

Biomarcadores de Inflamação Crônica Subclínica: uma Revisão Integrativa da Literatura

Filipe Nogueira Franco^{a*}

^a Departamento de Bioquímica e Imunologia, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha, Belo Horizonte - MG, 31270-901.

***Autor correspondente:** Filipe Nogueira franco, Mestre em Biotecnologia, Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha, Belo Horizonte - MG, 31270-901, Email: filipenogueirafranco@gmail.com

Data de submissão:05-01-2023

Data de aceite: 23-02-2022

Data de publicação: 04-07-2023



10.55811/editoraintegrar/livros/3756



RESUMO

Introdução: O estado de Inflamação Crônica Subclínica é caracterizado por elevações em marcadores inflamatórios. Esse estado é produzido basicamente por mecanismos moleculares da imunidade inata. **Métodos:** Para a elaboração da presente revisão integrativa foi realizada a seleção de artigos científicos na base de dados PUBMED, buscando-se quais os principais biomarcadores desse tipo de inflamação, quais as relações com o surgimento e prognóstico com outras doenças e quais os métodos analíticos mais utilizados. **Resultados:** Foram analisados 21 artigos, sendo os principais biomarcadores de Inflamação Crônica Subclínica encontrados foram: Fator de Necrose Tumoral, Interleucina-6, Óxido Nítrico, Lipoproteína A e Fosfolipase A2. O principal ensaio utilizado para quantificação é o ensaio imunoenzimático ELISA - altamente específico e sensível que permite a detecção de anticorpos específicos para certo antígeno. Dentre as principais complicações de uma alta concentração desses biomarcadores destacam-se as doenças cardiovasculares, desordens metabólicas e doenças neurodegenerativas, muitas delas associadas também ao processo de envelhecimento. **Conclusões:** O presente estudo buscou compreender melhor esse tipo de inflamação, mostrando as suas principais características. Foi realizado o levantamento de algumas moléculas que se mostram com níveis alterados no sangue, assim como o padrão-ouro para a quantificação. Com isso, espera-se que o estudo auxilie na melhor conduta clínica para que esse tipo de inflamação seja diagnosticada de forma precoce e precisa.

Palavras-chaves: Inflamação, Assintomática, Citocinas, ELISA.

1 INTRODUÇÃO

A Inflamação Crônica Subclínica (ICS) é definida como uma elevação de citocinas inflamatórias no soro devido à falha em resolver a inflamação aguda, estresse oxidativo ou mau funcionamento metabólico, observado, por exemplo, durante o processo de envelhecimento. Esse tipo de inflamação foi recentemente considerado um papel fundamental na destruição patológica dos tecidos, que subsequentemente leva a doenças crônicas comuns. Dentre essas doenças estão as doenças cardiovasculares, câncer, artrite reumatóide, diabetes tipo 2 e doenças neurodegenerativas (RANNEH et al., 2017).

O estado de Inflamação Crônica Subclínica é caracterizado por elevações em marcadores inflamatórios. Esse estado é produzido basicamente por mecanismos moleculares da imunidade inata, um sistema redundante e dinâmico, filogeneticamente muito antigo (CHEN et al., 2018). Em nível intracelular, a imunidade inata é regulada por sistemas de sinalização pró-inflamatória, como aqueles que envolvem a via de sinalização do NF- κ B, a proteína ativadora 1 (AP-1) e sistemas de sinalização anti-inflamatória correspondentes baseados em fatores nucleares, como o receptor do ativador de proliferação de peroxissomos gama (PPAR- γ). Fora da célula, citocinas pró-inflamatórias, como o Fator de Necrose Tumoral (TNF) e a Interleucina-6, transmitem os sinais inflamatórios. Esse sistema pró-inflamatório pode ter início nos primeiros anos de vida e aumentar de forma dependente da idade (HORIGUCHI et al., 2018).

Aa prevalência de doenças crônicas tem um enorme ônus econômico e fisiológico para a sociedade e para os pacientes. Ao mesmo tempo, as modalidades anti-inflamatórias clássicas (por exemplo, anticorpos monoclonais anti-TNF) permanecem ineficazes na cura daqueles que sofrem de doenças sistêmicas, crônicas e relacionadas à inflamação. Porém, existem diversos biomarcadores desse tipo de inflamação, que podem ser diagnosticados e quantificados através do soro do paciente. Alguns deles já são encontrados em laboratórios clínicos, como o próprio TNF, IL-6, IL-10 e a Lipoproteína A (RANNEH et al., 2019).

É importante destacar que antes de desenvolver tratamentos para aliviar e prevenir as consequências da ICS é preciso um diagnóstico precoce e específico. Portanto, o objetivo deste estudo é buscar descrever através da literatura publicada biomarcadores específicos da inflamação crônica subclínica, que se diferencia de uma inflamação aguda, assim como analisar quais as principais metodologias de análise empregadas para a quantificação desses biomarcadores.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo consiste em uma revisão narrativa. Para isso, as seguintes etapas foram realizadas: estabelecimento da hipótese e objetivos da presente revisão; estabelecimento de critérios de inclusão de artigos, definição das informações a serem

extraídas dos artigos selecionados e análise dos resultados e discussão. Para a seleção dos artigos foi utilizada as plataformas Google acadêmico e PUBMED.

Para guiar a revisão integrativa, formulou-se a seguinte questão: Quais são os principais biomarcadores da ICS e quais as relações com o surgimento e prognóstico com outras doenças?

Os critérios de inclusão dos artigos para a presente revisão integrativa foram: artigos publicados em português, espanhol ou inglês, com os resumos disponíveis na base de dados selecionada, artigos publicados a partir dos anos 2000, revisões narrativas ou sistemáticas de múltiplos ensaios clínicos randomizados controlados, ensaios clínicos randomizados controlados individuais, ou estudos com delineamento de pesquisa experimental. Os artigos foram selecionados com base no título e resumo (que contemplassem o tema “Inflamação Crônica Subclínica” e citassem biomarcadores e quais os seus métodos de dosagem laboratorial).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na presente revisão integrativa foram analisados 21 artigos. Para melhor descrição, a seguir serão mostrados os principais biomarcadores de Inflamação Crônica Subclínica, as principais metodologias utilizadas para a sua quantificação e a importância destes no surgimento e prognóstico de doenças.

O primeiro biomarcador que merece destaque é o Fator de Necrose Tumoral (TNF). Trata-se de uma citocina central nas reações inflamatórias, e os efeitos biológicos que o neutralizam estão entre as drogas de maior sucesso no tratamento de patologias inflamatórias crônicas e autoimunes (MERCUGLIANO et al., 2021).

Nos últimos anos, ficou claro que o TNF impulsiona as respostas inflamatórias não apenas diretamente pela indução da expressão gênica inflamatória, principalmente via a ativação da via de sinalização NFκB, mas também indiretamente pela indução da morte celular, ativando reações imunes inflamatórias e desenvolvimento de doenças, sobretudo as cardiovasculares (VAN LOO et al., 2022).

De forma geral, o TNF é um citocina pró-inflamatória e marcador de processo inflamatório vascular. Quando produzido em larga escala, em infecções severas, leva a alterações patológicas severas, por exemplo, através do aumento da temperatura corporal no hipotálamo, aumento da síntese de proteína amiloide A e fibrinogênio pelos hepatócitos (proteínas marcadoras de fase inflamatória aguda). Além disso, em altas quantidades leva a perda de tônus muscular, bradicardia, trombose vascular e hipoglicemia (JAIN et al., 2011).

Outra citocina capaz de induzir a inflamação sistêmica é a Interleucina-6 (IL-6). Produzida de forma rápida e transitória em resposta a infecções e lesões teciduais, ela contribui para a defesa do hospedeiro por meio da estimulação de respostas de fase aguda, hematopoiese e reações imunes.

Embora sua expressão seja estritamente controlada por mecanismos transcricionais

e pós-transcricionais, a síntese contínua desregulada de IL-6 desempenha um efeito patológico na inflamação crônica e na autoimunidade. Após a IL-6 ser sintetizada ela se move para o fígado através da corrente sanguínea, seguida pela indução de uma extensa gama de proteínas de fase aguda, como a Proteína C-Reativa (PCR), soro amiloide A (SAA), fibrinogênio e haptoglobina. Além disso, essa IL-6 precede o aparecimento de outras citocinas na circulação, sendo, portanto, uma das primeiras citocinas pró-inflamatórias produzidas pelas células do sistema imune (TANAKA et al., 2014).

Quando se trata da Inflamação Crônica Subclínica, outras biomoléculas merecem destaque, não apenas a classe das citocinas. Nesse contexto, a lipoproteína A é uma partícula lipídica considerada como um fator de risco principalmente para doenças cardiovasculares (HAAS et al., 2010). Existe uma vasta gama de estudos que apontam os efeitos pró-aterogênicos desta lipoproteína, de maneira que há evidências em que a Lp(a) pode adentrar na parede das artérias estimulando a ativação das células endoteliais e a inflamação dessa parede através deposição de colesterol, resultando na sua participação em processos patológicos como aterosclerose e na formação de trombose (LOREY et al., 2022).

Adicionalmente, existem relatos acerca da associação entre a Lp(a) e várias desordens cardíacas, tais como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e estenose da valva aórtica calcificada, revelados através de metanálises e estudos genômicos (LANNUZZO et al., 2021).

Embora a Lp(a) contribua para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares em pacientes com diabetes, poucos estudos investigaram os benefícios da redução da Lp(a) nessa população de pacientes. Além disso, as diretrizes não abordam especificamente o risco associado a níveis elevados de Lp(a). Apesar disso, a Lp(a) deve ser medida em pacientes com diabetes e considerada ao avaliar sua carga de risco geral. Ainda que um papel específico para a Lp(a) ainda não tenha sido estabelecido de forma conclusiva, parece ter uma associação inversa com o risco de diabetes (SAEEDI et al., 2016).

Vários estudos populacionais demonstraram associações entre baixos níveis de Lp(a) e aumento do risco de diabetes tipo 2, mas os estudos mendelianos de randomização não suportam a causalidade de forma consistente. Por outro lado, em pacientes com diabetes tipo 2, níveis elevados de Lp(a) estão associados a um risco aumentado de eventos cardiovasculares (QI, 2012).

Correlacionada fortemente com a Lp(a), a Fosfolipase A2 (PLA2s) pertence a uma superfamília de enzimas responsáveis pela hidrólise do sn-2 ácidos graxos de fosfolipídios de membrana. Sabe-se que essas enzimas desempenham vários papéis na manutenção da homeostase dos fosfolipídios da membrana e na produção de uma variedade de mediadores lipídicos (KHAN et al., 2020).

Mais de 20 tipos diferentes de PLA2s estão presentes nas células dos mamíferos. Apesar de sua função comum na hidrólise de ácidos graxos de fosfolipídios, eles são

codificados de forma diversa por vários genes e expressam proteínas que são reguladas por diferentes mecanismos. Estudos recentes têm focado na cPLA2 citosólica dependente de cálcio do grupo IV, na iPLA2 independente de cálcio do grupo VI e na sPLA2 secretora de moléculas pequenas do grupo II (SUN et al., 2010).

No sistema nervoso central (SNC), essas PLA2s estão distribuídas entre neurônios e células gliais. Embora o papel fisiológico dessas PLA2s na regulação da função das células neurais ainda não tenha sido claramente elucidado, há evidências crescentes de seu envolvimento na sinalização do receptor e nas vias de transcrição que ligam eventos oxidativos a respostas inflamatórias que sublinham muitas doenças neurodegenerativas, como o Parkinson e a Doença de Alzheimer (SUN et al., 2010).

A fosfolipase A₂ está intimamente associada a processo de inflamação, ao passo que duas das cinco classes principais desta enzima estão a progredir de processos ateroscleróticos. Estudos apontam que a PLA₂ atua como um fator de risco para a progressão, desestabilização e ruptura da placa aterosclerótica. Outros estudos abordam a ligação entre PLA₂ e o mecanismo de envelhecimento, sendo relatado que a senescência precoce pode ser induzida através da expressão de seu receptor nas células (BOILARD et al., 2010).

Em resumo, pode-se dizer que a PLA2 atua como marcador de instabilidade da placa aterosclerótica. É uma enzima envolvida no processo inflamatório, pois catalisa a hidrólise de fosfolipídios de membrana, liberando ácido araquidônico e iniciando a via metabólica da cascata do ácido araquidônico, importantíssima no processo inflamatório. Apresenta importante papel em várias funções celulares, incluindo manutenção dos fosfolipídios celulares, geração de prostaglandinas e leucotrienos, tradução de sinais, proliferação celular e contração muscular (BOILARD et al., 2010).

No contexto inflamatório, uma alteração que se observa com frequência é problemas no endotélio. Por isso o óxido nítrico (NO) é visto como molécula sinalizadora que desempenha um papel fundamental na patogênese da Inflamação Crônica Subclínica. Inicialmente, ele apresenta um efeito anti-inflamatório em condições fisiológicas normais. Por outro lado, em altas concentrações sanguíneas é considerado um mediador pró-inflamatório que induz a inflamação por superprodução em situações anormais, como durante o estresse oxidativo (ZHANG, 2008).

O NO é sintetizado e liberado nas células endoteliais com a ajuda da enzima Óxido Nítrico Sintase (NOSs) que converte a arginina em citrulina produzindo NO. O oxigênio e o NADPH são cofatores necessários em tal conversão. Acredita-se que o NO induza vasodilatação no sistema cardiovascular e, além disso, esteja envolvido em respostas imunes por macrófagos ativados por citocinas, que liberam NO em altas concentrações. Além disso, o NO é um potente neurotransmissor nas sinapses neuronais e contribui para a regulação da apoptose. Estudos vem mostrando que o NO está envolvido na patogênese de doenças inflamatórias das articulações, intestino e pulmões (SHARMA et al., 2007).

Em relação a metodologia para a quantificação do NO, o ensaio mais utilizado ainda

é o Método de Griess. Esse ensaio destina-se à determinação quantitativa de nitrito e nitrato em fluidos biológicos. O kit usa a enzima nitrato redutase para converter nitrato em nitrito. O nitrito é então detectado como um produto corante azo colorido da reação de Griess que absorve a luz visível a 540 nm (CALDEIRA et al., 2021).

Em contrapartida, a maioria dos ensaios utilizados na quantificação das outras biomoléculas citadas neste estudo se dá através da técnica de ELISA - da sigla em inglês para "*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*", sendo um método imunoenzimático altamente específico e sensível que permite a detecção de anticorpos específicos para certo antígeno (GAN et al., 2013).

Os imunoenaios consistem em métodos bioanalíticos onde a quantidade de antígeno depende da ligação entre o anticorpo e o antígeno. Quando esses reagentes imunoenzimáticos (antígeno e anticorpo) são misturados e incubados, o antígeno se liga ao anticorpo formando um complexo imune. O ensaio imunoenzimático (ELISA) é o tipo mais comum de ensaio usado como ferramenta de diagnóstico na medicina e como medida de controle de qualidade em várias indústrias, além de ser usado para a detecção de antígenos ou anticorpos específicos em uma amostra coletada (DARWISH, 2006).

Esse procedimento tem princípios básicos comuns e modificações do método de radioimunoensaio (RIA). O RIA foi descrito pela primeira vez por Berson e Yalow no ano de 1960. Devido a certas limitações associadas ao princípio da radioatividade, os ensaios de RIA foram modificados substituindo o radioisótopo por uma enzima, criando assim o ELISA – um método básico de imunoensaio para detectar e medir anticorpos na amostra de sangue. P. Perlmann e E. Engvall desenvolveram este em 1974, e lentamente substituiu o teste de Western Blot. Trata-se de um teste versátil quando comparado a outros testes complicados e os profissionais da saúde podem fazê-lo facilmente (SAKAMOTO et al., 2018).

4 CONCLUSÃO

A Inflamação Crônica Subclínica é um tipo de inflamação silenciosa, caracterizada pelo aumento de diversas citocinas e outras moléculas que ativam a resposta imunológica. A presente revisão trouxe um levantamento dos principais biomarcadores presentes nesse tipo de inflamação, bem como a utilização do ensaio imunoenzimático ELISA como padrão ouro nas análises clínico-laboratoriais. Espera-se que a difusão cada vez maior desses biomarcadores possa servir como guia na conduta clínica para auxiliar no diagnóstico dessa alteração imunológica.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOILARD, E. *et al.* A novel anti-inflammatory role for secretory phospholipase A2 in immune complex-mediated arthritis. **EMBO Mol Med**, v.5, p.172-187, 2010.

CALDEIRA, C.A. *et al.* Resveratrol: Change of SIRT 1 and AMPK signaling pattern during the aging process. **Exp Gerontol.**, v.146, p.111226, 2021.

CHEN, L. *et al.* Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. **Oncotarget.**, v.14, n.9, p.7204-7218, 2017.

DARWISH, I.A. Immunoassay Methods and their Applications in Pharmaceutical Analysis: Basic Methodology and Recent Advances. **Int J Biomed Sci.**, v.2, n.3, p.217-35, 2006.

GAN, S.D.; PATEL, K.R. Enzyme immunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay. **J Invest Dermatol.**, v.133, p.1-12, 2013.

HAAS, M.J.; MOORADIAN, A.D. Regulation of high-density lipoprotein by inflammatory cytokines: establishing links between immune dysfunction and cardiovascular disease. **Diabetes Metab Res Rev.** 2010.

HORIGUCHI, H *et al.* Innate Immunity in the Persistent Inflammation, Immunosuppression, and Catabolism Syndrome and Its Implications for Therapy. **Front Immunol.**, v.9, p.582-595, 2013.

IANNUZZO, G *et al.* Lipoprotein(a) Where Do We Stand? From the Physiopathology to Innovative Therapy. **Biomedicines**, v.9, p.820-838, 2021.

JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute-phase proteins: As diagnostic tool. **J Pharm Bioallied Sci.**, v.1, p.118-127, 2011.

KHAN, M.I.; HARIPRASAD, G. Human Secretary Phospholipase A2 Mutations and Their Clinical Implications. **J Inflamm Res.**, v.16, n.13, p.551-561, 2020.

LOREY, M.B.; ÖÖRNI, K.; KOVANEN, P.T. Modified Lipoproteins Induce Arterial Wall Inflammation During Atherogenesis. **Front Cardiovasc Med.**, v.3, n.9, p.841545, 2022.

MERCOGLIANO, M.F. *et al.* Harnessing Tumor Necrosis Factor Alpha to Achieve Effective Cancer Immunotherapy. **Cancers (Basel)**, v.13, n.3, p.564, 2021.

QI, Q.; QI, L. Lipoprotein(a) and cardiovascular disease in diabetic patients. **Clin Lipidol.**, v.7, n.4, p.397-407, 2012.

RANNEH, Y *et al.* Crosstalk between reactive oxygen species and pro-inflammatory markers in developing various chronic diseases: a review. **Appl Biol Chem.**, v.60, p.327–338, 2017.

RANNEH, Y *et al.* Induction of Chronic Subclinical Systemic Inflammation in Sprague–Dawley Rats Stimulated by Intermittent Bolus Injection of Lipopolysaccharide. **Arch. Immunol. Ther. Exp.**, v.67, p.385–400, 2019.

SAEEDI, R.; FROHLICH, J. Lipoprotein (a), an independent cardiovascular risk marker. **Clin Diabetes Endocrinol.**, v.31, p.2-7, 2016.

SAKAMOTO, S *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites. **J Nat Med.**, v.72, p.32-42, 2018.

SHARMA, J.N.; AL-OMRAN, A.; PARVATHY, S.S. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. **Inflammopharmacology**, v.15, p.252-259, 2007.

SUN, G.Y. *et al.* Phospholipases A2 and inflammatory responses in the central nervous system. **Neuromolecular Med.**, v.12, p.133-48, 2010.

TANAKA, T.; NARAZAKI, M.; KISHIMOTO, T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. **Cold Spring Harb Perspect Biol.**, v.6, 2014.

VAN LOO, G.; BERTRAND, M.J.M. Death by TNF: a road to inflammation. **Nat Rev Immunol.**, 2022.

ZHANG, C. The role of inflammatory cytokines in endothelial dysfunction. **Basic Res Cardiol.**, v.103, n.5, p.398-406, 2008.

WARD, N.C.; VICKNESWARAN, S.; W, G.F. Lipoprotein (a) and diabetes mellitus: causes and consequences. **Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity**, v.28, p.181-187, 2021.