

Artigo
Original

Prospecção de Biomarcadores Inflamatórios de Síndrome Coronariana Aguda – Resultados Preliminares

2

Prospecting of Inflammatory Biomarkers in Acute Coronary Syndrome – Preliminary Results

Hugo Tannus Furtado de Mendonça-Filho, Kelly Cristina Pereira, Mônica Viegas Nogueira,
Mariane Fontes, Alfredo Potsch, Evandro Tinoco Mesquita

Hospital Pró-Cardíaco (RJ)

Fundamentos: Numerosas substâncias têm sido exploradas como preditores de risco em doença arterial coronariana (DAC), mas a literatura ainda carece de indicadores de síndrome coronariana aguda (SCA).

Objetivos: Este estudo-piloto visa a descrever níveis circulantes do fator de inibição da migração de macrófagos (MIF), da fração solúvel de ligante de CD40 (sCD40L) e da interleucina-6 (IL-6) numa amostra de pacientes sob suspeita de SCA, no sentido de explorar seu potencial como ferramentas diagnósticas.

Métodos: Num período de 6 meses, uma série de pacientes atendidos em unidade de dor torácica, com e sem critérios diagnósticos de SCA, tiveram amostras de sangue venoso periférico coletadas com o propósito de medir e comparar a produção das citocinas nos dois grupos.

Resultados: Dentre os 195 pacientes incluídos neste estudo, 69 (35,4%) preencheram critérios diagnósticos para SCA. Este grupo exibiu níveis de IL-6 significativamente menores ($p=0,013$) que os grupos não portadores de SCA (NSCA). Contudo, os níveis sanguíneos de MIF foram mais elevados entre os portadores de SCA, embora sem atingir significância estatística ($p=0,055$). Não foi registrada diferença entre os grupos NSCA e SCA quanto aos níveis circulantes de sCD40L ($p=0,505$). Ao analisarem-se isoladamente os pacientes sem DAC preexistente ($n=109$), os pacientes com SCA ($n=21$) exibiram níveis significativamente mais elevados de MIF ($p=0,045$), mas não houve diferença quanto aos de IL-6 ($p=0,186$) ou aos de sCD40L ($p=0,120$).

Conclusão: Não foram demonstradas evidências consistentes do papel de níveis circulantes de MIF, IL-6 e sCD40L como marcadores de SCA. Contudo, os elevados níveis circulantes de MIF em portadores

Background: A number of substances have been explored as predictors of risk to coronary artery disease (CAD), but scientific literature still has not yet identified indicators of acute coronary syndrome (ACS).

Objectives: This pilot-study aims to describe circulating levels of macrophage migration inhibitory factor (MIF), interleukin-6 (IL-6) and the soluble fraction of CD40 ligand (sCD40L) in a set of patients under suspicion of ACS, in order to explore their potential as diagnostic tools.

Methods: In a 6-month period, peripheral blood samples were taken from a set of patients attended in a chest-pain unit, with or without diagnostic criteria for ACS so as to measure and compare cytokine production in both groups.

Results: Among the 195 patients included in this study, 69 (35.4%) fulfilled the criteria for ACS diagnosis. This group exhibited significantly lower levels of IL-6 ($p=0.013$) than those without diagnostic of ACS (NACS). However, blood levels of MIF were higher in the group of ACS carriers, although statistical significance was not reached ($p=0.055$). No difference upon circulating levels of sCD40L ($p=0.505$) was registered between NACS and ACS groups. In an isolated analysis of patients without pre-existing CAD ($n=109$), ACS patients ($n=21$) showed significantly higher levels of MIF ($p=0.045$), but no difference was found upon IL-6 ($p=0.186$) or sCD40L ($p=0.120$) levels.

Conclusion: No consistent evidences about the role of circulating levels of MIF, IL-6 and sCD40L as ACS biomarkers of ACS were demonstrated. Nevertheless, higher levels of MIF in ACS carriers without pre-existing CAD reinforce the involvement of this cytokine in the CAD instabilization phenomenon.

de SCA sem DAC preexistente reforçam as evidências do envolvimento desta citocina no fenômeno de instabilização da DAC.

Palavras-chave: Síndrome coronariana aguda, MIF, IL-6 e sCD40L

Key words: Acute coronary syndrome, MIF, IL-6 and sCD40L

As doenças cardiovasculares são a causa de morte mais comum nos países desenvolvidos, sendo responsável por cerca de um milhão de mortes a cada ano nos Estados Unidos da América¹. No Brasil, o Ministério da Saúde através do DATASUS, relaciona 175.464 internações por síndrome coronariana aguda em 2002. Neste ano, a mortalidade por doenças cardiovasculares foi de 193.150, sendo 81.505 atribuídas à síndrome coronariana aguda².

A aterosclerose é a principal causa de doença arterial coronariana (DAC) que tem bases fisiopatológicas consistentemente relacionadas à disfunção endotelial¹. Possíveis deflagradores de disfunção endotelial são: elevação e modificação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), geração de radicais livres de oxigênio, diabetes mellitus, hipertensão arterial, entre outros fatores. A disfunção endotelial promove uma série de respostas celulares e moleculares específicas que culminam com a formação da placa de ateroma³. As células do sistema imune dominam o cenário precoce, suas moléculas efetoras aceleram a progressão da lesão e ativam a cascata inflamatória, que por fim leva à síndrome coronariana aguda⁴.

Um equilíbrio entre a atividade inflamatória e antiinflamatória controla a progressão da aterosclerose. Células T, células dendríticas, monócitos, macrófagos e mastócitos são responsáveis por patrulhar diversos tecidos, inclusive as artérias ateroscleróticas. É essencial para que haja o desenvolvimento da aterosclerose, a migração e a diferenciação de monócitos em macrófagos na placa⁴. A ativação dessas células conduz à liberação de enzimas hidrolíticas, citocinas e fatores de crescimento, que podem induzir a danos maiores e eventualmente conduzi-los a um foco de necrose³.

Nas lesões ateroscleróticas predomina também a resposta tipo I em linfócitos T que resulta na produção de interferon- γ , que por sua vez aumenta a síntese de citocinas inflamatórias como, TNF- α e IL-1. Estas citocinas vão induzir a produção de grandes quantidades de IL-6, que estimulará a produção de proteínas inflamatórias

de fase aguda como, proteína C-reativa (PCR), fibrinogênio e substância soro-amilóide⁴.

Na fase mais avançada da lesão, ocorre a formação de uma capa fibrosa, e o influxo contínuo de macrófagos para o local da lesão faz com que a capa fibrosa se adelgace. A ativação da placa se dá primordialmente por dois mecanismos: erosão endotelial e a ruptura de placa. A desestabilização da placa leva à exposição do material subendotelial como, fosfolipídeos e fator tecidual, que promovem uma resposta pró-trombótica, ativam células imunes, que por sua vez liberam moléculas inflamatórias e enzimas proteolíticas. Dentre os fatores produzidos inclui-se também o CD40L solúvel, que possui caráter pró-inflamatório e promove coagulação induzindo a expressão de fator tecidual nos monócitos e células endoteliais. Já foi demonstrado que concentrações plasmáticas elevadas de CD40L estão relacionadas a um aumento significativo no risco de um evento cardiovascular futuro. Além disso, pacientes com angina instável apresentam níveis de CD40L mais elevados que voluntários saudáveis ou pacientes com angina estável. Os níveis de CD40-L também estão associados a um maior risco de morte e infarto do miocárdio^{5,6}.

Aparentemente o fator de inibição da migração de macrófagos (MIF) é expresso pelas células endoteliais, musculares lisas e macrófagos durante a aterogênese, mas já foi observado que esta citocina também está expressa em lesões ateroscleróticas avançadas e com sinais de instabilidade⁷. A correlação entre o aumento de MIF e a instabilidade de placa está associada à adesão de macrófagos, acúmulo e formação de células espumosas. MIF age de forma autócrina e parácrina, estimulando ainda mais a síntese de citocinas dotadas de atividade pró-inflamatória como, IL-1, TNF- α e INF- γ e de moléculas envolvidas com a adesão, rolagem e migração de macrófagos para o espaço subendotelial como ICAM-1 e VCAM-1⁸. A elevação deste nas áreas inflamadas e na capa fibrosa mostra uma associação com o aumento da expressão de MMP-1 e 9 e com subsequente enfraquecimento da capa fibrosa^{8,9}.

Numerosas substâncias envolvidas na fisiopatologia da doença aterosclerótica têm sido exploradas como novos marcadores de isquemia miocárdica e preditores de risco em DAC¹⁰.

O objetivo do presente estudo é descrever níveis circulantes de MIF, sCD40L e IL-6 numa amostra de pacientes sob suspeita de síndrome coronariana aguda, no sentido de explorar seu potencial como ferramentas diagnósticas.

Metodologia

População

Este estudo-piloto foi aprovado pela Comissão Científica e pelo Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos do Centro de Ensino e Pesquisa do Hospital Pró-Cardíaco – PROCEP, e foi desenvolvido pelo laboratório do Núcleo de Pesquisa Translacional em associação à Unidade de Emergência do Hospital Pró-Cardíaco.

Foram considerados elegíveis os pacientes atendidos no setor de emergência daquela instituição, em função de quadro de dor torácica – caracterizada como dor aguda não-traumática, de qualquer natureza, na região entre a mandíbula e a cicatriz umbilical. Conforme protocolo institucional, em todos os pacientes, a curva enzimática foi avaliada e foram submetidos a um eletrocardiograma de 16 derivações em repouso, na admissão, e repetido quando houve alteração no padrão algico, instabilidade hemodinâmica ou arritmia ao monitor. Pacientes que apresentaram alterações eletrocardiográficas consideradas típicas de atividade de doença coronariana ou bloqueio de ramo esquerdo associado à dor torácica típica foram diretamente encaminhados ao laboratório de hemodinâmica. Os demais pacientes foram submetidos a testes funcionais (teste ergométrico, ecocardiograma sob estresse¹¹ ou medicina nuclear), sendo aqueles que foram considerados de alto risco encaminhados ao cateterismo¹².

Portadores de neoplasias ou doenças inflamatórias crônicas, suspeitos de síndromes infecciosas ou que estivessem em uso de imunomoduladores foram excluídos do estudo. Tendo em vista seu imediato encaminhamento ao Laboratório de Hemodinâmica visando angioplastia primária, foram excluídos do estudo os pacientes que apresentaram supradesnivelamento do segmento ST maior que

1mm em duas ou mais derivações contíguas no plano frontal, ou maior que 2mm em, pelo menos, duas derivações contíguas no plano horizontal a partir de 40ms do ponto J. Pela mesma razão, também foram excluídos os portadores de dor torácica característica de doença coronariana associada a sinais eletrocardiográficos de bloqueio de ramo esquerdo.

Coleta e Processamento de Amostras Sanguíneas

Após o consentimento informado, dentro das primeiras 12 horas de admissão no setor de emergência do hospital, foram coletados 10ml de sangue venoso periférico. Em intervalo inferior a 30 minutos, o soro/plasma foi separado por centrifugação a 800g por 15 minutos a 4°C e mantido congelado a -70°C até o seu processamento. Níveis circulantes de MIF, interleucina 6 (IL 6) e fração solúvel de CD40L (sCD40L) foram dosados pela técnica ELISA-sanduiche (*R&D Systems, Minneapolis, USA*) de acordo com as especificações do fabricante.

Seguimento Clínico

Características clínicas como dados demográficos, história patológica pregressa e a evolução intra-hospitalar subsequente foram registradas.

Foram considerados portadores de síndrome coronariana aguda (SCA) os pacientes que, após estratificação de risco, revelaram lesões consideradas culpadas em cineangiocoronariografia. Infarto agudo do miocárdio (também incluído no grupo SCA) foi caracterizado por níveis de troponina-I superiores a 1ng/dl e/ou Ck-MB massa superior a 10ng/mL. Foram considerados como não-portadores de síndrome coronariana aguda (NSCA) aqueles pacientes estratificados como de baixo risco (não submetidos à coronariografia), bem como os que não apresentaram lesões coronarianas obstrutivas consideradas culpadas (Figura 1).

Análise Estatística

Os dados foram apresentados como média \pm erro-padrão. As diferenças entre os grupos e as correlações com as citocinas foram analisadas pelo testes Mann-Whitney e Spearman, respectivamente. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Para a comparação entre variáveis dicotômicas foram utilizados os testes do qui-quadrado ou exato de Fisher.

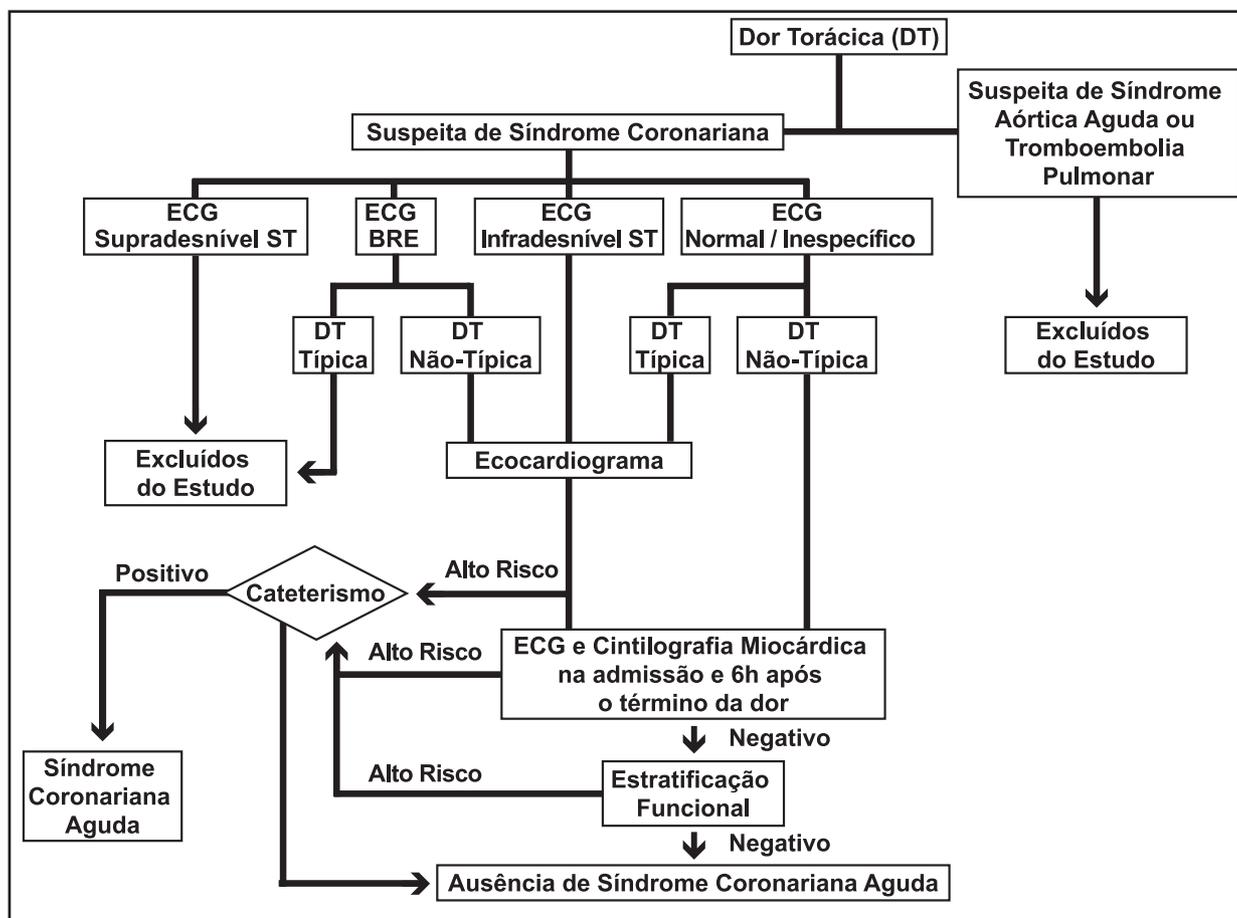


Figura 1
Inclusão de pacientes, estratificação e desfechos analisados

Resultados

Dados Demográficos e Desfechos Clínicos

Entre 26 de junho de 2004 e 31 de janeiro de 2005, 526 pacientes com idade $60 \pm 16,9$ anos de idade, sendo 52,5% do sexo masculino, foram atendidos no setor de emergência do Hospital Pró-Cardíaco. Dentre estes, 195 pacientes constituíram a população amostral do presente estudo. Nesta população, as prevalências de dislipidemia, hipertensão e diabetes mellitus eram de 45,7%, 44,2% e 16,8%, respectivamente. Doença coronariana, previamente documentada por coronariografia, era presente em 44,1% dos casos ($n=86$). Comparados ao grupo NSCA, os pacientes do grupo SCA apresentavam maior taxa de uso de estatinas ($p=0,001$) e maior prevalência de dislipidemia ($p=0,036$), diabetes mellitus ($p=0,046$) e DAC prévia ($p<0,001$). Embora clinicamente relevantes, não atingiram significância estatística as diferenças nas prevalências de hipertensão arterial sistêmica ($p=0,374$) e de tabagismo (0,113).

Conforme protocolo assistencial institucional, dentre os 195 pacientes incluídos no estudo, 126

(64,6%) não preencheram os critérios diagnósticos de síndrome coronariana aguda (NSCA) e 69 indivíduos (35,4%) foram considerados portadores de síndrome coronariana aguda (SCA), sendo atribuído a 13 deles (6,6%) o diagnóstico de infarto agudo do miocárdio.

Analisando-se individualmente os subgrupos de pacientes com ($n=86$) e sem doença arterial coronariana (DAC) preexistente ($n=109$) observou-se que entre os primeiros, 57 pacientes (66,3%) foram classificados como portadores de SCA, enquanto entre os últimos, esse diagnóstico foi atribuído a somente 21 pacientes (19,3%). Essa diferença atingiu significância estatística ($p<0,001$). Quanto a infarto agudo do miocárdio nos subgrupos com e sem DAC preexistente, a prevalência foi de 9,3% e 4,6%, respectivamente. Embora clinicamente relevante, essa diferença não alcançou significância estatística ($p=0,250$).

Mediadores Inflamatórios

A análise global dos níveis das substâncias estudadas revelou associação positiva entre os níveis de sCD40L e de MIF ($p<0,001$ – $\rho=0,272$).

Adicionalmente, também foi observado que os níveis de IL-6 exibiram associação negativa com sCD40L ($p < 0,001$ - $\rho = -0,356$), e também com MIF ($p = 0,005$ - $\rho = -0,207$).

Os pacientes diagnosticados como portadores de SCA exibiram níveis de IL-6 significativamente menores ($p = 0,013$) que os NSCA. Contudo, os níveis sanguíneos de MIF foram mais elevados entre os portadores de SCA, embora sem atingir significância estatística ($p = 0,055$). Não foi registrada diferença entre os grupos NSCA e SCA quanto aos níveis circulantes de sCD40L ($p = 0,505$).

Os subgrupos de pacientes com e sem DAC preexistente não apresentaram diferenças relevantes quanto aos níveis circulantes de MIF ($p = 0,794$), sCD40L ($p = 0,572$) ou IL-6 ($p = 0,307$). Porém, ao ser analisado isoladamente o subgrupo de pacientes sem DAC preexistente, os pacientes diagnosticados como SCA exibiram níveis significativamente mais elevados de MIF ($p = 0,045$), mas não houve diferença quanto aos de IL-6 ($p = 0,186$) ou aos de sCD40L ($p = 0,120$) (Tabela 1).

Os níveis circulantes dos mediadores estudados não foram diferentes entre os pacientes que apresentaram ou não IAM (Tabela 2).

Discussão

A literatura médica tem mostrado numerosos estudos que associam mediadores inflamatórios a prognóstico em doença arterial coronariana. Um mediador inespecífico como IL-6, por exemplo, foi associado à recorrência de eventos coronarianos numa população atendida em centros de dor torácica^{13,14}. Adicionalmente, CD40L, um indicador de ativação plaquetária, exibiu potencial como marcador prognóstico em DAC⁶.

Os resultados do presente estudo não confirmaram a importância dos níveis circulantes de IL-6 ou de sCD40L na identificação de pacientes com SCA. Diferentemente, um estudo prévio com 75 pacientes portadores de lesões coronarianas presumivelmente culpadas do evento em questão, detectou um aumento de produção local de sCD40L, sugerindo o seu envolvimento no fenômeno de ruptura de placa aterosclerótica coronariana¹⁵. Quanto à IL-6, esses resultados confirmam os de uma outra série com 175 pacientes suspeitos, que não demonstrou valor dos níveis circulantes de IL-6 e outras interleucinas na discriminação de SCA¹⁶.

Em conjunto, os resultados destas duas séries são diferentes dos obtidos em um estudo caso-controle, que evidenciou maiores níveis de IL-6 em

Tabela 1

Distribuição de valores de níveis circulantes de MIF, sCD40L e IL-6 nos pacientes que apresentaram síndrome coronariana aguda (SCA) ou não (NSCA), no subgrupo de pacientes com e sem DAC preexistente

		MIF*	sCD40L*	IL-6*
Total pacientes	SCA	1282,8 ± 120,5	196,3 ± 51,2	10,5 ± 1,0
	NSCA	1034,2 ± 104,8	211,0 ± 49,4	13,6 ± 1,0
	p	0,055	0,505	0,013
com DAC preexistente	SCA	1235,8 ± 140,5	188,5 ± 60,5	10,7 ± 1,2
	NSCA	1066,2 ± 234,1	155,9 ± 59,9	15,0 ± 2,2
	p	0,339	0,791	0,056
sem DAC preexistente	SCA	1450,5 ± 117,1	224,3 ± 93,1	10,0 ± 1,7
	NSCA	1023,9 ± 230,7	228,6 ± 66,3	13,1 ± 0,9
	p	0,045	0,120	0,186

(*) Os valores estão expressos em pg/ml

Tabela 2

Distribuição geral de valores de mediadores quanto ao diagnóstico de IAM

	MIF*	sCD40L*	IL-6*
IAM	1442,1 ± 120,5	199,0 ± 51,2	12,3 ± 0,7
Não IAM	1105,6 ± 80,2	206,0 ± 37,5	14,2 ± 2,7
p	0,857	0,771	0,664

(*) Os valores estão expressos em pg/ml

portadores de SCA quando comparados a pacientes com angina estável¹⁷. Essa divergência poderia estar relacionada ao próprio desenho de um estudo de coortes que, embora se assemelhe a situações clínicas reais, perde no controle de fatores de confusão quando comparado aos do tipo caso-controle. Adicionalmente, embora a prevalência de comorbidades de base fisiopatológica inflamatória fosse maior no grupo SCA, esses pacientes vinham em uso contínuo de estatinas, o que pode ter influenciado o perfil inflamatório circulante.

Uma relevante limitação metodológica deste estudo reside na falta de determinação de um perfil inflamatório local. Assim, a aparente ausência de ligação entre os níveis circulantes de citocinas e o diagnóstico de SCA no presente estudo poderia não vir a refletir fenômenos fisiopatológicos relacionados ao cenário inflamatório vigente no endotélio coronariano implicado.

Outra limitação do presente estudo reside na carência de um desfecho consistente, em virtude de nossa incapacidade em detectar clinicamente a instabilização da placa coronariana com as ferramentas diagnósticas atualmente disponíveis¹⁸. Essa incapacidade nos faz admitir como portadores de SCA pacientes que, atendidos com dor torácica, tenham um teste provocativo positivo e lesões obstrutivas em coronariografia consideradas culpadas do evento atual. Na perspectiva dos autores, a atribuição de responsabilidade a essas lesões deriva de avaliações subjetivas, demasiadamente sujeitas a vieses pessoais. Essa condição frequentemente prejudica um refinamento na identificação de quadros de doença aguda, que tem bases fisiopatológicas próprias, sujeita a mecanismos diversos daqueles estudados na formação da placa aterosclerótica. Um outro ponto relevante diz respeito à associação entre o fenômeno de instabilização de placa aterosclerótica coronariana e os critérios enzimáticos de IAM.

Os resultados deste estudo indicam que pacientes estratificados como de elevado risco para SCA tendem a exibir níveis superiores de MIF circulante. Embora de forma limitada, esses resultados podem sugerir um relevante papel do MIF neste cenário. Essas indicações são reforçadas pela recente demonstração da produção de MIF pelo miocárdio, em modelo experimental, após estimulação com endotoxina¹⁹, além do seu envolvimento com a produção de metaloproteinases e instabilização da placa aterosclerótica⁸.

Esse estudo-piloto presta-se à prospecção de substâncias dotadas de propriedades que justifiquem a sua futura exploração como biomarcadores de SCA. É uma das etapas iniciais de um longo processo até a incorporação assistencial de novas ferramentas diagnósticas²⁰. Entretanto, ele também demonstra a necessidade de estudos adicionais que aprofundem o conhecimento atual sobre o envolvimento do MIF na fisiopatologia da SCA, o que pode eventualmente resultar no desenvolvimento de uma nova ferramenta diagnóstica.

Conclusão

Os resultados do presente estudo não demonstraram consistentes evidências do papel de níveis circulantes de MIF, IL-6 e sCD40L como marcadores de SCA. Estes achados podem estar relacionados a importantes limitações no diagnóstico clínico da ruptura da placa aterosclerótica. A detecção de elevados níveis circulantes de MIF entre os portadores de SCA, embora restrita ao subgrupo de pacientes sem DAC preexistente, reforça evidências do envolvimento dessa citocina na fisiopatologia do fenômeno de instabilização da doença aterosclerótica coronariana.

Referências

1. Lee TH, Cannon CP. Approach to the patient with chest pain. In: Zipes DP, Libby P, Bonow RO, Braunwald E (eds). Braunwald's Heart Disease: a text book of cardiovascular medicine. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005:1129-139.
2. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. DATASUS. Informações de Saúde. Morbidade e informações epidemiológicas [acesso em novembro 2005]. Disponível em: <<http://www.datasus.gov.br>>
3. Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340(2):115-26.
4. Hansson GK. Mechanisms of disease: inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005;352:1685-695.
5. Aukrust P, Muller F, Ueland T, et al. Enhanced levels of soluble and membrane-bound CD40 ligand in patients with unstable angina. Possible reflection of T lymphocyte and platelet involvement in the pathogenesis of acute coronary syndromes. *Circulation.* 1999;100(6):614-20.
6. Varo N, Lemos JA, Libby P, et al. Soluble CD40L: risk prediction after acute coronary syndromes. *Circulation.* 2003;108 (9):1049-1052.

7. Schmeisser A, Marquetant R, Illmer T, et al. The expression of macrophage migration inhibitory factor 1alpha (MIF 1alpha) in human atherosclerotic plaques is induced by different proatherogenic stimuli and associated with plaque instability. *Atherosclerosis*. 2005;178(1):83-94.
8. Kong YZ, Huang XR, Ouyang X, et al. Evidence for vascular macrophage migration inhibitory factor in destabilization of human atherosclerotic plaques. *Cardiovasc Res*. 2005;65(1):272-82.
9. Kong YZ, Yu X, Tang JJ, et al. Macrophage migration inhibitory factor induces MMP-9 expression: implications for destabilization of human atherosclerotic plaques. *Atherosclerosis*. 2005;178(1):207-15.
10. Apple FS, Wu AH, Mair J, et al. Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage of the IFCC. Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin Chem*. 2005;51(5):810-24.
11. Galasko GIW, Basu S, Lahiri A, et al. A prospective comparison of echocardiographic wall motion score index and radionuclide ejection fraction in predicting outcome following acute myocardial infarction. *Heart*. 2001;86:271-76.
12. Bassan R, Scofano M, Gamarski R, et al. Chest pain in the emergency room. Importance of a systematic approach. *Arq Bras Cardiol*. 2000;74(1):13-29.
13. Menown IBA, Mathew TP, Gracey HM, et al. Prediction of recurrent events by D-dimer and inflammatory markers in patients with normal cardiac troponin I (PREDICT) study. *Am Heart J*. 2003;145:986-92.
14. Lee KW, Lip GY, Tayebjee M, et al. Circulating endothelial cells, von Willebrand factor, interleukin-6, and prognosis in patients with acute coronary syndromes. *Blood*. 2005;105:526-32.
15. Aggarwal A, Schneider DJ, Terrien EF. Increased coronary arterial release of interleukin-1 receptor antagonist and soluble CD40 ligand indicative of inflammation associated with culprit coronary plaques. *Am J Cardiol*. 2004;93(1):6-9.
16. Hillis GS, Terregino CA, Taggart P, et al. Inflammatory cytokines provide limited early prognostic information in emergency department patients with suspected myocardial ischemia. *Ann Emerg Med*. 2003;42(3):337-42.
17. Ikeda U, Ito T, Shimada K. Interleukin-6 and acute coronary syndrome. *Clin Cardiol*. 2001;24(11):701-704.
18. Davies JR, Weissberg PL. Imaging of atherosclerosis – Can we predict plaque rupture? *Trends Cardiovasc Med*. 2005;15:17-24.
19. Garner LB, Willis MS, Carlson DL, et al. MIF is a cardiac-derived myocardial depressant factor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285(6):H2500-509.
20. Keaney J. Circulating biomarkers in acute coronary syndromes: something different or more of the same? *Circulation*. 2005;112(6):778-80.