 2000; GEARING & NEWMANN, 1993) e mais evidências são necessárias antes que estes marcadores inflamatórios sejam adotados como rotina na prática clínica.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista que a resposta inflamatória desencadeia a liberação de uma cascata de mediadores, os estudos clínicos têm mostrado níveis elevados de diversos marcadores inflamatórios nas mais variadas patologias. A PCR é um marcador de alta sensibilidade, considerado de escolha na prática clínica para avaliação da resposta inflamatória. Entretanto, outros marcadores como IL-6, TNF- $\alpha$ , marcadores da família do CD40, PIGF, ICAM e VCAM têm sido demonstrados como promissores marcadores inflamatórios. No entanto, novos estudos prospectivos que avaliem os aspectos laboratoriais e clínicos relacionados a estes marcadores ainda são necessários para a implantação dos mesmos na rotina laboratorial.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. & POBER, J.S. *Cellular and molecular immunology*. 2 ed. Philadelphia: W.B.Saunders Company, 1994.
- ANDRÉ, P.; NANNIZZI-ALAIMO, L.; PRASAD, S.K.; *et al.* Platelet-derived CD40L. The switch-hitting player of cardiovascular disease. *Circulation*. 106(1): 896-899, 2002. (a)
- ANDRÉ, P.; PRASAD, S.K.; DENIS, C.V.; *et al.* CD40L stabilizes arterial thrombi by a  $\beta 3$  integrin-dependent mechanism. *Nat. Med.* 8(1): 247-252, 2002. (b)
- APPLE, F. S.; WU, A.H.B.; MAIR, J.; *et al.* Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin. Chem.* 51(5): 810-824, 2005.
- ARROYO-ESPLIGUERO, R.; AVANZAS, P.; QUILES, J.; *et al.* C-reactive protein predicts functional status correlates with left ventricular ejection fraction in patients with chronic stable angina. *Atherosclerosis*. 205(1): 319-324, 2009.
- AUKRUST, P.; DAMAS, J.K.; SOLUM, N.O. Soluble CD40 ligand and platelets: self-perpetuating pathogenic loop in thrombosis and inflammation? *J. Am. Coll. Cardiol.* 43(12): 2326-2328, 2004.
- BLANN, A. D. & LIP, G. Y. H. Cell adhesion molecules in cardiovascular disease – what can soluble levels tell us? *J. Clin. Endocr. Metab.* 85(5): 1745-1747, 2000.
- BONE, R.C. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation. *Crit. Care Med.* 24(1): 163-172, 1996.
- BONE, R.C; GRODZIN, C.J.; BALK, R.A. Sepsis: A new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest*. 112(1): 235-243, 1997.
- CALDAS, J. P.S. ; MARBA, S.T.M. ; BLOTTA, M.H.S.L. *et al.* Accuracy of white blood cell count, C-reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha for diagnosing late neonatal sepsis. *J. Pediatr.* 84(6): 536-542, 2008.
- CAO Y. Positive and Negative Modulation of Angiogenesis by VEGFR1 Ligands. *Sci. Signal.* 2(59), 2009.
- CARSWELL, E. A.; OLD, L.J.; KASSEL, R.L.; *et al.* An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 72(9): 3666-3670, 1975.



- CARVALHO, M.H.C.; COLAÇO, A.L.; FORTES, Z.B. Citocinas, Disfunção Endotelial e Resistência à Insulina. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* 50(2): 304-312, 2006.
- CASELLA FILHO, A.; ARAÚJO, R.G.; GALVÃO, T.G. et al. Inflamação e Aterosclerose: Integração de Novas Teorias e Valorização dos Novos Marcadores. *Rev. Bras. Cardiol. Invas.* 11(3): 14-19, 2003.
- CHIBANTE, A.M.S.; VAZ, M.C.; VARGAS, F.S. Comportamento anti-inflamatório da IL-6 nos derrames pleurais pós-revascularização do miocárdio. *Rev. Port. Pneumol.* XIII(3): 319-334, 2007.
- CLAUSEN, P.; JACOBSEN, P.; ROSSING, K.; et al. Plasma concentrations of VCAM-1 and ICAM-1 are elevated in patients with type 1 mellitus with microalbuminuria and overt nephropathy. *Diabet. Med.* 17(9): 644-649, 2000.
- DAMAS, J. K. ; OTTERDAL, K. ; YNDESTAD, A. ; et al. Soluble CD40 ligand in pulmonary arterial hypertension. Possible pathogenic role of the interaction between platelets and endothelial cells. *Circulation.* 110(1): 999-1005, 2004.
- DAYER, J.M.; BEUTLER, B.; CERAMI, A. Cachectin/tumor necrosis factor stimulates collagenase and prostaglandin E<sub>2</sub> production by human synovial cells and dermal fibroblasts. *J. Exp. Med.* 162(1): 2163-2168, 1985.
- DENARDI, C.A.S.; CASELLA FILHO, A.; CHAGAS, A.C.P. A proteína C-reativa na atualidade. *Rev. SOCERJ.* 21(5): 329-334, 2008.
- DINARELLO, C.A. & PORAT, R. A resposta de fase aguda. In: GOLDMAN, L. & AUSIELLO, D. (Ed.). *Tratado de Medicina Interna.* 22. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. p. 2022-2024.
- DUARTE, M.M.M.F.; ROCHA, J.B.T.; MORESCO, R.N.; et al. Association between ischemia-modified albumin, lipids and inflammation biomarkers in patients with hypercholesterolemia. *Clin Chem.* 42(7-8): 666-671, 2009.
- EBERHARD, B. A.; LAXER, R.M.; ANDERSSON, U.; et al. Local synthesis of both macrophage and T cells cytokines by sinovial fluid cells from children with juvenile rheumatoid arthritis. *Clin. Exper. Immunol.* 96 (1): 260-266, 1994.
- FANNING, N.F.; KELL, M.R.; SHORTEN, G.D.; et al. Circulating granulocyte macrophage colony-stimulating factor in plasma of patients with the systemic inflammatory response syndrome delays neutrophil apoptosis through inhibition of spontaneous reactive oxygen species generation. *Shock.* 11(3): 167-174, 1999.
- FLANNERY, C.R.; LITTLE, C.B.; HUGHES, C.E.; et al. IL-6 and its soluble receptor augment aggrecanase-mediated proteoglycan catabolism in articular cartilage. *Matrix Biol.* 19(6): 549-553, 2000.
- FRANCISCO, G.; HERNÁNDEZ, C.; SIMÓ, R. Serum markers of vascular inflammation in dyslipemia. *Clin. Chim. Acta.* 369(1): 1-16, 2006.
- GABAY, C. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Res. Ther.* 8(Suppl2): 1-6, 2006.
- GALKINA, E. & LEY, K. Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.* 27(1): 2292-2301, 2007.
- GEARING, A. J. & NEWMANN, W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol. Today.* 14(10): 506-512, 1993.
- GREEN, C.J.; LICHTLEN, P.; HUYNH, N.T.; et al. Placenta Growth Factor Gene Expression Is Induced by Hypoxia in Fibroblasts: A Central Role for Metal Transcription Factor-1. *Cancer Res.* 61(1): 2696-2703, 2001.
- HEESCHEN, C.; DIMMELER, S.; HAMM, C.W.; et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N. Engl. J. Med.* 348(12): 1104-1111, 2003.
- HENN, V.; SLUPSKY, J.R.; GRÄFE, M.; et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature.* 391(1): 591-594, 1998.
- HENN, V.; STEINBACH, S.; BÜCHNER, K.; et al. The inflammatory action of CD40 ligand (CD154) expressed on activated human platelets is temporally limited by coexpression CD40. *Blood.* 98(4): 1047-1054, 2001.

- HU, H.Q.; SUN, Y.N.; LUO, S.P.; et al. Generation of a Mouse Monoclonal Antibody Recognizing Both the Native and Denatured Forms of Human VEGF. *Hybridoma*. 28(1): 51-57, 2009.
- HUNSCHE, A. Perfil plasmático da ICAM-1 e da VCAM-1 no pós-operatório cardíaco de lactentes submetidos à circulação extracorpórea. 2001. 138p. Tese (mestrado em Medicina) - Programa de Pós-Graduação em Medicina: Pediatria e Ciências Aplicadas a Pediatria da UFRGS, Porto Alegre.
- HUSSAIN, M. J.; PEAKMAN, M.; GALLATI, H.; et al. Elevated serum levels of macrophage-derived cytokines precede and accompany the onset of IDDM. *Diabetologia*. 39(1): 60-69, 1996.
- INWALD, D.P.; MCDOWALL, A.; PETERS, M.J.; et al. CD40 is constitutively expressed on platelets and provides a novel mechanism for platelet activation. *Circ. Res.* 92(1): 1041-1048, 2003.
- ISHIHARA, K. & HIRANO, T. IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. *Cytokine Growth F. R.* 13(4-5): 357-368, 2002.
- JUDE, E. B.; DOUGLAS, J.T.; ANDERSON, S.G.; et al. Circulating cellular adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, P-and E-selectin in the prediction of cardiovascular disease in diabetes mellitus. *Eur. J. Intern. Med.* 13(3): 185-189, 2002.
- KATO, K.; SANTANA-SAHAGÚN, E.; RASSENTI, L.Z.; et al. The soluble Cd40 ligand sCD154 in systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.* 104(7) :947-945, 1999.
- KOLSUM, U.; ROY, K.; STARKEY, C.; et al. The repeatability of interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, and C-reactive protein in COPD patients over one year. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* 4(1): 149-156, 2009.
- KUO, T.M.; HU, C.P.; CHEN, Y.L. et al. HBV replication is significantly reduced by IL-6. *J. Biomed. Sci.* 16(1): 41, 2009.
- LAIMER, M.; EBENBICHLER, C.F.; KASER, S.; et al. Markers of chronic inflammation and obesity: a prospective study on the reversibility of this association in middle-aged women undergoing weight loss by surgical intervention. *Int. J. Obesity*. 26(1): 659-662, 2002.
- LEE, S. P.; ATAGA, K.I.; ORRINGER, E.P.; et al. Biologically active CD40 ligand is elevated in sickle cell Anemia. Potential role for platelet-mediated inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 26(1): 1626-1631, 2006.
- LÉVEILLÉ, C.; BOUILLON, M.; GUO, W.; et al. CD40 ligand binds to  $\alpha 5\beta 1$  integrin and triggers cell signaling. *J. Biol. Chem.* 282(8): 5143-5151, 2007.
- LIPSKY, P. E. Interleukin-6 and rheumatic diseases. *Arthritis Res. Ther.* 8(suppl2): 1-5, 2008.
- LUTTUN A.; AUTIERO, M.; TJWA, M.; et al. Genetic dissection of tumor angiogenesis: are PIGF and VEGFR-1 novel anti-cancer targets? *BBA-Rev. Cancer*. 1654(1): 79- 94, 2004.
- MAEDA, N.; TAKAHASHI, M.; FUNAHASHI, T.; et al. PPAR $\gamma$  ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes*. 50(1): 2094-2099, 2001.
- MANGGE, H.; KENZIAN, H.; GALLISTL, S.; et al. Serum cytokines in juvenile rheumatoid arthritis. Correlation with conventional inflammation parameters and clinical subtypes. *Arthritis Rheum.* 38 (2): 211-220, 1995.
- MARTINS E SILVA J. Biochemical characterization and metabolic effects of tumor necrosis factor. *Acta Med. Port.* 4(suppl 1): 20S-27S, 1991.
- MATSUMOTO, K.; SERA, Y.; UEKI, Y.; et al. Comparison of serum concentrations of soluble adhesion molecules in diabetes microangiopathy and macroangiopathy. *Diabet. Med.* 19(10): 822-826, 2002.
- MCDONNELL, N.D.; ABBOTT, N.N.; MOHLER, K.M.; et al. TNF Antagonism. In: HANSELL, T.T.; BARNER, P.J. *New Drugs for Asthma Allergy and COPD*. Prog Respir Res. Basel: Karger. 247-250, 2001.

- MORA, S.; RIFAI, N.; BURING, J.E.; et al. Additive value of immunoassay-measured fibrinogen and high sensitivity C-reactive protein levels for predicting incident cardiovascular events. *Circulation*. 114(1): 381-387, 2006.
- MYSLIWSKA, J.; SKURATOWICZ-KUBICA, A.; ZORENA, K.; et al. Hypothetical relationship between the presence of TNF alpha in the sera of insulin-dependent diabetes mellitus type I patients and control of the disease. *Horm. Metab. Res.* 27(5): 255-257, 1995.
- NISHIMOTO N. IL-6 targeting therapy to retard structural joint damage in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Calcium*. 19(3): 425-31, 2009.
- OLSON, J. A.; WHITELAW, C.M.; MCHARDY, M.C.; et al. Soluble leucocyte adhesion molecules in diabetic retinopathy stimulate retinal capillary endothelial cell migration. *Diabetologia*. 40(10): 1166-1171, 1997.
- PAIVA, M.S.; OLIVEIRA, I.R.; OLIVEIRA, L.A.R.R.; et al. Proteína c reativa como marcador prognóstico pós-intervenção coronária percutânea. *Rev. Bras. Cardiol. Invas.* 14(1): 71-75, 2006.
- PASCERI, V.; WILLERSON, J.T.; YEH, E.T.H. Direct proinflammatory effect of C-Reactive Protein on human endothelial cells. *Circulation*. 102(1): 2165-2168, 2000.
- PAYEN, D.; FAIVRE, V.; LUKASZEWICZ, A.C.; et al. Assessment of immunological status in the critically ill. *Minerva Anesthesiol.* 66(5): 351-357, 2000.
- PHIPPS, R.P. Atherosclerosis: The emerging role of inflammation and the CD40-CD40 ligand system. *PNAS*. 97 (13): 6930-6932, 2000.
- PIEHL-AULIN, K.; JONES, I. ; LINDVALL, B.; et al. Increased serum inflammatory markers in the absence of clinical and skeletal muscle inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 78(2): 191-196, 2009.
- PIETRO, A.; JONDEE, M.; MUÑOZ, L.; et al. Citocinas. Servicio de Enfermedades Del Sistema Inmune y Oncología. Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Universidad de Alcalá, Chile, 2004. [on line]
- POSTADZHIYAN, A. S.; TZONTCHEVA, A.V.; KEHAYOV, I.; et al. Circulating soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and their association with clinical outcome, troponin T and C-reactive protein in patients with acute coronary syndromes. *Clin. Biochem.* 41(3): 126-133, 2008.
- PRADHAN, A.D.; MANSON, J.E.; RIFAI, N.; et al. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA – J. Am. Med. Assoc.* 286(3): 327-334, 2001.
- RAMOS, A.M.; PELLANDA, L.C.; GUS, I. et al. Marcadores Inflamatórios da Doença Cardiovascular em Idosos. *Arq. Bras. Cardiol.* 92(3): 233-240, 2008.
- RAY, K. K.; MORROW, D.A.; SHUI, A.; et al. Relationship between soluble intercellular adhesion molecule-1, statin therapy, and long-term risk of clinical cardiovascular events in patients with previous acute coronary syndrome (from PROVE IT-TIMI 22). *Am. J. Cardiol.* 98(1): 861-865, 2006.
- RECASENS, M.; RICART, W. FERNÁNDEZ-REAL, J.M. Obesity and Inflammation. *Rev Med Univ Navarra*. 48(2): 49-54, 2004.
- RIDKER, P.M. C-reactive protein, inflammation, and cardiovascular disease: clinical update. *Tex. Heart Inst. J.* 32(3): 384-386, 2005.
- RIDKER, P.M.; RIFAI, N.; PFEFFER, M.; et al. Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation*. 101(1): 2149-2153, 2000.
- ROSELLI M.; MINEO, T.C.; BASILI, S.; et al. Soluble CD40 ligand plasma levels in lung cancer. *Clin. Cancer Res.* 10(1): 610-614, 2004.
- ROST, N.S.; WOLF, P.A.; KASE, C.S.; et al. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack. The Framingham Study. *Stroke*. 32(1): 2575-2579, 2001.

- ROTHLEIN, R.; MAINOLFI, E.A.; CZAJKOWSKI, M.; et al. A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J. Immunol.* 147(11): 3788-3793, 1991.
- SÁEZ-LLORENS, X.; JAFARI, H.S.; OLSEN, K.D.; et al. Induction of suppurative arthritis in rabbits by *Haemophilus* endotoxin, tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta. *J. Infec. Dis.* 163(6): 1267-1272, 1991.
- SALGADO FILHO, W.; MARTINEZ FILHO, E.; HORTA, P.; et al. Marcadores Inflamatórios Intracoronarianos após Intervenções Coronarianas Percutâneas. *Arq. Bras. de Cardiol.* 85(3): 180-185, 2005.
- SASTRY, K.V.; SHARMA, S.C.; MANN, S.B.; et al. Aural cholesteatom: role of tumor necrosis factor-alpha in bone destruction. *Am. J. Otol.* 20(2): 158-161, 1999.
- SCHNEIDER, R. & PASSO, M. H. Juvenile rheumatoid arthritis. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 28(3): 503-530, 2002.
- SCHÖNBECK, U.; MACH, F.; SUKHOVA, G.K.; et al. CD40 ligation induces tissue factor expression in human vascular smooth muscle cells. *Am. J. Pathol.* 156 (1):7-14, 2000.
- SETH, R.; RAYMOND, F.D.; MAKGOBA, M.W. Circulating ICAM-1 isoforms: diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders. *Lancet.* 338(8759): 83-84, 1991.
- SILVEIRA, R.C. Níveis plasmáticos e liquóricos de IL-6 e TNF- $\alpha$  em recém-nascidos a termo com encefalopatia hipóxico-isquêmica. 2003. 128p. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação de Ciências Médicas: Pediatria. Porto Alegre.
- SKOV, S.; BONYHADI, M.; ODUM, N.; et al. IL-2 and IL-15 regulate CD154 expression on activated CD4 T cells. *J. Immunol.* 164(1): 3500-3505, 2000.
- SOLÁ, E.; JOVER, A.; LÓPEZ-RUIZ, A. et al. Parameters of Inflammation in Morbid Obesity: Lack of Effect of Moderate Weight Loss. *Obes Surg.* Published online, 2008.
- SOUZA, J.R.M.; OLIVEIRA, R.T.; BLOTTA, M.H.S.L. et al. Níveis Séricos de Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-18 (IL-18) e Proteína C Reativa (PCR) na Síndrome Coronariana Aguda sem Supradesnívelamento do ST em Pacientes com Diabetes Tipo 2. *Arq. Bras. Cardiol.* 90(2): 94-99, 2008.
- SOUZA, L. S. Velocidade de crescimento e níveis de interleucina-6 na artrite idiopática juvenil. 2008. 74p. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas. Porto Alegre.
- SPRINGER, T.A.; CYBULSKY, M.I. Traffic signals on endothelium for leukocytes in health inflammation, and atherosclerosis. In: Fuster, V., Ross, R., Topol, E.J., eds. *Atherosclerosis and coronary artery disease.* Vol.1. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996: 511-538.
- TANAKA, C.; MANNAMI, T.; KAMIDE, K.; et al. Single nucleotide polymorphisms in the interleukin-6 gene associated with blood pressure and atherosclerosis in a Japanese general population. *Hypertens Res.* 28(1): 35-41, 2005.
- TEIXEIRA, D.A.; SOUSA, C.F.P.; PEREIRA, G.L.H.; et al. Proteína C-reativa: associação entre inflamação e complicações pós-infarto agudo do miocárdio em idosos. *Rev. Bras. Clin. Med.* 7(1): 24-26, 2009.
- TSIOTOU, A. G.; SAKORAFAS, G.H.; ANAGNASTOPOULOS, G.; et al. Septic shock; current pathogenetic concepts from a clinical perspective. *Med. Sci. Monit.* 11(3): 76-85, 2005.
- VAN WAGONER, N.J. & BENVENISTE, E. N. Interleukin-6 expression and regulation in astrocytes. *J. Neuroimmunol.* 100: 124-139, 1999.
- VERMA, S.; LI, S.H.; BADIWALA, M.V.; et al. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein. *Circulation,* 105(1): 1890-1896, 2002.
- VITALE, C.; GEBARA, O.; MERCURO, G.; et al. Value of C-reactive protein levels and IL-6 in predicting events levels in women at increased cardiovascular risk. *Maturitas,* 50(4): 239-246, 2005.

WAGNER, D.D. **New links between inflammation and thrombosis.** *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25(1): 1321-1324, 2005.

YOO, S.A; KWOK, S.K; KIM, W.U. **Proinflammatory Role of Vascular Endothelial Growth Factor in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis: Prospects for Therapeutic Intervention.** *Hindawi Publishing Corporation. Mediators of Inflammation.* 1-6, 2008.

YU, X.; CARPENTER, P.; ANASETTI, C. **Advances in transplantation tolerance.** *Lancet.* 357(9272): 1959-1963, 2001.

---

Recebido em: 24/06/2009

Revisado em: 26/06/2009, 11/08/2009, 11/05/2010 e  
31/05/2010

Aceito em: 29/11/2010

**Correspondência:**

Prof. Dr. Rafael Noal Moresco  
Universidade Federal de Santa Maria,  
Centro de Ciências da Saúde,  
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas,  
Avenida Roraima 1000, Prédio 26, Sala 1216,  
Camobi, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil.  
Telefone: (55) 32208941; Fax: (55) 32208018  
E-mail: rnmoresco@yahoo.com.br