

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul**

**Faculdade de Medicina**

**Programa de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica**

**Ascensão e queda na mortalidade por Doença Isquêmica do Coração  
no século XX: A Epidemia nos EUA e um inquérito  
epidemiológico sobre sua causa**

**Maria Inês Reinert Azambuja**

**Orientador: Bruce B. Duncan**

**Tese de Doutorado**

2001

## DEDICATÓRIA

A meus filhos,  
Julia, Alice e Fernando,  
com amor.

## **AGRADECIMENTOS**

- A meu marido, José, por 20 anos de parceria intelectual.
- Ao Prof. Bruce Duncan, meu orientador neste programa, pelo exemplo como pesquisador, a seriedade como orientador, mas principalmente, pela abertura intelectual que demonstrou ter ao aceitar explorar comigo a hipótese que é objeto desta tese.
- Ao Prof. Aloyzio Achutti, meu Mestre, pela inquietação, sabedoria e generosidade intelectual e pessoal que sempre me inspiraram.
- À UFRGS, meus colegas professores do Departamento de Medicina Social, e aos alunos da Faculdade de Medicina, que me desafiam a continuar...

*“How absurd,..., was the classical view of the heart as the ‘spring of all heat’. Knowing so little, the ancients should have attempted no explanation of the matter; whereas we, today, with all our facts, are now able to show that bodily heat is simply the mechanic result of the velocity of blood in its circulation.” (Boerhaave, 1751)*

*“In science, just as in art and in life, only that is true to culture is true to nature. “ ( Ludwik Fleck, 1935)*

## RESUMO

Os fatores de risco clássicos para o desenvolvimento de doença isquêmica do coração (DIC) explicam menos de 50% da queda na mortalidade observada desde 1950. A transição em curso, do paradigma degenerativo para o inflamatório/infeccioso, requer nova interpretação causal das tendências temporais. Este é um estudo ecológico, baseado em dados dos Estados Unidos, que mostra, em homens e mulheres, uma associação entre a distribuição etária da mortalidade por influenza e pneumonia (I&P) associada à pandemia de influenza de 1918-1919 na faixa dos 10 aos 49 anos e a distribuição da mortalidade por DIC, entre 1920 e 1985, em sobreviventes das coortes de nascimento correspondentes.

Mostra ainda uma correlação negativa significativa ( $r = -0,68$ ,  $p = 0,042$ ) entre o excesso de mortalidade por I&P acumulado em epidemias entre 1931-1940 (utilizado como indicador da persistência da circulação de vírus H1N1 aliada à vulnerabilidade à infecção) e a ordem do início do declínio na mortalidade por DIC, em nove divisões geográficas dos Estados Unidos.

Os dados sugerem, à luz do conhecimento biológico atual, que a pandemia de influenza de 1918 (e as que se seguiram até 1957) pudesse ter tido papel determinante na epidemia de mortalidade por DIC registrada no século XX.

## **ABSTRACT**

The classic risk factors for developing coronary heart disease (CHD) explain less than 50% of the decrease in mortality observed since 1950. The transition currently under way, from the degenerative to the infectious-inflammatory paradigm, requires a new causal interpretation of temporal trends.

The following is an ecological study based on data from the United States showing, in men and women, an association between the age distribution of mortality from influenza and pneumonia (I&P) during the 1918-1919 influenza pandemic in the 10-49-year age bracket and the distribution of CHD mortality from 1920 to 1985 in survivors from the corresponding birth cohorts.

It further shows a significant negative correlation ( $r = -0.68$ ,  $p = 0.042$ ) between excess mortality from I&P accumulated in epidemics from 1931 to 1940 (used as indicator for persistent circulation of H1N1 virus combined with vulnerability to infection) and the order of the beginning in the decline in CHD mortality in nine geographic divisions in the United States.

In light of current biological knowledge, the data suggest that the 1918 influenza pandemic (and subsequent epidemics up to 1957) might have played a determinant role in the epidemic of CHD mortality registered in the 20th century.

## ÍNDICE

### PARTE I

<b>I.1. Introdução</b> .....	7
<b>I.2. Revisão da literatura</b> .....	7
I.2.1. A emergência do paradigma da Degeneração	
I.2.2. Ascensão e queda na mortalidade por doença isquêmica do coração nos EUA, no século XX	
I.2.3. Concepções de causalidade em aterosclerose e cardiopatia isquêmica, sob o paradigma da Degeneração	
I.2.4. Paradigmas em transição: Degeneração ou Inflamação?	
I.2.5. Teorias causais para a aterogênese sob o paradigma da Inflamação	
I.2.5.1. A hipótese infecciosa	
<b>I.3. Considerações sobre método</b> .....	20
I.3.1. Raciocínio causal: dos indivíduos para a população?	
I.3.2. ...ou da população para os indivíduos? A epidemiologia como método de investigação causal de epidemias	
<b>I.4. Hipótese</b> .....	22
I.4.1. Evidência histórica em favor de outra epidemia de ‘Angina Pectoris’ na Grã Bretanha, na virada do Século XIX	
I.4.2. Hipótese causal para a emergência (ou re-emergência) da DIC no século XX	
I.4.3. Sobre a Influenza	
I.4.3.1. Os vírus Influenza	
I.4.3.2. Influenza nos EUA, no início do século XX	
I.4.3.3. A doutrina do pecado antigênico original	
<b>I.5. Objetivos</b> .....	30
<b>FINAL DA PARTE I</b>	
<b>Referência Bibliográficas</b> .....	31

### PARTE II. Artigo

<b>II.1.</b> Similarities in patterns of mortality from influenza A (H1 strains) in the first half of the 20 <sup>th</sup> century and the rise and fall of coronary heart disease in the US: a new hypothesis concerning the CHD epidemic” (original).....	42
<b>II.2.</b> Similaridades entre os padrões de mortalidade por Influenza A (cepas H1) na primeira metade do século XX e a mortalidade por doença isquêmica do coração nos EUA: uma nova hipótese para a epidemia de DIC (artigo traduzido).....	55
<b>II.3.</b> Referências Bibliográficas do artigo.....	71
<b>II.4.</b> Figuras do artigo.....	78

## **Parte I**

### **I.1. Introdução**

Nos últimos 20 anos, pode-se dizer que uma verdadeira revolução aconteceu no campo das nossas concepções sobre os mecanismos envolvidos no adoecimento. Um importante promotor desta revolução foi a emergência da AIDS (1). O retorno inesperado de um tipo de ameaça que julgávamos ter ficado no passado da humanidade (2) – a ameaça da “peste” – estimulou a pesquisa e resultou em rápidos avanços no conhecimento, particularmente nas áreas da virologia, da imunologia e da biologia molecular. Desencadeou-se *“um re-exame amplo de nossa co-habitação com os micróbios (1)”*, que revelou que a úlcera gástrica (3-4), atribuída tradicionalmente ao stress e a causas psicossomáticas, além de diversas outras patologias tradicionalmente associadas à degeneração (5), teriam, ao invés, uma etiologia infecciosa. Este talvez tenha sido o mais significativo desdobramento da emergência da AIDS: a quebra da hegemonia do “paradigma da degeneração”, e as perspectivas abertas, a partir desta quebra, para a pesquisa e a re-interpretação do conhecimento relativo à etiopatogenia de múltiplas condições.

### **I.2. Revisão da literatura**

#### **I.2.1. A emergência do Paradigma da “Degeneração”**

No início do século XX, a melhoria das condições de vida e aplicação dos conhecimentos advindos da microbiologia na implementação de medidas de higiene pública já haviam-se refletido em aumento da expectativa de vida dos mais jovens na América do Norte e Europa (6-9). A introdução das sulfas na década de 30, e da penicilina (e estreptomicina) no pós-guerra, acrescentavam vitórias sucessivas não apenas no combate às doenças infecciosas, mas também sobre a mortalidade materna e a associada a traumas, revolucionando o tratamento cirúrgico e ampliando muito seu leque de intervenções (2,6,8). Assim, apesar do reconhecimento de que a vitória sobre as doenças infecciosas era ainda



parcial, havia otimismo com relação ao possível controle daquelas condições. Mais preocupante parecia o aumento na ocorrência de patologias crônicas, como a artrite, o câncer, o diabetes, a hipertensão arterial e as doenças mentais. A emergência destas condições era vista como uma decorrência natural não desejada da associação entre desenvolvimento econômico e progresso da medicina, e de seu impacto sobre o perfil demográfico e os novos estilos de vida de uma população mais urbana e afluenta (6). Conforme Morris (9, p.168), o fumo seria um trágico acidente da história humana, mas a inatividade física – que afetaria a saúde física e mental - seria parte integrante do progresso social, e os excessos alimentares seriam no mínimo um comportamento aprovado socialmente, refletindo o sucesso do sistema social. Assim, a obesidade, o diabetes, a hipertensão e os níveis elevados de lipídios séricos constituiriam um grupo característico de doenças metabólicas da aflluência (9, p.169). A esta concepção de causalidade no nível populacional correspondeu a emergência de um novo paradigma etiopatogênico no nível biológico-individual: o paradigma da Degeneração. A Cardiopatia Isquêmica representou prototipicamente este novo paradigma. Nos Estados Unidos (EUA), a análise retrospectiva dos registros de estatística vital situa o início da ascensão da curva de mortalidade por Angina Pectoris ao redor de 1925 (10). Descrita em publicação da Organização Mundial da Saúde, nos anos 60, como a principal algoz da espécie humana (11), a aterosclerose seria consequência desta alteração na ecologia humana (12), mas também uma companheira inevitável do envelhecimento (12-13), e, por esta razão, passível de prevenção apenas na medida em que o processo de envelhecimento pudesse ser retardado (13).

### **I.2.2. Ascensão e queda na mortalidade por doença isquêmica do coração nos EUA no século XX**

Poucas mortes eram atribuídas à “Angina” durante as primeiras décadas do século XX (14). Na verdade, a doença isquêmica do coração nem era considerada como causa de

morte na América do Norte antes do início da década de 20 (10), período em que se localizou, retrospectivamente, o início do incremento na mortalidade por doença cardiovascular, mais tarde atribuído à aterosclerose coronariana. Até 1930, a categoria degeneração miocárdica tinha mais expressão na mortalidade que a doença coronariana. De 1925 à 1940 a doença coronariana é crescentemente reconhecida como entidade clínica e importante causa de morte (10). Por mais de 30 anos a ocorrência de Doença Isquêmica do Coração (DIC) nos EUA cresceu continuamente. Em 1950 as mortes relacionadas à DIC já representavam 22% da mortalidade total. Na década de 60 a condição respondeu por aproximadamente 1/3 do total de óbitos. E então, no final dos anos 60, surpreendentemente, as taxas de mortalidade por DIC começaram a cair, e esta nova tendência foi tão intensa que em 1972, apesar do crescimento e envelhecimento populacional, uma queda nos números absolutos é registrada pela primeira vez (15). Até 1980 a redução, em termos relativos, já tinha sido superior a 25% (10), chegando a mais de 40% na década de 90(16).

A epidemia de DIC atingiu principalmente os homens. A razão da mortalidade por sexo (H/M) aumentou continuamente entre 1920 e 1950, até aproximadamente 1,5 (10). Novos aumentos ocorreram durante o declínio, uma vez que a queda na mortalidade foi mais precoce nas mulheres (17).

Na fase ascendente da epidemia, houve um significativo excesso de mortes entre os brancos (10, 17) . Este excesso inicial foi gradualmente reduzido nos homens e revertido nas mulheres durante o declínio (18) .

O declínio iniciou mais precocemente entre os mais jovens (10,14) . Em Seattle, Ravenholt (14) registrava uma desaceleração no incremento da mortalidade já nas décadas de 40 e 50, e a atribuía ao início na redução da mortalidade dos homens com menos de 50 anos (ou seja, os nascidos a partir de 1900).

Foi documentada importante variação geográfica nas taxas e tendências temporais na mortalidade por DIC entre países (19-20), e, nos Estados Unidos, entre e dentro dos

estados (21). Na Califórnia (10,22) e em Nova York (10,23), o declínio começou ainda na década de 50. Durante os anos 60 e 70 a mortalidade deslocou-se dos centros do Pacífico-Oeste e Nordeste para o Sul e a região Central do País. Foi igualmente registrada uma migração progressiva das maiores taxas de mortalidade das regiões metropolitanas para as não-metropolitanas e destas para as áreas rurais. Apesar da ocorrência de declínios em todas as regiões e estados durante os anos 80, as taxas de mortalidade ainda variam substancialmente por área geográfica. A forte correlação de taxas de mortalidade região-específicas (24) (e país-específicas (25)) entre homens e mulheres sugere que condições associadas com a variação geográfica teriam influenciado o risco de DIC de forma similar entre os sexos (25).

### **I.2.3. Concepções de causalidade em aterosclerose e cardiopatia isquêmica, sob o paradigma da degeneração**

Até a década de 70, duas hipóteses principais disputaram a etiopatogenia da aterosclerose: a hipótese lipídica e a hipótese trombótica. As origens de ambas podem ser traçadas retrospectivamente até os séculos XVIII e XIX (26) .

A hipótese lipídica, propunha que níveis elevados de lipídios no sangue resultavam na deposição de gordura nas paredes arteriais, o que levaria à formação do ateroma mural e à Angina Pectoris. A partir da década de 50, uma rede de evidências experimentais, clínicas e epidemiológicas em favor de uma associação causal entre a dieta ocidental - rica em colesterol e/ou gorduras saturadas - e níveis séricos elevados de colesterol, e destes com o desenvolvimento de cardiopatia isquêmica, vai paulatinamente compondo o quadro teórico que daria suporte à intervenção médica e sanitária posta em prática nos últimos 30 anos (26-27) - e que ficou conhecido como a hipótese “diet-heart” (28). As evidências experimentais baseavam-se na produção de lesões gordurosas em paredes vasculares em animais alimentados com dietas ricas em gorduras. Os primeiros achados neste sentido

havia sido relatados entre 1909 e 1913 por Ignatowski, Anitschkow e Chalатов (29), que, ao pesquisarem a relação entre dieta e envelhecimento, produziram inadvertidamente lesões da aterosclerose em coelhos, ao alimentá-los com produtos ricos em colesterol. Estes resultados foram reproduzidos em outros animais na década de 50 nos EUA (26). A evidência clínica decorria da observação de que pacientes com infarto do miocárdio tendiam a apresentar níveis elevados de lipídios no sangue (26). Já as evidências epidemiológicas em favor de uma cadeia causal unindo dieta rica em gorduras, hipercolesterolemia e DIC viriam principalmente de dois grandes estudos: o Framingham Heart Study (30) – que estudou prospectivamente a associação entre diferentes fatores constitucionais e ambientais e o desenvolvimento da DIC em uma coorte populacional de residentes em Framingham, e o estudo Seven Countries, coordenado por Ancel Keys, que comparou transversalmente a associação entre disponibilidade de gordura animal na dieta e mortalidade por doença cardiovascular entre países. Estes estudos sugeriam, respectivamente, uma correlação entre o nível sérico do colesterol e a incidência subsequente de cardiopatia isquêmica dentro de uma dada população (31), e uma associação entre a proporção de gorduras na dieta e a mortalidade por doenças do coração entre diferentes populações (32).

A hipótese trombótica, historicamente associada a Von Rokitansky (33), propunha o trombo mural como o evento inicial primário na formação da lesão aterosclerótica, sendo os depósitos gordurosos apenas um desenvolvimento secundário da lesão (26). Seus defensores argumentavam, com base em registros históricos de estudos anatomopatológicos, que enquanto a mortalidade por doença coronariana aumentava, a frequência e severidade do conteúdo lipídico das lesões diminuía ao longo do tempo (9). Sugeriam que o componente luminal da doença, ou seja, o trombo, e não a frequência da placa aterosclerótica, determinava a frequência da doença clínica (9,26) . Questionavam também a extrapolação feita a partir de experimentos dietéticos em animais, que utilizavam doses de colesterol muito superiores às usuais e causavam lesões que não reproduziam o

componente trombótico da aterosclerose humana(26) . E ainda, com relação à evidência epidemiológica, enfatizavam a falência consistente da epidemiologia em demonstrar, dentro de um mesmo grupo populacional, uma associação entre a ingestão de gordura pelos indivíduos e o desenvolvimento de hipercolesterolemia ou a incidência de doença coronariana (26). Conforme Taubes (27), os estudos financiados pelo National Institute of Health, dos EUA, com a finalidade de responder definitivamente a esta questão, e publicados no início da década de 80 (34-38), “não produziram evidências convincentes de que quem comesse menos gordura viveria mais ou teria menos ataques do coração”.

#### **I.2.4. Paradigmas em transição: Degeneração ou Inflamação?**

A inesperada queda na mortalidade por DIC, detectada no início da década de 70 mas que teria iniciado em 1968, abre uma brecha no paradigma da degeneração, que permite a formulação de novas hipóteses relativas à etiopatogenia da aterosclerose.

Em 1974 Russel Ross, trabalhando com um modelo experimental de lesão endotelial por balonete, identificou pela primeira vez um fator de crescimento celular - o “*Platelet Derived Growth Factor*”, ou PDGF - e em 1976 Ross and Glomset (39-40) publicam a primeira versão da “Hipótese de Resposta à Injúria”, para a etiopatogenia da aterosclerose. Suas observações experimentais sugeriam que a lesão endotelial seria o estímulo inicial para o estabelecimento da placa aterosclerótica. A agregação plaquetária ao endotélio lesionado desencadearia, via a liberação de PDGF, a migração de células musculares lisas da média para a íntima, seguida por sua transformação nas células espumosas características das estrias gordurosas observadas nas fases iniciais da aterosclerose.

A incorporação de mecanismos celulares também acontece na atualização da hipótese lipídica clássica. Conforme revisão publicada por Schwartz et al. (41), embora a implicação de macrófagos na patogênese da aterosclerose tenha sido articulada explicitamente pela primeira vez no final da década de 50, o interesse por esta associação

reemergiu apenas em 1979, e cresceu possivelmente motivado pela identificação, naquele ano, de um receptor (42) no macrófago - mais tarde denominado “*scavenger*” - que mediaría a captação e a degradação da LDL-modificada - e que poderia ser o mecanismo que levaria à formação das células espumosas, inicialmente consideradas derivarem primordialmente das células musculares lisas.

O período entre 1975-1990 foi fecundo na identificação de fatores de crescimento e hormônios celulares (43) e de seu papel fundamental na comunicação (*cross-talk*) entre as diversas linhagens celulares envolvidas na maturação da placa aterosclerótica (44), o que levou à nova rodada de atualização das hipóteses causais.

Na versão atualizada da Hipótese de Resposta à Injúria publicada por Ross em 1986 (45), o mecanismo de resposta à injúria englobaria a migração e proliferação celular, estimuladas por uma rede de interações celulares mediadas por moléculas de adesão, citocinas e fatores de crescimento celular produzidas por macrófagos, plaquetas, células musculares lisas, linfócitos T e células endoteliais, e que resultariam na progressão da lesão desencadeada pela ‘injúria’ inicial. A evidência anatomo-patológica de que não era necessário ocorrer desnudamento endotelial precedendo as etapas iniciais da aterosclerose levou a que Ross, nesta nova versão, ampliasse o leque de possibilidades causais associados à “disfunção” endotelial inicial, para incluir, além das lesões de origem mecânica, as infecções, as reações imunológicas, mas principalmente a hiperlipidemia, “reconciliando a hipótese de ‘resposta à injúria’ com a hipótese de ‘infiltração lipídica’ numa teoria unificada (46)”. Da mesma forma, Steinberg e Witzum(46), ao apresentarem uma atualização da hipótese da infiltração lipídica em 1990 - conhecida como hipótese da “LDL-oxidada” - concedem ao mecanismo de resposta à injúria a progressão da lesão que, conforme os autores, seria iniciada por infiltração da íntima por LDL plasmático, posterior oxidação deste LDL e internalização do LDL-oxidado pelos monócitos/macrófagos dando origem às “*foam-cells*”.

Mais recentemente, outra forma modificada do LDL tem sido implicada na aterogênese: o LDL-desializado. O sangue de pacientes com aterosclerose coronariana conteria uma fração maior de LDL-desializado, com características diferentes das do LDL de indivíduos livres de aterosclerose, entre elas a indução ao acúmulo de lipídios em células da íntima arterial (47). Aparentemente, esta fração corresponderia ao LDL “*small dense*”, carregado negativamente, também descrito em associação à síndrome de resistência à insulina (48).

Embora os lipídios tenham-se mantido como os fatores causais mais consistentemente associados à aterosclerose durante todo este período, o conceito de degenerescência que prevalecia até os anos 70 já havia sido superado no início da década de 90 (49). As características presentes na placa aterosclerótica - infiltrado linfo-monocitário, esclerose conjuntiva, proliferação vascular e proliferação celular - apontavam agora para a inflamação como “*a melhor síntese de todos os conhecimentos acumulados sobre as características morfológicas e bioquímicas das placas ateroscleróticas (49)*”. Segundo Ross, “*O processo [aterosclerótico], .. em circunstâncias normais, seria uma resposta protetora a insultos ao endotélio e às células musculares lisas da parede arterial [...] As lesões avançadas da aterosclerose, que quando excessivas tornam-se doença e que podem ocluir a artéria em questão, resultam de uma resposta inflamatória-fibroproliferativa excessiva a numerosas formas de insulto (50).*”

O consenso obtido com relação ao papel da inflamação no processo de desenvolvimento da aterosclerose permitiu que fosse recuperada, de uma aula de patologia celular proferida por Rudolf Virchow em 1858 em Berlim sob o título “Afecções ateromatosas das artérias”, a seguinte descrição anátomo-patológica:

*“ one who knows that the fatty degeneration is here only a termination, and that the process is really a formative one, inasmuch as it begins with a proliferation – he can readily imagine the possibility of another termination, namely ossification... As soon as*

*the real ossification exists, we cannot help regarding the process as one which has arisen out of irritation of the parts stimulating them to new, formative actins; so far therefore it comes under our ideas of inflammation, or at least of those processes which are extremely nearly allied to inflammation (51)".*

Conforme Capron (49), este retorno à Virchow teria o mérito de “reconciliar as hipóteses antagonistas clássicas – a lipídica e a trombótica – e apaziguar as discussões estéreis de seus partidários ”.

### **I.2.5. Teorias causais para a aterogênese sob o paradigma da Inflamação**

Se já é possível falar em consenso com relação ao mecanismo genérico de resposta à injúria envolvido na progressão da aterosclerose, o mesmo não se pode dizer sobre os potenciais agentes nocivos responsáveis por sua iniciação. A hipótese da “resposta à injúria” deixa em aberto esta questão. Seria a hipercolesterolemia, como proposto por Steinberg e Witztum(46), suficiente para provocar a aderência de monócitos ao endotélio? Serão os distúrbios de fluxo - como é usualmente proposto (52-53) – uma explicação adequada para a localização das lesões? E que lugar teria a reação imunológica no processo da aterosclerose?

Embora tenham havido relatos esparsos na literatura descrevendo a presença de agregados de linfócitos na túnica adventícia de artérias doentes desde o início do século (41), a investigação da mediação imunológica no processo inflamatório em desenvolvimento na placa foi surpreendentemente negligenciada até há poucos anos. Os antígenos que poderiam desencadear esta reação permanecem indefinidos (54). Tanto auto-anticorpos como as alças reguladoras dependentes de citocinas (IL-1, TNF, IL-6 e gama-interferon) observadas na placa aterosclerótica - características de uma resposta imune do tipo celular - poderiam iniciar e/ou manter a reação inflamatória (54).



Em 1995, Wick e cols. (55) propuseram como mecanismo patogênico alternativo o por eles denominado de Hipótese da Reação Imunológica Primária. “Estressores” agindo sobre o endotélio, induziriam uma reação imunológica mediada por anticorpos e linfócitos T reativos a proteínas “*heat shock*” (HSP) que, por sua vez, resultaria no processo inflamatório observado nas placas ateroscleróticas. A HSP 60 é uma proteína facilmente demonstrável no citoplasma de células estressadas por altas temperaturas, infecções, radicais livres, estresse mecânico, etc., cuja função seria proteger as proteínas celulares da desnaturação por agressões micro-ambientais. Os autores sugerem que tanto a Hipótese de Resposta à Injúria como a Hipótese da LDL-modificada podem ser integradas dentro da Hipótese da Reação Imunológica Primária. A LDL-ox poderia ser o estressor endotelial que desencadearia a reação imunológica mediada pelas HSP. Como alternativa à mediação das HSP, a progressão de lesões ateroscleróticas poderia ocorrer por resposta auto-imune dirigida diretamente à LDL oxidada (54) .

Outra possibilidade a ser considerada seria, tal como ocorre na esclerose múltipla (56), uma reação imunológica cruzada contra agentes infecciosos, na qual anticorpos e/ou células T produzidas originalmente contra epítopos destes agentes, atacassem também proteínas constitutivas do “*self*”, resultando em uma reação auto-imune secundária. No caso da Esclerose Múltipla, um grupo de patógenos relativamente comuns, em particular das famílias herpesvirus, influenza e papilomavirus, teriam epítopos similares aos da Proteína Básica da Mielina (MBP), podendo, cada um, independentemente iniciar o processo auto-imune, o que explicaria porque é tão difícil ligar a imunopatogênese da MS a um único agente (56) . Seria possível imaginar que uma resposta imunológica cruzada envolvendo epítopos de agentes infecciosos e estruturas moleculares ancoradas no endotélio pudesse iniciar uma reação inflamatória e dar origem à placa aterosclerótica.

### **I.2.5.1. A hipótese infecciosa**

A primeira sugestão sobre a possível associação entre infecção e aterosclerose costuma ser referida a achados de Benditt e Benditt (57) em 1973, sugerindo que o aumento da celularidade observado na íntima arterial seria devido a um processo de proliferação monoclonal, e, por decorrência, que agentes químicos ou infecciosos mutagênicos seriam melhores candidatos à iniciação da aterosclerose comparados a uma injúria física inespecífica. Como historiam Cunningham e Pasternak (58) , nos anos seguintes acumularam-se evidências experimentais implicando diferentes vírus do tipo herpes nas alterações observadas no conteúdo e composição de lipídios das células musculares lisas arteriais após infecção:

1. em 1978, Fabricant e cols. (59) relataram que a infecção de galinhas com “*Marek’s disease virus*” (MDV) produzia lesões vasculares que se assemelhavam muito à aterosclerose humana;
2. em 1979, Minick e cols. (60), aprofundando o trabalho anterior, referiram que, dos animais infectados, 14% apresentavam lesões macroscópicas e 65% lesões microscópicas da aterosclerose, contra 0% do grupo controle. A introdução de dieta rica em colesterol aumentava a prevalência das lesões macroscópicas e alterava seu caráter, de proliferativas para proliferativas-gordurosas e gordurosas. Além disto demonstraram a presença de MDV em células musculares lisas vasculares, na ausência de lesão endotelial;
3. em 1981, Fabricant e cols.(61) demonstraram que a infecção de células musculares lisas de aorta de galinhas mantidas em cultura resultava em aumento de seu conteúdo em colesterol, ácidos graxos, triglicerídios e lipídios totais, em comparação a células não infectadas;
4. em 1986, Hajjar e cols.(62) reproduziram estes achados em preparações obtidas *in vivo*, de tecidos aórticos de galinhas infectadas e não infectadas. E o mais surpreendente,

demonstraram que a vacinação dos animais com HVT (um vírus herpes de perus que permite uma imunização efetiva contra o MDV) prevenia estas alterações lipídicas da parede aórtica;

5. no mesmo ano Hajjar e cols.(63) reproduziam as alterações no conteúdo e distribuição de lipídios obtidas pela infecção de células de galinha com MDV, utilizando células musculares lisas de artérias humanas e virus Herpes humano.

Estes estudos tiveram pouca repercussão à época. A discussão sobre uma possível etiologia infecciosa para a aterosclerose foi retomada apenas na metade da década de 90 (64-66) já então tendo com o suporte a teoria da resposta-à-injúria (58) , após a identificação da *Chlamydia pneumoniae* em 1986 (67), e a publicação de sucessivos estudos sugerindo a associação entre infecção por *Chlamydia pneumoniae* (68-71) - e por *Helicobacter pylori* (72) - e aterosclerose coronariana.

Da mesma forma que o estabelecimento de um novo consenso sobre o papel da inflamação na aterogênese permitiu que se recuperasse do passado a descrição de Virchow, compatível então com aquela interpretação, o reconhecimento mais amplo de um possível papel para a infecção na etiopatogenia da aterosclerose também permitiu que fossem trazidas à luz (64,66) antigas publicações sobre o assunto (73-75). Como relata Nieto (66), ao redor da virada para o século XX, o debate em torno de uma associação entre “esclerose ou degeneração arterial” e infecções sistêmicas estava bem vivo. Patologistas franceses e alemães realizavam extensos estudos experimentais sobre o tema, e clínicos e patologistas norte-americanos também pesquisavam a questão. William Osler, freqüentemente citado como o primeiro a postular esta hipótese (66) , teria listado a existência de “*four great factors in the causation of atherosclerosis – the normal wear and tear of life, the acute infections, the intoxications [including smoking, diabetes mellitus, obesity], and those combinations of circumstances which keep the blood tension high* (76 ,p.430, *apud Nieto*)” . A descrição etiológica da Angina do Peito, numa publicação francesa

de 1921 sobre “Doenças do Coração e das Artérias (77)”, considerava como causas da angina de origem cardíaca a inflamação da aorta (aortite) e/ou das coronárias (coronarite) causadas por doenças infecciosas agudas como o reumatismo ou a gripe, infecções crônicas como a sífilis, ou intoxicações crônicas como a gota, o diabetes e a uremia

Dois simpósios sobre Infecção e Aterosclerose, um nos EUA (78) e o outro na Europa (79), foram realizados em 1998. As conclusões foram no sentido de reconhecer as evidências em favor de um papel para a infecção, particularmente com relação aos vírus herpes e à *Chlamydia pneumoniae*, no desenvolvimento da aterosclerose, mas não como causa suficiente. A infecção atuaria em concerto com os fatores de risco estabelecidos (hereditariedade, fumo, dieta, hipertensão, etc..), não estando claro se ela iniciaria ou exacerbaria uma lesão já existente. Também não estaria claro se o efeito seria por ação direta do patógeno ou por auto-imunidade mediada por reações cruzadas entre o patógeno e o hospedeiro. A autora apresentou na França, em “poster” (80), a hipótese que, como veremos adiante, é objeto desta tese.

### **I.3. Considerações sobre método**

Embora a possibilidade de associação entre infecção e aterosclerose venha sendo eventualmente proposta há mais de um século, e, com maior ênfase, na última década, focos de resistência a esta hipótese prevalecem. Fleck (81) atribuiria esta resistência “à *tenacidade dos sistemas fechados de opinião*” e sua importância no processo de cognição. O que já é sabido influencia o *método* particular de obtenção de conhecimento; e o conhecimento, em troca, amplia, renova e dá novo sentido ao que já é sabido. Segundo ele, “*In science, just as in art and in life, only that which is true to culture is true to nature*(81, p.35)”.

#### **I.3.1. Raciocínio causal: dos indivíduos para a população?**

A mortalidade por DIC foi, provavelmente, o fenômeno de maior impacto sobre a saúde em todo o mundo ocidental no século XX. Como um fenômeno mundial, a emergência da DIC deveria ter um determinante comum em todo o mundo. Comparações internacionais de taxas e tendências na mortalidade confirmam a ocorrência generalizada, embora demonstrem diferenças nacionais que sugerem modulação por particularidades dos países. Apesar de ser um fenômeno de massas mundial, tentativas de explicá-lo tem repousado principalmente em condições percebidas como fatores de risco para casos individuais – hipercolesterolemia, hipertensão arterial e fumo – que seriam explicados, a nível agregado (populacional) pela categoria “estilo-de-vida” (afluência, sedentarismo, consumo de alimentos ricos em gorduras, consumo de cigarros), que, por sua vez, deveria explicar tanto a emergência do fenômeno como a variação internacional em sua expressão (82) . Modelar variações na ocorrência populacional (taxa de mortalidade) a partir de variações na exposição a fatores de risco identificados através de estudos centrados em indivíduos, pode reconhecidamente resultar em vieses de interpretação (82).

### I.3.2. ...ou da população para os indivíduos?

#### A epidemiologia como método de investigação causal de epidemias

Privilegiada pela *momento histórico* da observação – que possibilitou a apreensão de toda a curva de tendência temporal da evolução da mortalidade por DIC, e não, principalmente, de sua fase ascendente – e *à luz da hipótese infecciosa*, a autora irá re-examinar a epidemiologia da mortalidade por DIC, descrita anteriormente, a partir de uma re-interpretação daquela ocorrência temporal como correspondendo a uma verdadeira *curva epidêmica*.

Esta re-interpretação conceitual das evidências empíricas permite novo tipo de perguntas, e requer a adoção de metodologia de investigação adequada a este novo objeto de estudo: *a epidemia* - do que deve resultar a produção de um conhecimento distinto.

Conforme nos lembra Kuller (1991), a filosofia de ensino dos Departamentos de Epidemiologia na década de 60 enfatizava que a *“Epidemiologia era o estudo das epidemias em relação a tempo, lugar e pessoa, embasado em forte raciocínio biológico (83)”*. A interpretação da ocorrência de DIC como uma curva epidêmica, recomenda a utilização de metodologia epidemiológica clássica, que investiga o fenômeno como uma unidade de ocorrência (epidemia) e não como o resultado numérico da soma dos casos individuais ao longo de um período de observação.

Como é sempre o caso com curvas epidêmicas, a curva de mortalidade por DIC deve estar descrevendo não apenas a exposição, mas a interação entre exposição e variação temporal no número de suscetíveis na população. Determinantes genéticos de suscetibilidade individual não poderiam variar tanto em período tão pequeno de tempo. Nem poderiam explicar outra epidemia de DIC ocorrendo há apenas dois séculos. Por outro lado, há relatos na literatura de variações temporais na ocorrência de suscetibilidade individual (a câncer, por exemplo) após exposição da população a um evento com impacto ambiental de grande repercussão (a bomba atômica). Sabe-se que algumas infecções

podem afetar a resposta individual a infecções subsequentes (84) bem como a outras exposições ambientais (85). Galinhas inoculadas com vírus herpes (MDV) apresentam aumento significativo nos níveis séricos de colesterol, com e sem suplementação dietética (86). Apresentam também acumulação de esteres de colesterol em endotélio vascular (62,86). Alteração semelhante no metabolismo e acumulação celular de colesterol também foi demonstrada após infecção com vírus herpes humano (63). Então, em princípio, a ocorrência maciça de uma doença infecciosa poderia ter levado à emergência da epidemia de DIC, mesmo se outras exposições ambientais (dieta, p. ex.) não tivessem variado no tempo, apenas pela modificação na ocorrência da suscetibilidade a seus efeitos.

#### **I.4. Hipótese**

Se a ascensão e queda da mortalidade por DIC no século XX foi, de fato, uma epidemia, caberia perguntar: poderia ter havido uma epidemia anterior?

##### **I.4.1. Evidência histórica em favor de outra epidemia de ‘*Angina Pectoris*’ ocorrendo na Grã-Bretanha, na virada do Século XIX (87)**

Artigos publicados por F.A.Willius em 1945-46 (88-91) , constituem excelente fonte sobre o desenvolvimento histórico do conhecimento relacionado à circulação coronária e suas doenças. Conforme Willius, embora tenham havido menções anteriores à síndrome anginosa na literatura, sua descrição clássica, e a mais completa, foi a publicada por William Heberden (1710-1801) de Londres, em 1772 (92). Quando Heberden deu à condição que estava descrevendo o nome ‘*Angina Pectoris*’, ele não sabia que a síndrome estava associada à doença do coração:

*“But there is a disorder of the breast marked with strong and peculiar symptoms, considerable for the kind of danger belonging to it, and not extremely rare, which deserves to be mentioned more at length. The seat of it and the sense of strangling*

*and anxiety with which it is attended, may make it not improperly be called angina pectoris. Those who are afflicted with it, are seized while they are walking (more especially if it be uphill, and soon after eating) with a painful and most disagreeable sensation in the breast, which seems as if it would extinguish life if it were to increase or to continue; but the moment they stand still, all this uneasiness vanishes. In all other respects, the patients are, at the beginning of this disorder, perfectly well, and in particular have no shortness of breath, from which it is totally different. The pain is sometimes situated in the upper part, sometimes in the middle, sometimes in the bottom of the os sterni, and often more inclined to the left than to the right side. It likewise very frequently extends from the breast to the middle of the left arm. The pulse is, at least sometimes, not disturbed by this pain, as I have had opportunities of observing by feeling the pulse during the paroxysm. Males are more liable to this disorder, especially such as have past their fiftieth year. After it has continued a year or more, it will not cease so instantaneously upon standing still; and it will come on not only when the persons are walking, but when they are lying down, especially if they lie on the left side and oblige them to rise out of their beds. In some inveterated cases it has been brought on by the motion of a horse, or a carriage, and even by swallowing, coughing, going to stool or speaking, or any disturbance of mind.”*

*“Such is the most usual appearance of this disease; but some varieties may be met with. Some have been seized while they were standing still, or sitting, also upon first waking out of sleep; and the pain sometimes reaches to the right arm, as well as to the left and even down to the hands, but this is uncommon; in a very few instances the arm has at the same time been numbed and swelled. In one or two persons the pain has lasted some hours or even days; but this happened when the complaint has been of long standing, and thoroughly rooted in the constitution; once only the very first attack continued the whole night.”*



*“I have seen nearly a hundred people under this disorder, of which number there have been three women and one boy twelve years old. All the rest were men near or past the fiftieth year of their age...”*

*“...The termination of the angina pectoris is remarkable. For if no accident interferes, but the disease goes on to its height, the patients all suddenly fall down, and perish almost immediately. Of which indeed their frequent faintness, and sensations as if all the powers of life were failing, afford no obscure intimation.”*

É evidente, na citação acima, que a Angina Pectoris não era uma síndrome rara à época de sua descrição, embora possa-se depreender das palavras de Calleb Parry em 1799 (93) , que fosse uma condição emergente:

*“Although there can be no reason to doubt that mankind must have been subjected to this disorder from the remotest antiquity, it is somewhat extraordinary that so many ages have elapsed without any notice of its existence either as a distinct disease, or as a variety of one commonly known.”*

Antes do final do século XVIII, John Hunter (1728-1793), Eduard Jenner (1749-1823) e Calleb Parry (1755-1822) já haviam estabelecido, através de exames post-mortem em pacientes que haviam manifestado Angina Pectoris, a relação do quadro clínico com endurecimento e espessamento das artérias coronárias (90). Em 1809, a existência desta entidade clínico-patológica e sua ocorrência na população britânica eram inequívocas, como pode-se depreender da citação extraída de um texto de Allan Burns (1781-1813):

*“To Drs. Heberden, Jenner and Parry we owe the most of our information respecting this most fatal complaint... (which the latter) has incontrovertibly proved to originate from some organic laesion of the nutrient vessels of the heart (94)”.*

Assim sendo, é surpreendente que ao longo do século XIX pareça ter se instalado uma confusão crescente com relação à doença orgânica subjacente à síndrome anginosa e até mesmo às manifestações clínicas abarcadas por tal denominação:

*“In about 50 per cent of cases of angina there were no organic disease and in the remaining cases, a great variety of cardiac and especially aortic lesions occurred (Forbes, 1845) (95)”*

*“The group of symptoms known from the date of their earliest scientific analysis by the term angina pectoris, forms a variable picture produced by morbid conditions scarcely if at all less diverse in character than the clinical appearances (Gibson, 1898) (96)”*

Num período de aproximadamente 70 anos (1772-1845) a Angina Pectoris passou de uma síndrome clínica com características muito específicas (1772) à condição de nova entidade clínico-patológica perfeitamente caracterizada (1800), e então paulatinamente desapareceu (1845), para re-emergir com novo ímpeto no início do século XX.

#### **I.4.2. Hipótese causal para a emergência (ou re-emergência) da DIC no século XX**

O tamanho da epidemia de DIC no século XX, sua abrangência internacional, a possibilidade de uma origem infecciosa e a necessária correlação temporal entre causa e efeito, sugerem a Pandemia de Influenza de 1918 como uma forte candidata à causa desencadeante da epidemia de DIC no século XX.

Uma epidemia anterior de DIC na Grã-Bretanha, sucedendo grandes epidemias de Influenza registradas em 1732, 1737 e 1760 (97, p.295), reforça a hipótese causal proposta acima.

#### **I.4.3. Sobre a Influenza**

Durante séculos, observadores têm descrito a influenza em termos de seu efeito epidêmico característico em populações humanas. O primeiro registro de sua provável ocorrência tem sido atribuído a Hipócrates, no ano 400 A.C. (98). Desde o século XVI foram descritas pelo menos 31 pandemias – ou seja, epidemias globais (99). Destas, três

ocorreram no século XX, sendo a maior delas a Pandemia de 1918-19 (97), que matou pelo menos 20 milhões de pessoas (mas possivelmente 40 milhões) no mundo todo, 600 mil nos EUA, e pelo menos 30 mil no Brasil (100).

#### **I.4.3.1. Os vírus Influenza**

Os vírus influenza são classificados em três tipos principais, A, B e C, com base em características antigênicas da nucleoproteína (NP) e da proteína matriz (M) virais (101). Os tipos B e C não variam de forma significativa dentro de cada tipo, e não são sub-classificados. Já os vírus do tipo A são sub-classificados com base em determinantes antigênicos de suas duas glicoproteínas de superfície: a hemaglutinina (H) e a neuraminidase (N) (101). A hemaglutinina reconhece moléculas de ácido siálico como receptores para sua fixação celular. A neuraminidase (sialidase) remove ácidos siálicos de glico-conjugados, e acredita-se que auxilie a penetração viral no revestimento mucoso do trato respiratório superior. Além disto, teria um papel, após a replicação, na liberação dos novos virions, da célula infectada (101-102).

Vírus influenza do tipo A tem grande propensão a sofrerem variações antigênicas. Variações menores são usualmente denominadas “*antigenic drifts*”. Elas emergem de mutações pontuais que podem envolver apenas a hemaglutinina, ou ambas, a hemaglutinina e a neuraminidase. Já as variações maiores são denominadas “*antigenic shifts*”, e provavelmente decorrem de recombinação de segmentos de genoma entre diferentes cepas. Estas modificações maiores são as responsáveis pelas pandemias, e estão restritas a vírus do tipo A (101). A pouca ou nenhuma imunidade populacional ao novo antígeno de superfície permite ao vírus espalhar-se rapidamente, resultando em aumento de morbidade e excesso de mortalidade (103). No século XX, o sub-tipo H1 causou a pandemia de 1918, o H2, a pandemia de 1957 e o H3 a de 1968 (103). O sub-tipo H1 re-emergiu em 1976, mas, contrariamente às expectativas (104-105), não causou outra grande pandemia. Desde 1976

os sub-tipos H1 e H3 tem co-circulado, causando epidemias localizadas, nos EUA (106-107) e em todo o mundo (107).

#### **I.4.3.2. A Influenza nos EUA, no início do século XX**

Entre Março e Dezembro de 1918, 500.000 norte-americanos morreram e aproximadamente 20 milhões adoeceram, vítimas da Influenza. Dos casos iniciais registrados nos EUA em Março de 1918, a epidemia espalhou-se pela Europa, auxiliada pelo enorme movimentação de tropas ocorrendo durante a Primeira Guerra Mundial, e retornou com força letal ampliada aos EUA em Outubro de 1918 (99).

Também no início de outubro de 1918, uma nova doença apareceu em porcos do meio-oeste americano e em poucos meses causou milhares de mortes nos rebanhos. J.S.Koen teria sido o primeiro a reconhecer a coincidência da prevalência de uma condição semelhante à influenza, em suínos, simultânea à ocorrência de influenza em humanos, sugerindo serem ambas a mesma doença (108). O vírus da influenza suíno foi isolado em 1930 por Shope (109). O vírus da influenza humana foi isolado três anos mais tarde, por Smith e cols. (110). A similaridade entre eles, a coincidência temporal e a presença de anticorpos anti-vírus suíno em indivíduos nascidos antes de 1918 sugeria que o vírus suíno fosse a forma sobrevivente ou o protótipo do vírus da pandemia de influenza humana de 1918 (108). Em 1953, Davenport e cols. (111) reforçaram esta hipótese, demonstrando, com base em padrões de anticorpos idade-específicos, que um vírus muito semelhante ao vírus suíno apareceu em humanos pela primeira vez em 1918 e circulou por outros 8 a 10 anos.

Os vírus influenza do tipo A circulando de 1918 a 1957 mostraram-se, retrospectivamente, muito semelhantes em termos sorológicos, bioquímicos, ecológicos e com relação a seu impacto na saúde pública (105), sendo todos classificados hoje como pertencendo ao sub-tipo H1. Embora a atividade da influenza (medida pelo excesso anual de mortes associados à doença) tenha declinado continuamente durante o período 1918-57,

8 epidemias foram registradas no período 1920-33, algumas, possivelmente por variantes do vírus da pandemia de 1918. No período de 1933–57 foram registradas 9 epidemias por vírus A tipo H1 e 5 epidemias por vírus B (105). O total de excesso de óbitos associado às epidemias de influenza no período interpandêmico de 1920-57 nos EUA praticamente igualou o excesso associado à Pandemia de 1918-19 (611.000 X 675.000) (105).

O excesso de óbitos relacionado a epidemias de influenza no período interpandêmico variou consideravelmente entre as diversas divisões geográficas dos EUA. As regiões “*Northeast*”, “*Mid-Atlantic*” e “*East North Central*” sofreram maior impacto da influenza antes de 1930. As regiões “*South-Atlantic*” e “*West South Central*” mostraram uma ocorrência mais uniforme de excesso de óbitos em todo o período. Já as regiões “*Mountain*”, “*East South Central*” e “*West North Central*” tiveram excesso de mortes por influenza progressivamente mais concentrado em direção à segunda metade do período interpandêmico. E a região “*Pacific*”, embora com padrão similar à região “*Mountain*”, apresentou taxas de mortalidade muito baixas em todo o período (112). Os dados baseiam-se num sistema de vigilância com base em registros realizados em 95 *idades* das 9 Divisões dos EUA. Assim sendo, não há como estabelecer a tendência da ocorrência de epidemias de influenza em áreas rurais (113). No entanto, é possível que os suínos tenham desempenhado um papel na persistência da circulação do vírus em humanos (114) especialmente em áreas não metropolitanas de estados do meio-oeste e sul (115).

#### **I.4.3.3. A doutrina do pecado antigênico original**

A sero-arqueologia da influenza – ou seja, a tentativa de reconstituir a sequência histórica em que emergiram os diferentes sub-tipos de vírus influenza do tipo A através da sorologia – baseia-se na denominada “doutrina do pecado antigênico original” (“*doctrine of original antigenic sin*”) (116). “*A doutrina estabelece que a primeira infecção com um vírus influenza deixa uma impressão imunológica definitiva, para toda a vida, reforçada por*

*infecções subsequentes com cepas antigénicamente relacionadas. Assim sendo, os mais altos títulos de anticorpos em um grupo etário refletiriam os antígenos dominantes nos vírus responsáveis pelas infecções na infância do grupo. O reforço de anticorpos, ou respostas anamnésicas heterólogas dentro de um sub-tipo, depende da existência de determinantes antigénicos que possibilitem reação cruzada entre a hemaglutinina estimuladora secundária e a hemaglutinina responsável pela resposta original (108)".*

Como veremos no artigo a seguir (Parte II), a doutrina do pecado antigénico original poderia fornecer a base teórica para a progressão do processo de aterosclerose coronariana, em indivíduos imunologicamente “iniciados” pela resposta imunológica original ao vírus H1,

### **I.5. Objetivos**

Este estudo visa apresentar evidências ecológicas em suporte da hipótese de associação entre a Pandemia de Influenza de 1918 e o aumento na mortalidade por DIC registrado no século XX e discutir a plausibilidade biológica desta hipótese frente ao estado da arte na imunologia e da biologia-molecular.

**FIM DA PARTE I**

## Referências Bibliográficas da Parte I

1. Lederberg J. Infectious history. *Science* 2000; 288(5464):287-93.
2. Nesse RM, Williams GC. Evolution and the origins of Disease. *Sci Am* 1998; 279: 86-93.
3. Warren JR, Marshal B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium inactive chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1:1273-5.
4. Allen P. What's the story H pylory? *Lancet* 2001; 357: 694.
5. Lorber B. Are all diseases infectious? *Ann Int Med* 1996;125:844-51.
6. Shryock RH. The development of modern medicine. An interpretation of the social and scientific factors involved. The University of Wisconsin Press, Ltd. 1979.
7. Armstrong GL, Conn LA, Pinner RW. Trends in infectious diseases mortality in the United States during the 20<sup>th</sup> Century. *JAMA* 1999; 281:61-6.
8. Stocks P. Fifty years of progress as shown by vital statistics. *BMJ* 1950. Jan 7, 54-56.
9. Morris, JN. Uses of epidemiology. E&S Livingstone Ltd. Edinburgh and London. 1964.
10. Stallones R. The rise and fall in ischemic heart disease mortality. *Sci Am* 1980;243-49.
11. World Health Organization warns heart disease are becoming mankind's greatest epidemic. *Bull Int Soc Cardiol* 1969; (1):1.
12. Kannel, WB. The role of cholesterol in coronary atherogenesis. *Med Clinics North Am* 1974;58:363-379.
13. Steinberg D: progress, prospects and provender. *Circulation* 1970; 41:723-728.
14. Ravenholdt RT. Historical epidemiology and grid analysis of epidemiologic data. *Am J Public Health* 1966; 52: 776-90.
15. Levy RI. The decline in cardiovascular disease mortality. *Ann Rev Public Health* 1981;2:49-70.

16. Sytkowski PA, D'Agostino RB, Belanger A, Kannel WB. Sex and time trends in cardiovascular disease incidence and mortality: The Framingham Heart Study. *Am J Epidemiol* 1996; 143:338-50.
17. Higgins M, Thom T. Trends in CHD in the United States *Int J Epidemiol* 1989; 18: S58-66.
18. Gillium RF. Coronary heart disease in black population. *Am Heart J* 1982; 104: 839-51.
19. Uemura K, Pisa Z. Trends in cardiovascular disease mortality in industrialized countries since 1950. *World Health Stat Quart* 1988; 41:155-78.
20. Thom TJ. International mortality from heart disease: rates and trends. *Int J Epidemiol* 1989; 18: S20-S28.
21. Wing SB, Hayes C, Heiss G, John E, Knowles M, Riggan W, Tyroler HA. Geographic variation in the onset of the decline of ischemic heart disease mortality in the United States. *Am J Publ Health* 1986;76:1404-8.
22. Borhani NO, Hecher HH. Recent changes in cardiovascular disease mortality in California. *Pub Health Rep* 1964; 79:147-60.
23. Winkelstein W. Selected aspects of the epidemiology of coronary heart disease. *Health News* 1961; 38:4-13.
24. Trends in ischemic heart disease mortality – United States, 1980-88. *MMWR* 1992; 41:548-556.
25. Beaglehole R. International trends in coronary heart disease mortality and incidence rates. *Journal of Cardiovascular Risk* 1999; 6:63-68.
26. Marmot M. Facts, opinions and affaires du coeur. *Am J epidemiol* 1976;103:519-526.
27. Taubes,G. The soft science of dietary fat. *Science* 2001;291:2536-2545.
28. Mann, GV. Diet-heart: end of an era. *The New Engl J Med* 1977; 297:644-9.
29. Hoeg JM, Klimov,AN. Cholesterol and atherosclerosis: "The new is the old rediscovered". *Am J Cardiol* 1993;72:1071-2.



30. Dawber TR, Meadors GF, Moore FEJ. Epidemiologic approaches to heart disease: the Framingham study. *Am J Public Health* 1951;41:279-286.
31. Castelli WP, Anderson K, Wilson PW, Levy D. Lipids and risk of coronary heart disease. The Framingham Study. *Ann Epidemiol* 1992;2:23-8.
32. Keys,A. Seven countries – a multivariate analysis of death and coronary heart disease. Cambridge, Massachussetts: Harvard University Press, 1980.
33. Rokitansky C von. A manual of pathological histology. Trans G Day, London New Sydneyham Society, 1852.
34. Reed DM, MacLean CJ, Hayashi T. Predictors of atherosclerosis in the Honolulu Heart Program. I. Biologic, dietary, and lifestyle characteristics. *Am J Epidemiol*. 1987 Aug;126:214-25.
35. Garcia-Palmieri MR, Sorlie P, Tillotson J, Costas R Jr, Cordero E, Rodriguez M. Relationship of dietary intake to subsequent coronary heart disease incidence: The Puerto Rico Heart Health Program.*Am J Clin Nutr*. 1980 Aug;33(8):1818-27.
36. Shekelle RB, Stamler J. Dietary cholesterol and ischaemic heart disease. *Lancet*. 1989 May 27;1(8648):1177-9.
37. Millen BE, Quatromoni PA. Nutritional research within the Framingham Heart Study. *J Nutr Health Aging*. 2001;5:139-43.
38. Kjelsberg MO, Cutler JA, Dolecek TA. Brief description of the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Clin Nutr*. 1997 Jan;65(1 Suppl):191S-195S.
39. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis. *N Engl J Med* 1976;296:369-77.
40. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis. *N Engl J Med* 1976;296:420-5.
41. Schwartz CJ, Valente AJ. The monocyte-macrophage in atherosclerosis: historical background and overview. In: Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Symposium on

- Atherosclerosis, Montréal, October 9-14, 1994. Woodford FP, Davignon J, Sniderman A (eds). Elsevier, Amsterdam, 1995:571-6.
42. Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, Brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low-density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979,76:333-337.
  43. Sporn MB, Roberts AB. Autocrine Secretion – 10 Years Later. *Ann Int Med* 1992;117:408-14.
  44. Mantovani A, Bussolino F, Dejana E. Cytokine regulation of endothelial cell function. *FASEB J* 1992;6:2591-9.
  45. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis – an update. *N Engl J Med* 1986;314:488-500.
  46. Steinberg D, Witztum JL. Lipoproteins and atherogenesis. Current concepts. *JAMA* 1990;264:3047-52.
  47. Tertov VV, Bittolo-Bom G, Sobenin IA, Cazzolato G, Orekhov AN, Avogaro P. Naturally occurring modified low density lipoproteins are similar if not identical: more electronegative and desialylated lipoprotein subfractions. *Exp Mol Pathol* 1995;62:1666-172.
  48. Galeano NF, Rumsey FC, Kwiterovich P Jr, Homme DP, Marcel Y, Milne R, Walsh T, Dechelbaum RJ. LDL particle size: effects on apoprotein B structure, receptor recognition and atherosclerosis. In: *Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Symposium on Atherosclerosis*, Montréal, October 9-14, 1994. Woodford FP, Davignon J, Sniderman A (eds). Elsevier, Amsterdam, 1995:91-94.
  49. Capron L. Mécanismes inflammatoires de l'athérosclérose: inférences pathogéniques et étiologiques. *Arch Mal Coeur* 1993;86:19-30.
  50. Ross. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362:801-9.

51. Virchow R. Cellular pathology as based upon physiological and pathological histology. Atheromatous affections of arteries. *Nutr Rev* 1989; 47:23-25.
52. Stehbens WE. The lipid hypothesis and the role of hemodynamics in atherogenesis. *Prog Cardiovasc Dis* 1990;33:119-136.
53. Glagov S, Bassiouni HS, Zarins CK, Giddens DP. Hemodynamics, modeling of the artery wall and atherosclerosis. In: *Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Symposium on Atherosclerosis*, Montréal, October 9-14, 1994. Woodford FP, Davignon J, Sniderman A (eds). Elsevier, Amsterdam, 1995.
54. Hansson GK, Stemme S. Immunity, inflammation and the role of T lymphocytes in atherosclerosis. In: *Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Symposium on Atherosclerosis*, Montréal, October 9-14, 1994. Woodford FP, Davignon J, Sniderman A (eds). Elsevier, Amsterdam, 1995: p.61-65.
55. Wick G, Schett G, Amberger A, Kleindienst R, Xu. Is atherosclerosis an immunologically mediated disease? *Immunol Today*, 1995; 16:27-33.
56. Wucherpfennig KW, Strominger JL. Molecular mimicry in T-cell mediated autoimmunity: viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein. *Cell* 1995;80:695-705.
57. Benditt EP, Benditt JM. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaque. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973;70:1753-6.
58. Cunningham MJ, Pasternak RC. The potential role of viruses in the pathogenesis of atherosclerosis [editorial]. *Circulation* 1988;77:964-66.
59. Fabricant CG, Fabrcant J, Litrenta MM, Minick CR. Virus-induced atherosclerosis. *J Exp Med* 1978; 148:335-340.
60. Minick CR, Fabricant CG, Fabricant J, Litrenta MM. Atherosclerosis induced by infection with a herpesvirus. *Am J Pathol* 1979; 96:673-706.

61. Fabricant CG, Hajjar DP, Minick CR, Fabricant J. Herpes infection enhances cholesterol and cholesteryl ester accumulation in cultured arterial smooth muscle cells. *Am J Pathol* 1981;105:176-83.
62. Hajjar DP, Fabricant CG, Minick CR, Fabricant J. Virus-induced atherosclerosis: herpesvirus infection alters aortic cholesterol metabolism and accumulation. *Am J Pathol* 1986;122:62-70.
63. Hajjar DP, Grant AJ. Human herpesvirus induces altered cholesterol metabolism and accumulation in human arterial smooth muscle cells. *Circulation* 1986;74(suppl II):1126.
64. Buja LM. Does atherosclerosis have an infectious etiology? [Editorial] *Circulation* 1996;94:872-3.
65. Capron L, Loire R. Passé, présent et avenir de l'infection artérielle. *Rev Prat (Paris)* 1994;44:906-10.
66. Nieto, FJ. Infections and atherosclerosis: new clues from an old hypothesis? *Am J Epidemiol* 1998; 148: 937-48.
67. Grayston JT, Kuo C, Wang SP, Altman J. A new *Chlamydia Psittaci* strain, TWAR, isolated in acute respiratory tract infections. *N Engl J Med* 1986;315:161-8.
68. Saikku P, Mattila K, Nieminen MS, Huttunen JK, Leinonen M, Ekman M, Makela PH, Valtonen V. Serological evidence of an association of a novel chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988; Oct 29:983-6.
69. Kuo CC, Shor A, Campbell LA, Fukushi H, Patton DL, Grayston JT. Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic lesions of coronary arteries. *J Infect Dis* 1993;167:841-9.

70. Melnick S, Shahar E, Folsom AR, Grayston JT, Sorlie PD, Wang SP, Szklo M. Past infection by *Chlamydia pneumoniae* strain TWAR and asymptomatic carotid atherosclerosis. *Am J Med* 1993; 95:499-504.
71. Ramirez JA and the *Chlamydia pneumoniae*/Atherosclerosis Study Group. Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from the coronary artery of a patient with atherosclerosis. *Ann Int Med* 1996; 125: 979-982.
72. Patel P, Mendall MA, Carrington D, Strachan DP, Leatham E, Molineaux N, Levy J, Blakeston C et al. Associations of *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factors. *Br Med J* 1995;311:711-14.
73. Gilbert A, Lion G. Artérites infectieuses expérimentales. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances et Mémoires de la société de Biologie* 1889;41:583-4.
74. Frottingham C. The relation between acute infectious diseases and arterial lesions. *Arch Int Med* 1911;8:153-162.
75. Ophuls W. Arteriosclerosis and cardiovascular disease. *JAMA* 1921; 76:700-701.
76. Osler W. Diseases of the arteries. In: Osler W, MacCrae T, eds. *Modern medicine. Its theory and practice in original contributions by Americans and foreign authors. Vol.4* Philadelphia, PA: Lea & Fabiger, 1908;426-47.
77. Castaigne J, Esmein CH. *Les Maladies du Coeur et des Artères. Methodes generales de diagnostic et de therapeutique. Tome II.* Paris. A.Poinat, 1921: p.159-60.
78. Workshop "The potential role of infectious agents in cardiovascular disease/atherosclerosis". Aug 31 – Sept 1, 1998. CDC, Atlanta, GA.
79. International symposium on infection and atherosclerosis. 6-9 December 1998. Marcel Mérieux Foundation and INSERM, Veyrier-du-Lac, France.
80. Reinert-Azambuja MI. 1918 Influenza Pandemic and the rise in CHD mortality: cause and effect? Poster. International symposium on infection and atherosclerosis. 6-9

December 1998. Marcel Mérieux Foundation and INSERM, Veyrier-du-Lac, France.  
<http://www.inserm.fr/athero/Athero.nsf/397fe8563d75f39bc12563f60028ec43/72dee152d997659b802566780035cc66?OpenDocument>

81. Fleck, L. Genesis and development of a scientific fact.. The University of Chicago Press, Chicago, 1979.
82. Blackburn H. Trends and determinants of CHD mortality: changes in risk factors and their effects. *Int J Epidemiol* 1989; 18: S210-S215.
83. Kuller LH. Epidemiology is the study of “epidemics”and their prevention. *Am J Epidemiol* 1991; 134: 1051-6.
84. Griffin, D. E.; Ward, B. J.; Esolen, L. M. Pathogenesis of measles virus infection: an hypothesis for altered immune response. *J Infect Dis* 1994; 170(Suppl 1):S24-31.
85. Evans, A. S. & Brachman, P. S. Emerging issues in infectious diseases epidemiology. *J Chron Dis* 1986; 39:1105-1124.
86. Njenga MK, Dangler CA. Intimal lipid accretion and elevated serum cholesterol in Marek’s disease virus-inoculated chickens. *Vet Pathol* 1996; 33:704-8.
87. Azambuja, MIR. Rise and fall in ischemic heart disease mortality – it may have happened before.*Rev Saude Publica* 1995; 29:444-50.
88. Willius FA. The historic development of knowledge related to the coronary circulation and its diseases: introduction and the pre-harveian era. *Staff Meetings of the Mayo Clinic* 1945; 20:103-6.
89. Willius FA. The historic development of knowledge related to the coronary circulation and its diseases. II. Harvey and the seventeenth century. *Staff Meetings of the Mayo Clinic* 1945; 20:155-6.
90. Willius FA. The historic development of knowledge related to the coronary circulation and its diseases. The eighteenth century. *Staff Meetings of the Mayo Clinic* 1945; 20:326-36.

91. Willius FA. The historic development of knowledge related to the coronary circulation and its diseases. The nineteenth century. Staff Meetings of the Mayo Clinic 1946; 21:77-90.
92. Heberden W. Commentarii de morborum historia et curatione. London 1802, quoted in Willius FA (90, p.331-3).
93. Parry CH. An inquiry into the symptoms and causes of the syncope anginosa, commonly called angina pectoris. London: Cadell & Davies, Strand, 1799, apud Willius FA (90, p.334).
94. Burns A. Observations on some of the most frequent and important diseases of the heart; on aneurism of the thoracic aorta; on preternatural pulsation in the epigastric region; and on the unusual origin and distribution of some of the large arteries of the human body. Edinburgh, Bryce & Co., 1809, apud Willius FA (91, p.78).
95. Forbes J. Cyclopaedia of practical medicine. Edited by Forbes, Tweedie, etc. Revised by Duglison. Philadelphia: Lea & Blanchard, 1845, apud Willius FA (91, p.81).
96. Gibson GA. Diseases of the heart and aorta. Edinburgh: Young J Pentland, 1898, apud Willius FA (91, p.81).
97. Crosby AW. America's forgotten pandemic: the influenza of 1918. New York, NY. Cambridge University Press, 1990.
98. Hoehling A.A. The great epidemic - when the spanish influenza struck. Little, Brown and Company, Boston, 1961.
99. Infopedia. Funk and Wagnalls New Encyclopedia. Ed. 1995. Funk and Wagnalls, Corp. All rights reserved.
100. Jornal do Brasil, Ciência, 9/03/1998.
101. Dolin R. Influenza In: Isselbacher, Branwald, Wilson, Martin, Fauci and Kasper Eds. Harrison's Principals of Internal Medicine. 13<sup>th</sup> Ed. MacGraw-Hill, Inc. New York, NY, 1994, p.814.

102. Taylor G. A rational attack on influenza. *Nature* 1993; 363:401-2.
103. Dowdle WR. Influenza A virus recycling revisited. *Bull WHO* 1999; 77: 820-8.
104. Evans A. The swine influenza program. *Yale J Biol Med* 1977; 50: 657-9.
105. Glezen WP. Emerging infections: pandemic influenza. *Epidemiol Rev* 1996; 18:64-75.
106. CDC. Update: Influenza activity – United States, 1999-2000 Season. *MMWR* 2000; 49:173-7.
107. CDC. Update: influenza activity – United States and worldwide, 1996-1997 season, and the composition of the 1997-98 influenza vaccine. *MMWR* 1997; 46: 325-30.
108. Dowdle WR, Hattwick MAW. Swine influenza infections in humans. *J Inf Dis* 1977; 136 [suppl]: s386-s389.
109. Shope RE. Swine influenza. 3. Filtration experiments and etiology. *J Exp Med* 54: 373:380, 1931.
110. Smith W, Andrews CH, Laidlaw PP. A virus obtained from influenza patients. *Lancet* 1933; 2:66.
111. Davenport FM, Henessy AV, Francis T. Epidemiologic and immunologic significance of age-distribution of antibody to antigenic variants of influenza virus *J Exp Med* 1953; 98:641-656.
112. Gover M. Influenza and pneumonia mortality in a group of 90 cities in the United States, August 1935-March 1943, with a summary for August 1920-March 1943. *Pub Health Rep* 1943; 58:1033-61.
113. Collins SD. Influenza-pneumonia mortality in a group of 95 cities in the United States, 1920-29. *Pub Health Rep* 1931; 46:1909-37.
114. Thacker SB. The persistence of influenza A in human populations, *Epidemiol Rew* 1986; 8:129-42.
115. 1998/99 Pork Facts booklet. National Pork Producer Council Website. [www.nppc.org](http://www.nppc.org) , Industry News and Information, “pork stats, facts & info” link. Acesso em 06/02/1999.



116. Francis T. On the doctrine of original antigenic sin. Proc Am Philos Soc 1960; 104:  
572-6.

## PARTE II.

### II.1. Artigo em Inglês

***“Similarities in patterns of mortality from influenza A (H1N1 strains) in the first half of the 20<sup>th</sup> century and the rise and fall of coronary heart disease in the US: a new hypothesis concerning the CHD epidemic”***

Maria Inês Reinert Azambuja<sup>1</sup>

Bruce B. Duncan<sup>2</sup>

1. M.D., M.S. Epidemiology, Department of Social Medicine, School of Medicine,  
Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS Brazil

2. M.D., Ph.D. Epidemiology, Department of Social Medicine, School of Medicine,  
Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS Brazil

Address for Correspondence:

Dr. Maria Inês Azambuja, Department of Social Medicine, School of Medicine, UFRGS,  
Rua Ramiro Barcelos 2.600, 4<sup>o</sup> andar, Porto Alegre, RS 90035-003, Brazil.

FAX number: 55 051 316-5291

e-mail: rsf8125@via-rs.net

## **Short running title: Influenza and CHD**

### **Abstract**

*Purpose:* To explore the possibility that the burden of H1N1 influenza infection during the first half of the century might have been an etiologic determinant of the 20<sup>th</sup> Century rise and fall in coronary heart disease (CHD) mortality.

*Methods:* Ecologic associations between both occurrences in the United States, according to time, person and place, were examined.

*Results:* Mortality rates from Influenza and Pneumonia in 1918-19 are good predictors of the burden of CHD deaths from 1920-85 across the 1870-1915 birth-cohorts. Being women and black were protective both during the 1918-19 pandemic and the rise of CHD mortality.

Additionally, a notable correlation exists ( $r_s = -0.68$ ;  $p = 0.042$ ) between H1N1 influenza persistence (measured by excess influenza and pneumonia mortality after 1930) and delayed declines in CHD mortality across the United States geographic divisions.

*Conclusions:* The data suggest that the 1918 Influenza Pandemic and H1N1 epidemics following it may have played a major role in the temporal pattern of CHD mortality witnessed in the 20<sup>th</sup> Century.

**Key Words:** Influenza, atherosclerosis, cardiovascular diseases, mortality, inflammation, infection

## INTRODUCTION

In the course of the last 70 years, a rise and fall in mortality from coronary heart disease (CHD) occurred in several countries. In the United States (US), angina emerged as a significant cause of death in the mid-1920s (1). From then on, CHD mortality rose steadily until the early 1960s when it leveled off at rates of 35% of the overall mortality (2). The decline began in 1968 and accelerated after 1972 (3), resulting in a fall of more than 40% in CHD death-rates in the last 30 years (4).

The CHD mortality time-trend has not been satisfactorily explained yet (5), traditional risk factors accounting for less than 50% of the variation in rates registered since 1950 (4). As stated by Mizgala and Shulzer (6), the results of the MONICA study and the disappointing results of primary intervention trials based on those risk factors (7) suggest that *“it is perhaps time to recognize the possibility that trends in CHD mortality seen across the world in the past 30 years or so, may be driven by forces independent of the classic risk factors”*.

Since the late 1970s, evidence provided by experimental and clinical studies (8-13) challenged the traditional idea of CHD being a degenerative condition, supporting instead an alternative view of CHD as an immune inflammatory disease (5,13,14). Also, several authors have postulated a role for infection in initiation and/or progression of CHD and risk of myocardial infarction or death (9,15-17). However, few attempts have been made to date (18,19) to incorporate the infectious-inflammatory hypothesis into explanations for 20<sup>th</sup> Century CHD mortality trends.

The degenerative paradigm has attempted to explain the CHD epidemic as secondary to time-trend variation in *exposures* to risk factors to disease development. An infectious-inflammatory hypothesis would support a somewhat different explanation – one based more on a variation in *individual susceptibility* to CHD over time.

It has been shown that some infections affect an individual's response to further infections (20) as well as to other environmental challenges(21), among them high-fat diets

(15). Thus, theoretically, a massive occurrence of an infectious disease could have led to the emergence of the CHD epidemic, even if other environmental exposures (e.g.: high-fat intake, smoking,...) had not changed over time, by modifying individuals' susceptibility to their effects.

A major infectious event with worldwide width immediately preceding the rise in CHD mortality was the 1918 Influenza Pandemic. Twenty-five percent of the US population (at least 25 million people) had overt flu during that pandemic, resulting in at least 500,000 Influenza and Pneumonia excess deaths (22). Worldwide, the minimum estimated mortality was 21 million people, the real number easily reaching 30 to 40 million (22).

Influenza viruses circulating from 1918 to 1957 kept an important overlap in terms of serological and biochemical laboratory tests, ecology and public health effects, being all classified today as belonging to the H1N1 subtype of Influenza A viruses (23). Could the pathogenetic burden of H1N1 influenza infection upon the US population explain the observed epidemiologic pattern of the 20<sup>th</sup> century CHD mortality?

### **H1N1 Influenza in the US**

The Spanish flu of 1918 had unique characteristics compared to the 1958 (H2N2 sub-type) and 1968 (H3N2 sub-type) influenza pandemics (21): 1) an unusually high morbidity; 2) high male/female and white/black morbidity and mortality ratios; and 3) a oddly highest morbidity and mortality burden among young adults (22).

As one can see in Figure 1 (22,24-25), the incidence of respiratory illnesses (with at least one day in bed) in both sexes was maximum at age 10, followed by a drop around the 20s, a second peak around the 30s and a significant fall after the 40s. One third to ½ of the deaths, however, were concentrated in the second and third decades of life. The consensus of the American Public Health Conference of December 1918 was that the commonest victims of flu were "those who had been in the best of physical condition and freest from

previous disease”(22). According to expert opinion, death was not due to direct viral damage, but rather to the strength of the immune-inflammatory response to infection, greater in robust young (white, male) adults (22).

We thus hypothesize that whatever immune-inflammatory mechanism caused a sex and age pattern of mortality in 1918-19 different from that of the incidence of respiratory symptoms during the pandemic (see Figure 1) also “primed” survivors in a similar fashion, predisposing them to future development of CHD. If that were the case, then the relative distribution of influenza-related deaths from ages 15 to 49 in 1918-19 (a proxy for the distribution of some particular kind of immune-inflammatory response to infection across the range of exposed birth cohorts) should predict the occurrence of CHD mortality in survivors from the correspondent birth-cohorts (from about 1870 to 1915) in the years to come. (The higher 1918-19 influenza and pneumonia mortality at the extremes of life is presumably related to other mechanisms, irrelevant to the hypothesis discussed here, as influenza epidemics usually present greater mortality at the extremes of life.)

While flu activity showed a continuing decline during the 1918-1957 period, such a trend was not uniform across the US (26-27). Thus we further hypothesize that the reported geographic variation in time of onset of the decline in CHD death-rates depended on the varying persistence of H1N1 viruses across the US, and, through their effect, on a lower level but continuing CHD “initiation” taking place in later born cohorts.

## **METHODOLOGY**

This paper presents ecologic associations between influenza and CHD occurrences across birth cohorts and across geographic areas of the US, in support of the two hypotheses presented above.

### **Birth cohort correlation**

United States gender and age-specific mortality data were used to graphically compare the burden of the 1918-19 Influenza Pandemic with that of the 1920-1985 CHD epidemic across birth cohorts.

### **Influenza data**

Sex and age strata-specific influenza mortality rates were calculated using the number of deaths from Influenza and Pneumonia in 1918 (22), and an estimate of the population residing in the US Registration Area for 1917 (24), used at that time for national tabulations of vital events, and covering approximately 80% of the US Continental population (26). Deaths occurring during 1918 and 1919 were assigned to January 1, 1919. They were then adjusted to reflect the age the deceased would have had in 1920, so that the age-specific rates could be plotted for birth cohorts according to the usual center of 10 year birth cohort intervals (July 1 of years ending with 0 or 5). As 1½ years elapsed between January 1, 1919 and July 1, 1920, this adjustment was performed for each age strata, summing, in a weighted fashion, the 1918-19 Influenza and Pneumonia strata-specific death coefficient of the age strata in question (weight=0.85) to the death coefficient of the next youngest strata (weight=0.15).

### **CHD mortality data**

For the most recent period, 1960-85, CHD mortality rates were calculated based on gender and age-specific data (number of deaths and population) referent to the total US population (all races), obtained from the Division of Vital Statistics of the National Center for Health Statistics (National Center for Health Statistics, Vital Statistics of the United States, Vol. II, "Mortality". Published and unpublished data – selected years. Washington Public Health Services, 1990). Age-specific coronary heart disease mortality was defined as the number of deaths classified according to the International Classification of Diseases (ICD) revision effective in the year of death, divided by total population in the same year, in each

10 year strata. ICD versions prior to 1950 were too variable in their definitions of heart disease to characterize, in a standardized way, the US CHD death trends (Coulson, A.H. Fashions and shrouds: the international list through eight revisions. Eighth annual meeting of the Society for Epidemiologic Research. Albany, New York, 1975 – unpublished manuscript). Thus, to document birth-cohort trends during the ascendant limb of the CHD epidemic curve, we used published tables on the number of deaths ascribed to coronary heart disease (and population), by age and sex, referent to Seattle-King County (State of Washington) only (28). In this subset of data, the assigned cause of death resulted from a review and tabulation of all death certificates registered in that area from 1920-1960, at every fifth year, in accordance with the 1955 international standards (ICD-7). Using both sets of data, we tabulated CHD mortality according to 10-year age and birth cohort strata. To make the total CHD mortality burden comparable across different distributions of age in successive birth cohorts, we defined, separately for men and women, a referent birth cohort having a mid-period number of survivors at each successive 10-year age interval (from ages 40-49 to 80+) equal to the number of individuals at the respective 10-year age-strata of the 1940 US total population(29). We then estimated age strata-specific standardized number of CHD deaths for each successive birth cohort by multiplying the age strata-specific death rate corresponding to each specific birth-cohort, by the number of individuals estimated at mid-period in the respective 10 year age strata in this standard population. Next, we calculated the total period age strata-specific standardized number of deaths, multiplying this mid-period number of deaths by 10. In doing so, we extrapolate a 1 year mortality experience to that of a 10-year period of observation of the cohort members as they pass through the specified 10-year age interval. Finally, we graphically summed the age strata-specific standardized numbers of deaths within each birth cohort, to obtain a standardized estimate of the total CHD mortality burden for each 10 year birth cohort.

### **Geographic correlation**



We used the Spearman correlation coefficient to quantify the association, across the US geographic divisions, between longer persistence of H1N1 influenza viruses (estimated by total excess death rate from influenza and pneumonia measured during the whole of each epidemic occurring from 1931-40 (27)) and delayed beginning of decline in CHD death rates (estimated by the proportion of Metropolitan State Economic Areas in which the decline in CHD mortality had already begun in 1968(30)).

## **RESULTS**

### **Birth-cohort trends**

Figure 2 compares graphically the relative mortality associated with the 1918-19 Pandemic with that from the CHD epidemic in the period 1920-1985 across successive birth cohorts, separately for men and women. The solid line connects points representing the distribution of mortality from Influenza and Pneumonia in 1918-19 for birth-cohorts roughly corresponding to those with 10-50 years of age in 1918-19 (see Figure 1). The vertical bars display the standardized number of CHD deaths, shaded to represent deaths in different age strata, among those same birth cohorts. As can be seen, for both sexes, for cohorts born in the last third of the nineteenth century, as pandemic related mortality increases so does the observed CHD mortality. Both distributions attain their heights in cohorts born just before 1900 and then both start to fall towards the later born cohorts. In cohorts born successively after 1900, a growing excess of observed CHD mortality in relation to that expected, in relative terms, from the pandemic mortality curve, can be seen, this excess being somewhat larger for men.

### **Geographic trends**

As can be seen in Figure 3, after 1930, H1N1 influenza-related excess deaths varied considerably across the US Geographic Divisions, being less in the Northeast, Mid-Atlantic,

East North Central, South Atlantic and Pacific Divisions compared to the West North Central, East South Central, West South Central and Mountain Divisions. The onset of decline in CHD mortality also varied considerably, having begun in 100% of the Northeast and 98.5% of the Pacific Metropolitan State Economic Areas in 1968, but in only approximately 60% of Metropolitan Areas of the West North Central and East South Central Divisions.

A notable negative correlation exists between excess influenza and pneumonia mortality after 1930 and early decline in CHD mortality across the US ( $r_s = -0.68$ ;  $p = 0.042$ ).

## **DISCUSSION**

The above data demonstrate two epidemiologically important ecologic associations between the burden of H1N1 influenza infection upon the US population early in the 20th Century and the mid-century rise in CHD mortality. Age-related influenza and pneumonia mortality during the 1918-19 pandemic predicts well, separately in men and women, the relative distribution of CHD mortality across the correspondent birth cohorts. The burden of H1N1 influenza activity post-1930, measured by influenza and pneumonia death-rates, showed a strong association with delayed declines in CHD mortality across U.S. geographic divisions. In fact, it might help explain the observed persistence of a CHD mortality across the latest born cohorts beyond that expected on the basis of an estimate which considered the 1918-19 pandemic alone (see Figure 2).

Additionally, there are important sociodemographic similarities between those most affected by the 1918-19 influenza and those who died from CHD. CHD mortality was always higher in men than women (1). Male/female death-ratios during the Pandemic also varied from 1.2 at ages 10-19 to 1.7 at ages 40-49 (22)(See Figure 1). CHD mortality was higher in whites than in blacks from the mid-1920's until about 1963, when a crossover in death-rates occurred (31). As mentioned, one of the unique characteristics of the 1918 pandemic was its unexpectedly high white/black mortality ratio. Not only was mortality from influenza and

pneumonia lower in blacks but, during the pandemic, “*death-rates for all causes of blacks between 25 and 45 years of age were below those of their white counterparts, probably for the only time in the history of the nation (22)*”.

As flu epidemics disappeared from the Northeast and Pacific regions, and influenza mortality decreased and became more localized in the Mountain and Southern regions of the country, 1) specific demographic characteristics of those populations (on the average with higher proportion of blacks compared to the Northeast and Pacific), 2) higher variability in rates of exposure (due to lower levels of circulating virus), and 3) differential susceptibility to H1N1 infection across social strata (as demonstrated by Sydenstricker (32)) could explain the Eastern/Southern (1), white/black (31), and socioeconomic (33) crossovers in CHD mortality-rates registered during the decline. The decline and more recent leveling off (34) in CHD incidence is consistent with progressive exhaustion of the influenza-priming effect within the surviving population.

Thus, these epidemiologic findings support our hypothesis that gender, race, age and geographic differentials in the burden of pathogenetic effects due to H1N1 influenza infection in the US population could help explain the main epidemiologic characteristics - gender, race, birth-cohort and geographic pattern - of the 20th Century CHD mortality epidemic.

## **Speculations on pathogenic mechanisms involved in an influenza - CHD mortality association**

### ***Epidemiologic clues***

The proportion of the excess deaths occurring during influenza epidemics attributed to organic heart diseases grew considerably during the ascending phase of the CHD epidemic, from 1.6% in 1918-19 to 18.4% in the minor epidemics occurring during 1920-29 (35), and to 51% (cardiovascular-renal causes) of a total of 86,000 excess-deaths registered during the 1957-1960 Asian influenza epidemics (36).

Beginning in the 1960s, a continuing improvement in survivorship, reflecting mostly a falling re-incidence of MI subsequent to initial diagnosis, was documented (37). Though improved survivorship has usually been attributed to improved medical care, a change in disease/host relationship over time has been considered a possibility (38). As first suggested by Gordon and Thom in 1975 (39), the reduction in death rates from CHD could be partially attributable to the continuing decline in the influenza activity and the absence of extensive influenza epidemics after 1968. If the hypothesis proposed here is correct, reduction in re-exposure of H1N1 “primed” individuals to repeated influenza infections could have been the determinant to the change in disease-host relationship regarding CHD progression and death.

It is worth noting that historical records indicate the possible occurrence of a previous rise and fall in CHD mortality in Britain over the last third of the Eighteenth Century (40). Heberden’s original description of the anginal syndrome in 1772, a time when its cardiac origin had not yet been established, followed a period of significant influenza activity in Britain, with epidemics of flu being recorded in 1727, 1732, 1737 and 1760 (22).

### ***Clinico-pathological clues***

Sudden death was an hallmark of the CHD epidemic, especially during its ascending phase. According to MacKinlay et al.(38), at the heights of the CHD epidemic, almost 2/3 of deaths from CHD were sudden and unexpected and occurred outside hospitals, mostly as a result of acute arrhythmias. During the decline, this component of CHD mortality fell more dramatically than did incidence of acute MI or long term post-MI mortality (38). Sudden-death was also a common cause of cardiovascular deaths in influenza epidemics (41), and, recently, it has been shown that influenza vaccination confers protection against sudden death (42). Obstruction of arteries supplying the conduction system of the heart (first septal artery, sinus node artery, atrioventricular node artery, posterior descending artery) is a

preponderant finding among patients with sudden cardiac death, compared to apparently healthy subjects dying of accidental causes(43).

During the 1918 influenza pandemic, the most frequently observed circulatory disturbance was bradycardia. Particularly during convalescence, bradycardia often became marked. A small group of patients showed arrhythmias with either auricular or ventricular extrasystoles, and disturbances of conduction – from merely prolonged P-R interval, passing through bradycardia with “escaped sino-nodal beats” , partial block (1:2, 1:3; 1:4), until complete heart block. Such effects on the heart were transitory and non-responsive to atropine. At autopsy, some dilatation of the right side was commonly observed, with diffuse changes such as “cloudy swelling” evidence of “parenchymatous degeneration”, loss of striation, but usually no clearcut inflammatory changes of the myocardium(44). Endothelial cells were not described. However, infection and inflammation of arteries supplying the conduction system of the heart could explain both, arrhythmias during the 1918 pandemic and sudden CHD deaths occurring during decades of relatively high influenza activity. CMV and influenza virus are capable of modulating the in vitro production of IL-6 by human endothelial cells (45). And the highly pathogenic avian influenza virus A/FPV/Rostock/34 (H7N1) was shown to be highly endotheliotropic (46).

### ***Bio-molecular clues***

Infection by one strain of influenza A virus focuses the antibody (and possibly the T-cell (47)) response to infections by subsequent different strains of influenza viruses on epitopes shared by the original haemagglutinin antigens, a process known as “original antigenic sin” (22,48). Similar to reactivation of rheumatic heart disease upon re-infection by group A  $\beta$ -hemolytic streptococcus(49), and exacerbations of Multiple Sclerosis following viral-like infections (50), immune responses elicited at each new encounter with an influenza virus could reactivate inflammatory pathways to CHD, originally established by a first encounter with a H1N1 influenza virus and some specific immune response to it. In this regard,

atherosclerotic lesions are mostly localized in areas which would logically receive the highest loads of both viruses and immunoinflammatory products from the infected lungs – the left side of the heart, the coronary arteries and the aortic arch with its main branches.

Besides a re-infection-driven autoimmune reactivation of endothelial inflammation leading to CHD acute events and/or chronic progression of vascular disease, another possibility must also be considered: that flu infection or the immune response to it had interfered on lipid metabolism, leading to an increased susceptibility to high serum cholesterol levels. Pleskov et al (51) described, in some strains of influenza viruses, a significant mimicry of the amino acid sequences involved in cell attachment of the viral haemagglutinin with those of apolipoprotein B involved in LDL binding to high affinity LDL receptors. Upon re-infections, co-localization of anti-apo B antibodies at sites of viral penetration in the vascular bed could result in intimal LDL accumulation followed by oxidation and subsequent foam cell formation (52).

Though speculative, a mechanism involving cross-reactivity between the H1N1 influenza strains and apoB-LDL or the LDL receptor could be a link from infection to hypercholesterolemia and CHD mortality and shed a new light to the “diet-heart” controversy (53). Within populations, the effect of dietary fat/cholesterol intake on serum cholesterol levels might depend relatively more on the efficiency of LDL uptake, this latter possibly influenced by a cross reactive immune response to a previous H1N1 influenza infection.

In sum, though biologic links between Influenza and CHD remain to be proven, intriguing leads do exist.

## **CONCLUSIONS AND FINAL REMARKS**

Ecologic studies are weak designs to establish causality. However, the strength and consistency of the several different ecologic correlates shown here, coupled with a potential biologic plausibility of this epidemiologic-driven hypothesis within an immune-inflammatory

paradigm of atherosclerosis, do make the associations presented worthy of further consideration.

Current evidence demonstrates that the diet-heart paradigm, which gave support to most of the research and intervention policies related to CHD during the 20<sup>th</sup> Century, can not adequately explain all the features related to the CHD time trends(5-6,54-55). Since the 1990s, several other diseases traditionally associated with degeneration were shown to have, instead, an inflammatory basis and an infectious etiology (56). Inflammation has also become the main paradigm of CHD pathogenesis, since Ross and Glomset (57-58) first demonstrated its dominant role in atherogenesis (8). We hope that this study, which expands previously presented (59) evidence for the influenza – CHD epidemic hypothesis, stimulates further investigation of influenza’s role in the 20<sup>th</sup> century course of CHD, permitting extension of the inflammatory paradigm and introduction of the infectious hypothesis to the interpretation of the rise and fall in CHD mortality, a worldwide occurrence described by the WHO in 1969 as “the greatest epidemic mankind has faced”(60).

## II.2. Artigo em português

***Semelhanças entre o padrão de mortalidade por Influenza A (sub-tipo H1N1) na primeira metade do século XX e o padrão de mortalidade por doença isquêmica do coração no transcorrer do século, nos EUA : uma nova hipótese para a epidemia de cardiopatia isquêmica.***

Maria Inês Reinert Azambuja<sup>1</sup>

Bruce B. Duncan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Social, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Endereço para correspondência:

Dra. Maria Inês Azambuja, Departamento de Medicina Social, Faculdade de Medicina UFRGS, Rua Ramiro Barcelos 2.600, 4º andar, Porto Alegre, RS 90035-003, Brazil.

FAX: 55 051 316-5291

e-mail: [rsf8125@via-rs.net](mailto:rsf8125@via-rs.net)



## **Título curto**

Influenza e aterosclerose

## **Resumo**

Os fatores de risco clássicos para o desenvolvimento de doença isquêmica do coração (DIC) explicam menos de 50% da queda na mortalidade observada desde 1950. A transição em curso, do paradigma degenerativo para o inflamatório / infeccioso, requer nova interpretação causal das tendências temporais. Este é um estudo ecológico, baseado em dados dos EUA, que mostra, em homens e mulheres, uma associação entre a distribuição etária da mortalidade por Influenza e Pneumonia (I&P) associada à pandemia de Influenza de 1918-19 na faixa dos 10 aos 49 anos e a distribuição da mortalidade por DIC, entre 1920 e 1985, em sobreviventes das coortes de nascimento correspondentes. Mostra ainda uma correlação negativa significativa ( $r = -0.68$ ,  $p = 0,042$ ) entre o excesso de mortalidade por I&P acumulado em epidemias entre 1931-40 (utilizado como indicador da persistência da circulação de vírus H1N1 aliada à vulnerabilidade à infecção) e a ordem do início do declínio na mortalidade por DIC, em nove Divisões Geográficas dos EUA. Os dados sugerem, à luz do conhecimento biológico atual, que a pandemia de Influenza de 1918 e as que se seguiram até 1957, pudessem ter tido papel determinante na epidemia de mortalidade por DIC registrada no século XX.

## INTRODUÇÃO

Nos últimos 70 anos, uma ascensão e queda na mortalidade por Doença Isquêmica do Coração (DIC) ocorreu em vários países. Nos Estados Unidos da América (EUA), a *Angina* emergiu como importante causa de morte na metade dos anos 20 (1). Desde então, a mortalidade por DIC aumentou constantemente até o início da década de 60, quando nivelou a taxas de 35% da mortalidade geral (2). O declínio iniciou em 1968 e acelerou-se após 1972 (3), resultando numa queda de mais de 40% na taxa de mortalidade por DIC nos últimos 30 anos (4).

A tendência temporal na mortalidade por DIC ainda não foi explicada satisfatoriamente (5). Os fatores de risco tradicionais responderiam por menos de 50% do declínio registrado desde 1950 (4). Como explicitado por Mizgala and Shulzer (6), os resultados do estudo MONICA e os resultados desapontadores de ensaios de intervenção primária baseados naqueles fatores de risco (7) sugerem que *“talvez seja tempo de reconhecer a possibilidade de que as tendências temporais da mortalidade por DIC vistas ao redor do mundo nos últimos 30 anos , possam ser decorrentes por forças independentes dos fatores de risco clássicos”*.

Desde o final dos anos 70, evidências derivadas de estudos clínicos e experimentais (8-13) desafiam a visão tradicional que concebe a DIC como uma condição degenerativa, apoiando, alternativamente, sua caracterização como uma doença imuno-inflamatória (5,13-14). Além disto, vários autores tem postulado um papel para a infecção na iniciação e/ou progressão da DIC , o risco de infarto do miocárdio (MI) ou a morte a ela associada (9, 15-17). Entretanto, poucas tentativas foram feitas até o momento (18-19) para incorporar a hipótese infecciosa-inflamatória em explicações para a tendência temporal na mortalidade por DIC no século XX.

O paradigma degenerativo tem tentado explicar a epidemia de DIC como sendo secundária à variação temporal em *exposições* a fatores de risco para o desenvolvimento da

doença. Uma hipótese infecciosa-inflamatória permitiria uma explicação diferente – mais baseada na variação da *suscetibilidade individual* à DIC ao longo do tempo.

Sabe-se que algumas infecções afetam as respostas individuais a infecções subsequentes (20), bem como a outras exposições ambientais (21), entre elas dietas ricas em gordura (15). Assim, teoricamente, a ocorrência maciça de uma doença infecciosa poderia ter levado à emergência da epidemia de DIC apenas pela alteração no nível de suscetibilidade individual a determinadas exposições ambientais - mesmo se os níveis daquelas exposições (p.e.: ingestão de gorduras, fumo..) não tivesse variado ao longo do tempo.

Um grande evento de ordem infecciosa, com abrangência mundial e imediatamente anterior à ascensão na mortalidade por DIC foi a Pandemia de Influenza de 1918. Vinte e cinco por cento da população dos EUA (ou pelo menos 25 milhões de pessoas) tiveram manifestações clínicas de influenza durante aquela pandemia, que resultou em um excesso de pelo menos 500.000 óbitos por Influenza e Pneumonia (22). Mundialmente, estima-se que a mortalidade tenha ficado entre 21 e 40 milhões de óbitos (22)

Os vírus Influenza circulando de 1918 e 1957 mantiveram uma sobreposição significativa de suas características sorológicas, bioquímicas, ecológicas e de seus efeitos sobre a saúde pública, sendo todos classificados hoje como pertencendo ao sub-tipo H1N1 de vírus influenza do tipo A (23).

Seria possível que a distribuição dos efeitos patogênicos dos vírus H1N1 circulantes sobre a população dos EUA (estimada pelo excesso na mortalidade por influenza e pneumonia) pudesse explicar o padrão epidemiológico da mortalidade por DIC no século XX?

### **A Influenza por vírus H1N1 nos EUA**

A gripe Espanhola de 1918 teve características únicas comparada as Pandemias de 1958 (sub-tipo H2N2) e de 1968 (sub-tipo H3N2) (21), tais como: 1) uma morbi-mortalidade

muito elevada; 2) um importante excesso de mortalidade em homens e em brancos; 3) um inesperado excesso de morbi-mortalidade em adultos jovens (22).

Como podemos ver na Fig. 1 (22, 24-25), nos EUA, a incidência de doença respiratória (com pelo menos 1 dia no leito) em ambos os sexos foi máxima aos 10 anos, caiu entre os 10 e 20 anos, elevando-se a partir daí para atingir um novo pico aos 30 anos, ao qual seguiu-se outra queda significativa após os 40 anos. Um terço à metade das mortes, porém, concentrou-se na segunda e terceira décadas de vida. O consenso da Conferência Americana de Saúde Pública de Dezembro de 1918 foi de que as vítimas da gripe eram “aqueles que haviam estado em sua melhor condição física, e livres de doenças prévias” (22). Conforme a opinião de especialistas, a morte não decorria de dano viral direto, mas sim da força da resposta imuno-inflamatória à infecção, maior nos jovens (brancos, homens) adultos (22).

Nós, então, formulamos como hipótese que, qualquer que tenha sido o mecanismo imuno-inflamatório desencadeado pela infecção, responsável pela diferença entre o padrão na *incidência* de sintomas respiratórios durante a Pandemia e o padrão de *mortalidade* por idade (sexo e raça) em 1918-19 (ver Fig. 1), a ele seria também atribuída a “iniciação” do processo que levaria à morte por DIC em pelo menos uma parcela dos sobreviventes da Pandemia. Neste caso, a curva de distribuição relativa da mortalidade por Influenza e Pneumonia entre os 15 e 49 anos de idade em 1918-19 (tomada como um indicativo de como a resposta imuno-inflamatória à infecção distribuiu-se entre as coortes de nascimento) deveria prever a ocorrência de DIC nos sobreviventes das coortes correspondentes (entre 1870 e 1915) nos anos que viriam. (As maiores taxas de mortalidade registradas nos muito jovens e muito velhos decorreriam, presumivelmente, de outros mecanismos, irrelevantes à hipótese aqui discutida, uma vez que as epidemias de influenza usualmente apresentam maior mortalidade nos extremos da vida).

Embora a atividade dos vírus influenza tenha tido um declínio persistente durante o período 1918-57, esta tendência não foi uniforme dentro dos EUA (26-27). Assim, nós adicionalmente formulamos outra hipótese: a de que a variação geográfica registrada no momento do início do declínio na mortalidade por DIC dependeu da variação na persistência dos vírus H1N1 nas diferentes regiões do país, o que teria mantido, em algumas áreas mais que em outras, um nível baixo mas contínuo de “iniciação” da DIC em coortes de nascimento mais recentes.

## **METODOLOGIA**

Este artigo apresenta associações ecológicas entre ocorrências de influenza e de DIC ao longo de coortes de nascimento e através de áreas geográficas dos EUA, em apoio às duas hipóteses formuladas acima.

### **Correlação por coorte de nascimento**

Dados de mortalidade por sexo e idade foram utilizados para comparar graficamente o impacto da Pandemia de Influenza de 1918-19 com o da epidemia de DIC entre 1920 e 1985, através de sucessivas coortes de nascimento.

### **Mortalidade por Influenza**

Taxas de mortalidade específicas por sexo e idade foram calculadas utilizando-se o número de mortes por Influenza e Pneumonia em 1918-19 e uma estimativa da população residindo na Área de Registro dos EUA em 1917 (24), área usada, à época, para fins de tabulação nacional de eventos vitais, e cobrindo aproximadamente 80% da população continental dos EUA. Mortes ocorrendo em 1918 e 1919 foram atribuídas à 1º de Janeiro de 1919. A mortalidade foi então ajustada para refletir a idade que o indivíduo teria em 1º de Julho de 1920, de forma que as taxas específicas por idade pudessem ser atribuídas às respectivas coortes de nascimento no ponto central que usualmente representa coortes de

nascimento agrupadas em períodos de 10 anos (1º de Julho de anos terminando em 0 ou 5). Como um ano e meio havia se passado entre 1º de Janeiro de 1919 e 1º de Julho de 1920, este ajuste foi realizado, para cada intervalo de 10 anos de idade, somando-se, de forma ponderada, o coeficiente de mortalidade específico para aquele intervalo (peso=0,85) com o coeficiente para o próximo intervalo mais jovem (peso = 0,15).

### **Mortalidade por Doença Isquêmica do Coração**

Para o período mais recente, 1960-85, as taxas de mortalidade por DIC foram calculadas com base em dados primários específicos (número de mortes e população), por sexo e idade, referentes à população total dos EUA (todas as raças), obtidos junto à Divisão de Estatísticas Vitais do National Center for Health Statistics (National Center for Health Statistics, Vital Statistics of the United States, Vol. II, "Mortality". Published and unpublished data – selected years. Washington Public Health Services, 1990). A mortalidade por DIC específica por idade foi definida como o número de mortes assim classificadas de acordo com a revisão do Código Internacional de Doenças (CID) vigente no ano do óbito, dividido pela população total no mesmo ano, a cada intervalo de 10 anos de idade. Versões da CID anteriores a 1950 variaram muito em suas definições de doença cardiovascular, o que prejudicaria a caracterização das tendências de mortalidade por DIC naquele período (Coulson, A.H. Fashions and shrouds: the international list through eight revisions. Eighth annual meeting of the Society for Epidemiologic Research. Albany, New York, 1975 – unpublished manuscript). Assim, para documentar as tendências por coorte de nascimento durante a alça ascendente da curva epidêmica de DIC, usamos tabelas referentes a dados de Seattle-King County (Estado de Washington) apenas, constando de número de mortes por DIC e população, por sexo e idade (28). Neste sub-conjunto de dados, a atribuição da causa de morte decorreu de revisão e tabulação de todos os certificados de óbito registrados na área a cada 5º ano, de 1920 a 1960, conforme a CID 7, vigente em 1955.

Usando estes dois grupos de dados, tabulamos a mortalidade por DIC por intervalos de 10 anos de idade e respectivas. Para tornar o numero total de óbitos por coorte de nascimento comparável entre as sucessivas coortes, nós definimos, separadamente para homens e mulheres, uma coorte de referência tendo, para cada intervalo de 10 anos de idade (de 40-49, 50-59,.. a 80 e mais), um numero de sobreviventes, *na metade do período de observação*, igual a população dos EUA de 1940 na respectiva faixa etária. Nos então estimamos o numero *médio* padronizado de óbitos para cada faixa etária de cada coorte sucessiva multiplicando o coeficiente de mortalidade específico por idade de cada coorte pelo numero *médio* de indivíduos no grupo etário específico na coorte padronizada. A seguir, nós calculamos o numero padronizado *total* de óbitos para a coorte naquela faixa etária multiplicando o numero de óbitos calculado com base nos sobreviventes na metade do período por 10. Fazendo isso, nós extrapolamos a experiência de um ano de mortalidade para a de um período de 10 anos de observação de cada membro da coorte, a medida que ele passa pelo intervalo de 10 anos de idade. Finalmente nós somamos graficamente o numero total de mortes em cada grupo etário dentro de cada coorte de nascimento, obtendo uma estimativa padronizada do numero total de óbitos por DIC em cada coorte de 10 anos de nascimento.

**Figura 2:** Como dispúnhamos de dados para computar a mortalidade *a cada 5 anos*, de coortes nascidas em intervalos de 10 anos, decidimos utilizá-los. Assim, há superposição, no gráfico, dos períodos de nascimento das sucessivas coortes (1881-90, 1886-95, 1891-900,...) o que melhora as estimativas e suaviza as curvas de tendência temporal da mortalidade por influenza e por DIC apresentadas na figura 2.

### **Correlação geográfica**

Nós utilizamos o coeficiente de correlação de Spearman para quantificar a associação entre maior persistência de vírus influenza H1N1 (estimada pelo total do excesso da

mortalidade por influenza e pneumonia medido durante cada epidemia registrada entre 1931 e 1940 (27)) e a precocidade no início do declínio na mortalidade por DIC (estimado pela proporção de áreas econômicas censitárias (SEAs) metropolitanas nas quais o declínio já havia se iniciado em 1968 (30).

## **RESULTADOS**

### **Correlação temporal – coortes de nascimento**

A Figura 2 compara graficamente, ao longo de sucessivas coortes de nascimento, a mortalidade associada à Pandemia de Influenza de 1918-19 e a mortalidade por DIC no período entre 1920-85, separadamente para homens e mulheres. A distribuição por coorte da mortalidade por Pneumonia e Influenza em 1918-19, representada pela linha sólida, corresponde, aproximadamente, à distribuição na mortalidade registrada em 1918-19 entre os 10 e os 50 anos de idade (Ver Figura 1).

As barras verticais representam o número padronizado de mortes por DIC em cada coorte de nascimento. As cores ilustram a mortalidade nas diferentes faixas etárias em cada coorte. Como podemos ver, em ambos os sexos, para as coortes nascidas no último terço do século XIX, a medida que a mortalidade relacionada a pandemia de influenza aumenta, aumenta também a mortalidade por DIC. Ambas as distribuições atingem seu pico pouco antes de 1900 e então ambas iniciam uma queda em direção as coortes nascidas mais tardiamente. Nas coortes nascidas sucessivamente após 1900, um excesso crescente na mortalidade observada por DIC, em relação ao esperado, em termos relativos, a partir da curva de distribuição da mortalidade por influenza, pode ser observado, sendo inclusive um pouco maior para os homens.



## Correlação Geográfica

Como podemos ver na Figura 3, após 1930 o excesso de óbitos relacionado à influenza H1N1 variou consideravelmente entre as divisões geográficas dos EUA, sendo menor nas divisões *Northeast*, *Mid-Atlantic*, *East North Central*, *South Atlantic* e *Pacific* comparadas as *West North Central*, *East South Central*, *West South Central* and *Mountain*. O início do declínio na mortalidade por DIC também variou significativamente, já tendo ocorrido em 100% das áreas metropolitanas da divisão *Northeast* e em 98,5% da *Pacific*, mas em apenas 60% das áreas metropolitanas das divisões *West North Central* e *East South Central* no ano de 1968.

Uma importante correlação negativa pôde ser demonstrada entre o excesso de mortalidade por influenza e pneumonia após 1930 e a precocidade do declínio na mortalidade por DIC, entre as divisões dos EUA ( $r_s = -0.68$ ;  $p = 0.042$ ).

## DISCUSSÃO

Os dados acima demonstram duas associações ecológicas epidemiologicamente importantes entre o impacto da infecção por vírus influenza H1N1 na população dos EUA na primeira metade do século XX e a emergência e evolução da epidemia de DIC. A mortalidade por idade na pandemia de influenza de 1918-19 prediz bem, separadamente em homens e mulheres, a distribuição relativa da mortalidade por DIC entre as coortes de nascimento correspondentes. O grau de atividade da influenza após 1930, medido pelo excesso de mortalidade ocorrendo durante as epidemias, mostra forte associação com o retardo no início do declínio na mortalidade por DIC entre as diferentes regiões dos EUA. Na verdade, esta associação talvez possa ajudar a explicar a manutenção de uma mortalidade por DIC mais elevada do que esperado com base apenas no efeito da Pandemia (ver Figura 2), nas coortes nascidas mais tardiamente.

Adicionalmente, há importantes semelhanças sócio-demográficas entre os mais afetados pela Pandemia e os que morreram por DIC. A mortalidade por DIC foi sempre mais alta em homens do que em mulheres (1). A razão de mortalidade por sexos (HM) durante a Pandemia também foi sempre maior que 1, variando de 1,2 nas idades 10-19 à 1,7 na faixa dos 40-49 nos(22)(Ver Fig. 1). A mortalidade por DIC foi mais alta em brancos do que em negros da metade dos anos 20 até 1963, quando uma reversão nas taxas por sexo ocorreu (31). Como já mencionado, uma das características únicas da Pandemia de 1918 foi o inesperado excesso de mortalidade dos brancos comparados aos negros. Não apenas, durante a Pandemia, a mortalidade por influenza e pneumonia foi mais baixa em negros, mas *“as taxas de mortalidade por todas as causas, de negros entre 25 e 45 anos de idade, estiveram abaixo daquelas dos brancos, provavelmente pela única vez na história da nação (22)”*.

A medida que as epidemias de influenza desapareciam das regiões *Northeast* e *Pacific*, e a mortalidade por influenza diminuía e localizava-se mais nas regiões *Mountain* e *Southern* dos EUA, 1) características demográficas específicas daquelas populações (na média com maior proporção de negros comparadas às regiões *Northeast* e *Pacific*), 2) maior variabilidade nas taxas de exposição (devido a níveis mais baixos de vírus circulantes), e 3) diferenças na suscetibilidade à infecção por vírus H1N1 entre os estratos sócio-econômicos (como demonstrado por Sydenstriker (32)), poderiam explicar a reversão temporal nas tendências geográficas (leste - sul (1)), raciais (branco - negro (31)) e sócio-econômicas (afluente - mais pobre (33)) registradas durante o declínio na mortalidade por DIC. O declínio e a estabilização recente na incidência de DIC é consistente com a exaustão progressiva do efeito da sensibilização pelo vírus H1N1 sobre as coortes remanescentes.

Assim, estes achados epidemiológicos sustentam nossa hipótese de que diferenças por sexo, raça, idade (e região geográfica / momento da ocorrência) no impacto do efeito patogênico da infecção por vírus influenza H1N1 na população dos EUA poderiam explicar as

principais características epidemiológicas – distribuição por sexo, raça, coorte de nascimento (e região geográfica) – da epidemia de DIC ocorrida naquele país no século XX.

## **Especulação sobre os mecanismos patogênicos envolvidos numa associação Influenza – mortalidade por DIC**

### ***Evidências e argumentos epidemiológicos***

A proporção do excesso de mortes ocorrendo durante epidemias de influenza atribuída a doenças orgânicas do coração cresceu consideravelmente durante a fase ascendente da epidemia de DIC, de 1,6% em 1918-19 para 18,4% nas epidemias menores ocorrendo durante 1920-29 (35) e para 51% (causas cardiovasculo-renais) de um total de 86.000 mortes em excesso registradas durante a epidemia de gripe asiática entre 1957-60 (36).

Começando nos anos 60, ocorreu uma melhora contínua na sobrevivência de pacientes com DIC, refletindo, principalmente, um queda na reincidência de Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) após o diagnóstico inicial (37). Embora este aumento na sobrevivência tenha sido atribuído a melhora na atenção médica, uma mudança na relação doença-hospedeiro ao longo do tempo tem sido considerada uma alternativa possível (38). Como sugerido inicialmente por Gordon e Thom em 1975 (39), a redução nas taxas de mortalidade por DIC poderia ser parcialmente atribuída ao declínio persistente na atividade da Influenza e a ausência de epidemias extensas após 1968. Se a hipótese proposta aqui está correta, a redução na re- exposição de indivíduos marcados pelo vírus H1N1, a infecções repetidas por vírus influenza, poderia ter sido o determinante da mudança na relação doença – hospedeiro com relação a progressão e ao óbito por DIC.

É interessante observar que registros históricos indicam a possível ocorrência de uma previa ascensão e queda na mortalidade por DIC na Grã-Bretanha, ao longo do último terço do século XVIII (40). A descrição original da síndrome anginosa por Heberden em 1772 – a um tempo em que sua origem cardíaca ainda não havia sido estabelecida – seguiu-se a um

período de atividade significativa da Influenza na Grã-Bretanha, com epidemias tendo sido registradas em 1727, 1732, 1737 e 1760 (22).

### ***Evidências e argumentos clínico-patológicos***

A morte súbita foi uma marca característica da epidemia de DIC, especialmente durante sua fase ascendente. Conforme McKinlay e cols.(38), no ápice da epidemia 2/3 das mortes por DIC eram súbitas e inesperadas e ocorriam fora dos hospitais, principalmente como resultado de arritmias agudas. Durante o declínio, este componente da mortalidade por DIC caiu mais dramaticamente do que a incidência de IAM a mortalidade pós-infarto a longo prazo (38). A morte súbita também foi uma causa de morte comum em epidemias de influenza (41), e, recentemente, foi demonstrado que a vacinação contra a influenza confere proteção contra a morte súbita (42).

Um achado preponderante entre pacientes com morte súbita comparados a indivíduos aparentemente saudáveis que morreram de causas acidentais é a obstrução das artérias que suprem o sistema de condução do coração (primeira artéria septal, artéria do nó sinusal, artéria do nó atrio-ventricular, artéria descendente posterior) (43).

Durante a pandemia de influenza de 1918, o distúrbio circulatório observado mais frequentemente foi a bradicardia. Particularmente durante a convalescência, a bradicardia tornava-se marcante. Um pequeno número de pacientes apresentava arritmias com extrasístoles auriculares ou ventriculares, e distúrbios de condução – de um mero prolongamento do intervalo P-R, passando por bradicardia com “batimentos sinu-nodais de escape”, bloqueio parcial (1:2, 1:3, 1:4), até bloqueio cardíaco completo. Tais efeitos sobre o coração eram transitórios e não respondiam à atropina. À autópsia, alguma dilatação do lado direito do coração era comumente observada, com alterações difusas tais como edema, evidências de degeneração parenquimatosa, perda de estriação, mas, usualmente, nenhuma modificação inflamatória definida do miocárdio (44). Células endoteliais não foram

descritas. Entretanto, infecção e inflamação de artérias suprimindo o sistema de condução do coração poderiam explicar tanto as arritmias ocorrendo em 1918-19 como as mortes súbitas freqüentes ocorrendo nas décadas que se seguiram, com atividade ainda relativamente elevada da influenza nos EUA. Citomegalovírus e vírus influenza são capazes de modular a produção in-vitro de IL-6 por células endoteliais humanas (45). E recentemente, o vírus A/FPV/Rostock/34 (H7N1), mostrou-se altamente endoteliotrópico (46).

### ***Evidências e argumentos bio-moleculares***

A primeira infecção por uma cepa de vírus influenza do tipo A foca a resposta humoral (e possivelmente também a celular (47)) a infecções subseqüentes, por outras cepas de vírus influenza, em epitopos compartilhados pelos antígenos da hemaglutinina original, um processo conhecido como “pecado original imunológico”(22, 48).

Tal como a reativação da doença reumática do coração pela re-infecção com estreptococo  $\beta$ -hemolítico do grupo A (49), e as exacerbações da esclerose múltipla seguindo-se a infecções do tipo viral (50), respostas imunes provocadas a cada novo encontro com um vírus influenza poderiam reativar as vias inflamatórias para a DIC, estabelecidas originalmente pelo primeiro encontro com o vírus H1N1 e algum tipo de resposta imune específica desencadeada naquela ocasião. Chama a atenção que as lesões ateroscleróticas estejam principalmente localizadas em áreas que receberiam as cargas mais elevadas de vírus e de produtos imuno-inflamatórios dos pulmões infectados – o lado esquerdo do coração, as artérias coronárias e o arco aórtico com seus ramos principais.

A reativação inflamatória endotelial provocada por reação auto-imune poderia explicar tanto os eventos agudos quanto a progressão crônica da doença vascular. Uma possibilidade específica para a mediação antigênica neste processo merece ser considerada: que a infecção por influenza ou a resposta imune a ela abarcasse antígenos moduladores do metabolismo lipídico, modificando a suscetibilidade individual à dietas ricas

em gorduras que se manifestaria como hipercolesterolemia. A interferência a nível dos receptores de LDL seria uma possibilidade. Pleskov e cols. (51) descreveram, em algumas cepas de vírus influenza, um mimetismo significativo entre as seqüências de aminoácidos envolvidas na fixação celular da hemaglutinina viral e aquelas da apolipoproteína B envolvidas na ligação do LDL aos receptores de LDL de alta afinidade. Nas re-infecções, a co-localização de auto-anticorpos anti-apo B (produto de imunidade cruzada) em locais de penetração viral no leito vascular poderia resultar em acumulação de LDL na íntima, seguida, como descrito, pela oxidação e formação subsequente de “foam-cells” (52).

Embora especulativo, um mecanismo envolvendo reatividade cruzada entre cepas H1N1 do vírus influenza e a apolipoproteína B do LDL, ou o receptor de LDL, poderia fornecer a ligação entre infecção, hipercolesterolemia e mortalidade por DIC, e lançar nova luz sobre a controvérsia dieta-coração (“diet-heart controversy (53)”). Dentro das populações, o efeito da dieta rica em gordura ou colesterol sobre os níveis séricos de colesterol dependeria mais da eficiência da captação da LDL, que seria, por sua vez, influenciada pela existência ou não de uma resposta imunológica cruzada anti-LDL (ou anti LDLr), estabelecida durante uma infecção anterior com o vírus H1N1.

Embora a associação entre Influenza e DIC ainda deva ser demonstrada experimentalmente, no conjunto, as evidências e argumentos aqui apresentados são bastante sugestivos.

## CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos ecológicos são considerados desenhos fracos para o estabelecimento de causalidade. Entretanto, a força e consistência das diferentes associações mostradas aqui, aliada à plausibilidade biológica potencial desta hipótese, tornam as associações aqui apresentadas dignas de consideração

Evidências atuais sugerem que o paradigma “*diet-heart*”, que deu suporte à pesquisa e às políticas de saúde relacionadas à DIC no século XX, não explica adequadamente todos os aspectos relacionados às tendências temporais na mortalidade por DIC (5-6, 54-55). Desde os anos 90, várias outras doenças tradicionalmente associadas com degeneração mostraram ter, ao invés, uma base inflamatória e uma etiologia infecciosa (56). A inflamação tornou-se, igualmente, o principal paradigma para a patogénia da DIC, desde que Ross e Glomset demonstraram, pela primeira vez (57-58), seu papel dominante na aterogênese (8). Esperamos que este estudo, que amplia o leque de observações epidemiológicas e subsidia com importantes evidências biológicas a hipótese de uma associação entre a Pandemia de 1918 e a epidemia de DIC primeiro apresentada pela autora em 1994 (59), estimule investigações adicionais sobre o papel da influenza no curso da DIC no século XX, e permita a extensão do paradigma inflamatório e a introdução da hipótese infecciosa na interpretação da ascensão e queda na mortalidade por DIC, uma ocorrência mundial descrita pela Organização Mundial da Saúde em 1969 como “a maior epidemia enfrentada pela espécie humana”(60).

### II.3. BIBLIOGRAFIA DO ARTIGO

1. Stallones RA. The rise and fall in ischemic heart disease. *Sci Am* 1980;243:43-9.
2. Havlick, R. J. and Feinleib, M, editors. Proceedings of the conference on the decline in coronary heart disease mortality. 1978. Hyattsville, MD: National Heart, Lung and Blood Institute, National Institutes of Health. Bethesda, Maryland.U.S.Department of Health, Education and Welfare, PHS, NIH Pub no 79-1610; 1979;
3. Levy RI. The decline in cardiovascular diseases mortality. *Ann Rev Public Health* 1981;2:49-70.
4. Sytkowski PA, D'Agostino RB, Belanger A, Kannel WB. Sex and time trends in cardiovascular disease incidence and mortality: The Framingham Heart Study. *Am J Epidemiol* 1996;143:338-50.
5. Metha JL, Saldeen TGP, Rand K. Interactive role of infection, inflammation and traditional risk factors in atherosclerosis and coronary artery disease. *JACC* 1998;31(6):1217-25.
6. Mizgala HF, Schulzer M. Coronary events and coronary care: MONICA project. *Lancet* 2000;356:430-1.
7. Ebrahim S and Davey-Smith G. Multiple risk factor interventions for primary prevention of coronary heart disease (Cochrane Review). The Cochrane Library, Issue 3 ed. Oxford: update software: 1999;
8. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.



9. Kol A, Libby P. Molecular mediators of arterial inflammation: a role for microbial products. *Am Heart J Suppl* 1999;138:S45-S52
10. Lindberg G, Gullberg B, Ecklund GA. Serum sialic acid concentration predicts both coronary heart disease and stroke mortality: multivariate analysis including 54,385 men and women during 20.5 years follow-up. *Int J Epidemiol* 1992;21:253-7.
11. Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fisher HG, Löwel H, Döring A, Hutchinson WL, Pepys MB. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984-1992. *Circulation* 1999;99:237-42.
12. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Eng J Med* 1997;336:973-9.
13. Schmitz G, Herr AS, Rothe G. T-lymphocytes and monocytes in atherogenesis. *Herz* 1998;23:168-77.
14. Watanabe T, Haraoka S, Shimokama T. Inflammatory and immunological nature of atherosclerosis. *Int J Cardiol* 1996;54 Suppl:S51-S60
15. Hajjar DP, Fabricant CG, Minick CR, Fabricant J. Virus-induced atherosclerosis. Herpesvirus infection alters aortic cholesterol metabolism and accumulation. *Am J Pathol* 1986; 122:62-70.
16. Nieto FJ. Infections and atherosclerosis: new clues for an old hypothesis? *Am J Epidemiol* 1998;148:973-48.

17. Zhu J, Nieto FJ, Horne BD, Anderson JL, Muhlestein JB, Epstein SE. Prospective study of pathogen burden and risk of myocardial infarction or death. *Circulation* 2001;103(1):45-51.
18. Mozar HN, Bal DG, Farag SA. The natural history of atherosclerosis: an ecologic perspective. *Atherosclerosis* 1990;82(1,2):157-64.
19. Anestad G, Scheel O, Hungnes O. Chronic infections and coronary heart disease. *Lancet* 1997;350:1028-9.
20. Griffin DE, Ward BJ, Esolen LM. Pathogenesis of measles virus infection: an hypothesis for altered immune response. *J Inf Dis* 1994;170(Suppl 1):S24-31.
21. Evans AS, Brachman PS. Emerging issues in infectious diseases epidemiology. *J Chron Dis* 1986; 39:1105-1124.
22. Crosby AW. *America's forgotten pandemic: the influenza of 1918*. 1st ed. New York, NY: Cambridge University Press; 1989.
23. Dowdle WR. Influenza A recycling revisited. *Bull WHO* 1999;77:820-8.
24. US Bureau of the Census. *Estimates of the population of the United States by age, color and sex: 1900 - 1940*. Current Pop Reports, Series P-25 1955;114:4-11.25.
25. Collins SD. Age and Sex incidence of influenza and pneumonia morbidity and mortality in the epidemic of 1928-29 with comparative data for the epidemic of 1918-19. *Pub Health Rep* 1931;46:1909-37.
26. Collins SD. Influenza-pneumonia mortality in a group of about 95 cities in the United States. *Pub Health Reports* 1930;54:361-407.

27. Gover M. Influenza and pneumonia mortality in a group of 90 cities in the United States, August 1935-March 1943, with a summary for August 1920-March 1943. *Pub Health Reports* 1943;58:1033-61.
28. Ravenholdt RT. Historical epidemiology and grid analysis of epidemiologic data. *Am J Publ Health* 1966;52:776-90.
29. US Bureau of the Census. Estimates of the United States population and of the components of change, by age, color and sex: 1940-1950. *Current Pop Reports, Series P-25* 1954;98:6-8.
30. Wing SB, Hayes C, Heiss G, John E, Knowles M, Riggan W, Tyroler HA. Geographic variation in the onset of the decline of ischemic heart disease mortality in the United States. *Am J Publ Health* 1986;76:1404-8.
31. Gillium RF. Coronary heart disease in black population. *Am Heart J* 1982;104:839-51.
32. Sydenstricker E. The incidence of influenza among persons of different economic status during the epidemic of 1918. *Publ Health Rep* 1931;46:154-70.
33. Wing SB, Barnett EM, Casper ML, Tyroler HA. Geographic and socioeconomic variation in the onset of decline of ischemic heart disease mortality in the United States. *Am J Publ Health* 1992;82:204-9.
34. Rosamond WD, Chambless LE, Folsom AR, Cooper LS, Conwill DE, Clegg L, Wang CH, Heiss G. Trends in the incidence of myocardial infarction and in mortality due to coronary heart disease, 1987 to 1994. *N Engl J Med* 1998;339(13):861-735.
35. Collins SD. Excess mortality from causes other than influenza and pneumonia during influenza epidemics. *Pub Health Reports* 1932;47:2159-79.

36. Eickoff TC, Sherman IL, Serfling RE. Observations on excess mortality associated with epidemic influenza. *JAMA* 1961;176:776-82.
37. Elveback L. Coronary heart disease in Rochester, Minnesota, 1950-75: incidence and survivorship. Hyattsville ,MD: Department of Health, Education and Welfare (NIH Publication no (PHS) 79-1610.); 1979. 116p.
38. McKinlay JB, McKinlay SM, Beaglehole R. A review of the evidence concerning the impact of medical measures on recent mortality and morbidity in the United States. *Int J Health Serv* 1989;19(2):181-208.
39. Gordon T, Thom T. The recent decrease in CHD mortality. *Prev Med* 1975;4:115-25.
40. Azambuja MI. Rise and fall in ischemic heart disease mortality: it may have happened before. *Rev Saude Publica* 1995;29:440-3.
41. Oseasohn R, Adelson L, Kaji M. Clinicopathologic study of thirty-three fatal cases of asian influenza. *New Eng J Med* 1959; 260:509-18.
42. Siscovick DS, Raghunathan TE, Lin D, Weinmann S, Arbogast P, Lemaitre RN, Psaty BM, Alexander R, Cobb LA. Influenza vaccination and the risk of primary cardiac arrest. *Am J Epidemiol* 2000;152(7):674-7.
43. Velican D, Serban-Piriu G, Petrescu C, Velican C. Prevalence of thick intimas and of obstructive lesions in the vessels supplying the conduction system of the heart. *Med Interne* 1989;27:197-208.
44. Cardiac disturbances during the pandemic of influenza of 1918 to 1920. [Editorial]. *Ann Int Med* 1958; 49:1267-72.

45. Visseren FL, Verkerk MS, Bouter KP, Diepersloot RJ, Erkelens DW. Interleukin-6 production by endothelial cells after infection with influenza virus and cytomegalovirus. *J Lab Clin Med* 1999 Dec;134(6):623-30.
46. Feldmann A, Schafer MK, Garten W, Klenk HD. Targeted infection of endothelial cells by avian influenza virus A/FPV/Rostock/34 (H7N1) in chicken embryos. *J Virol* 2000 Sep;74(17):8018-27.47.
47. Klenerman P, Zinkernagel RM. Original antigenic sin impairs cytotoxic T lymphocyte responses to viruses bearing variant epitopes. *Nature* 1998; 394: 482-5.
48. Hennessy AV, Davenport FM. Epidemiologic implications of the distribution by age of antibody response to experimental influenza virus vaccines. *J Immunol* 1958;80:114-21.
49. Guilherme L, Cunha-Neto E, Tanaka AC, Dulphy N, Kalil J. Heart-directed autoimmunity: the case of rheumatic fever. *J Autoimmun* 2001;16:363-7.
50. Fujinami RS. Can virus infections trigger autoimmune disease? *J Autoimmun* 2001;16:229-34.
51. Pleskov VM, Bannikov AI, Zaitzev IV. [The receptor-mediated endocytosis of influenza viruses and low-density lipoproteins by tissue cells]. *Vopr Virusol* 1994;39:121-5.
52. Steinberg D, Witztum JL. Lipoproteins and atherogenesis. *JAMA* 1990;264:3047-52.
53. Blackburn H, Jacobs D. Sources of the diet-heart controversy: confusion over population versus individual correlations. *Circulation* 1984;70:775-80.
54. Taubes,G. The soft science of dietary fat. *Science* 2001; 291:2536-2545.

55. Kuulasmaa, K. ; Tunstall-Pedoe, H.; Dobson, A.; Fortmann, S. ; Sans, S. ; Tolonen, H. ; Evans, A. ; Ferrario, M. ; Tuomilehto, J., 2000 . Estimation of contribution of changes in classic risk factors to trends in coronary-event rates across the WHO MONICA Project populations. *Lancet*, 355:675-87.
56. Lorber B. Are all diseases infectious? *Ann Int Med* 1996;125:844-51.56.
57. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *N Engl J Med* 1976;295:369-77.57.
58. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (second of two parts). *N Eng J Med* 1976;295:420-5.
58. Reinert-Azambuja M. 1918-19 influenza pandemic and ischemic heart disease epidemic: cause and effect?[abstract]. Xth International Symposium on Atherosclerosis. 1994 Oct 9-14; Montréal. *Atherosclerosis* 1994;109:328.
59. World Health Organization warns heart diseases are becoming mankind's greatest epidemic. *Bull Int Soc Cardiol* 1969;(1):1.

## II.4. Figuras

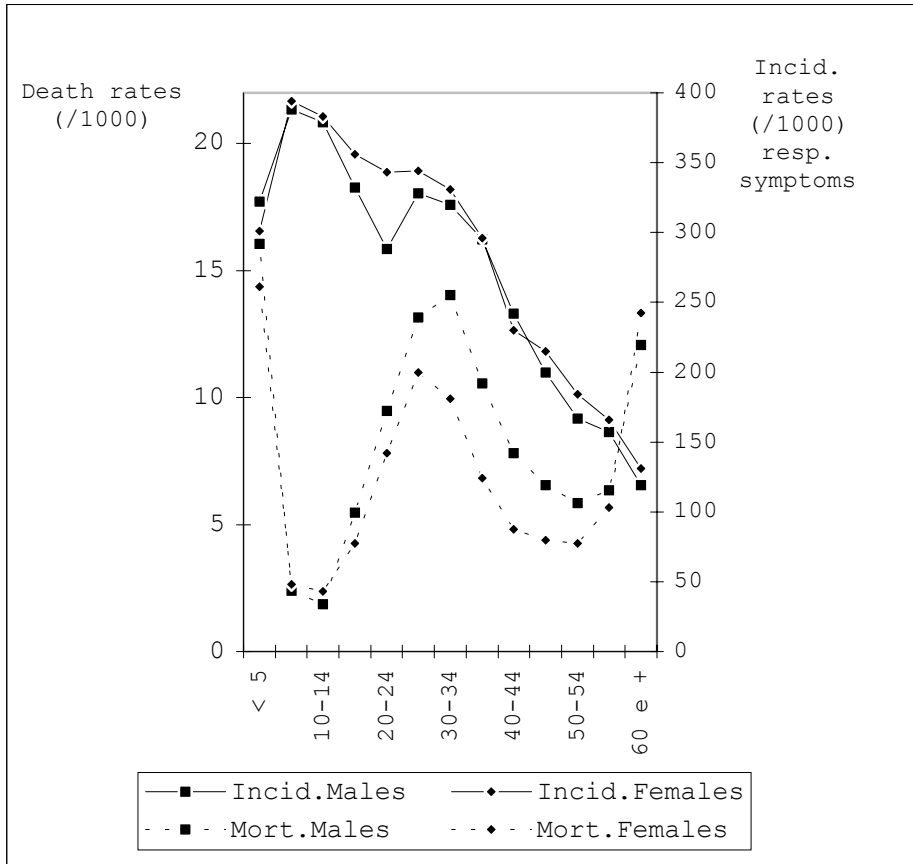


Figure 1: 1918-19 Influenza and Pneumonia morbidity and mortality (/1000) by sex and age. US Registration States. Data from refs. 22, 24-25.

Figura 1: Morbidade e mortalidade (/1000) por Influenza e Pneumonia em 1918-19, por sexo e idade. Área de Registro dos EUA. Dados das referências 22, 24-45.

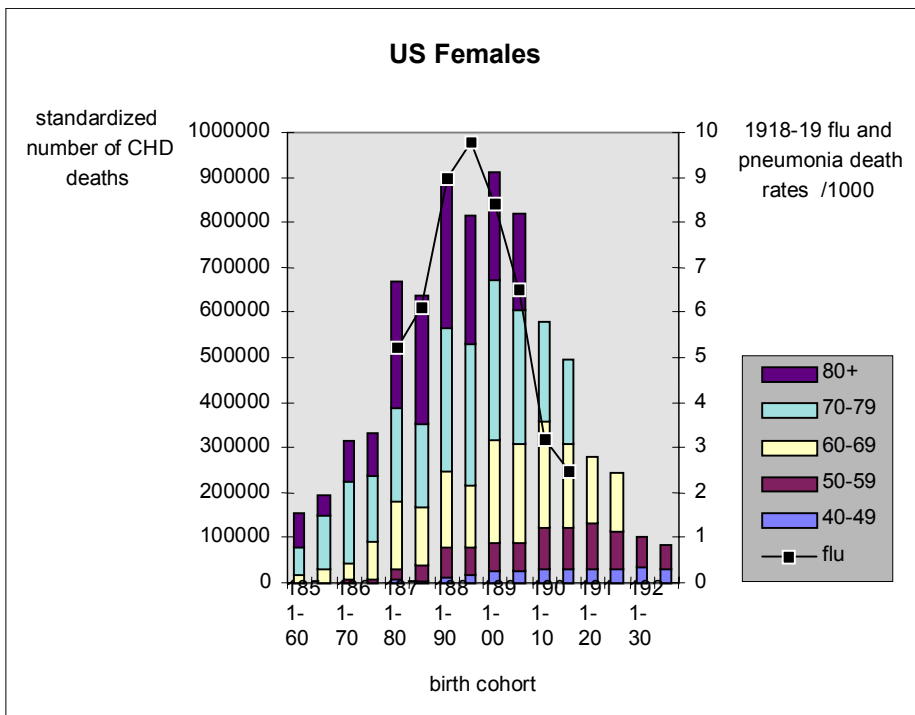
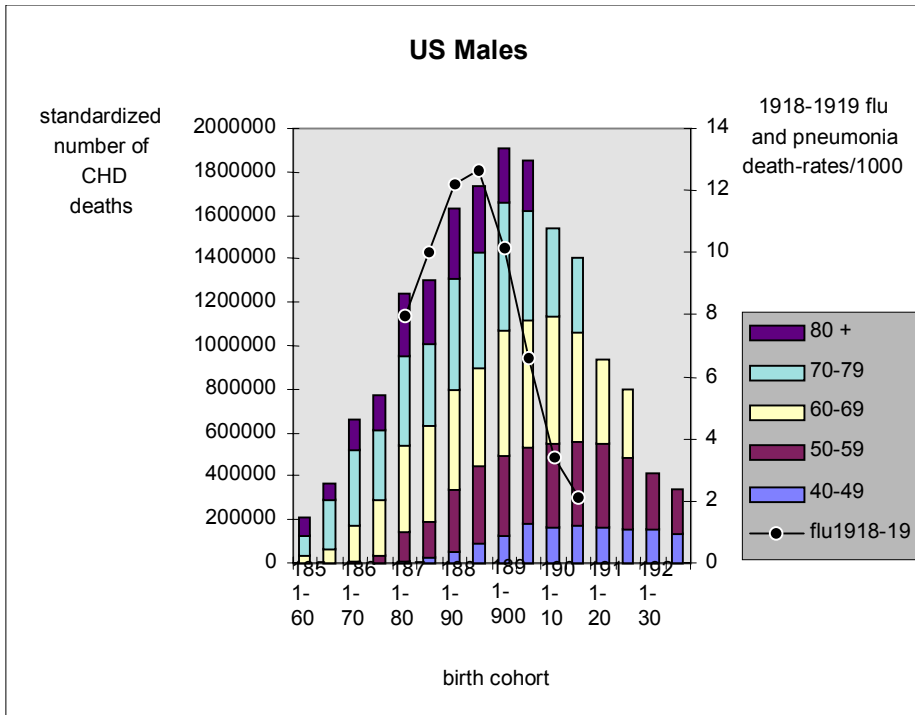


Figure 2: Relative distributions of 1918-19 Influenza and Pneumonia death-rates(line) and of 1920-85 CHD standardized<sup>a</sup> number of deaths (bars) stratified by age (colors), in successively born cohorts, according to sex - US. (Sources: CHD mortality data: from "National Center for Health Statistics, Vital Statistics of the United States, Vol II, Mortality. Published and unpublished data - selected years" and ref. 28-29; Influenza data: from refs. 22,24 ).



<sup>a</sup>*Standard cohort with a surviving population at each 10-year interval corresponding to the age-distribution of the 1940 US population, according to sex.*

Figura 2: Distribuição relativa das taxas de mortalidade por Influenza e Pneumonia em 1918-19 (linha) e do número padronizado de mortes por DIC no período de 1920-85 (colunas) estratificado por idade (cores), em sucessivas coortes de nascimento, de acordo com o sexo.

(Fontes: 1)Mortalidade por DIC: dados do "National Center for Health Statistics, Vital Statistics of the United States, Vol II, Mortality. Published and unpublished data - selected years" e ref. 28-29; 2)Influenza: refs. 22,24.)

<sup>a</sup> Coorte padronizada: com uma população sobrevivente a cada 10 anos de intervalo correspondendo à distribuição etária da população dos EUA em 1940, em cada sexo.

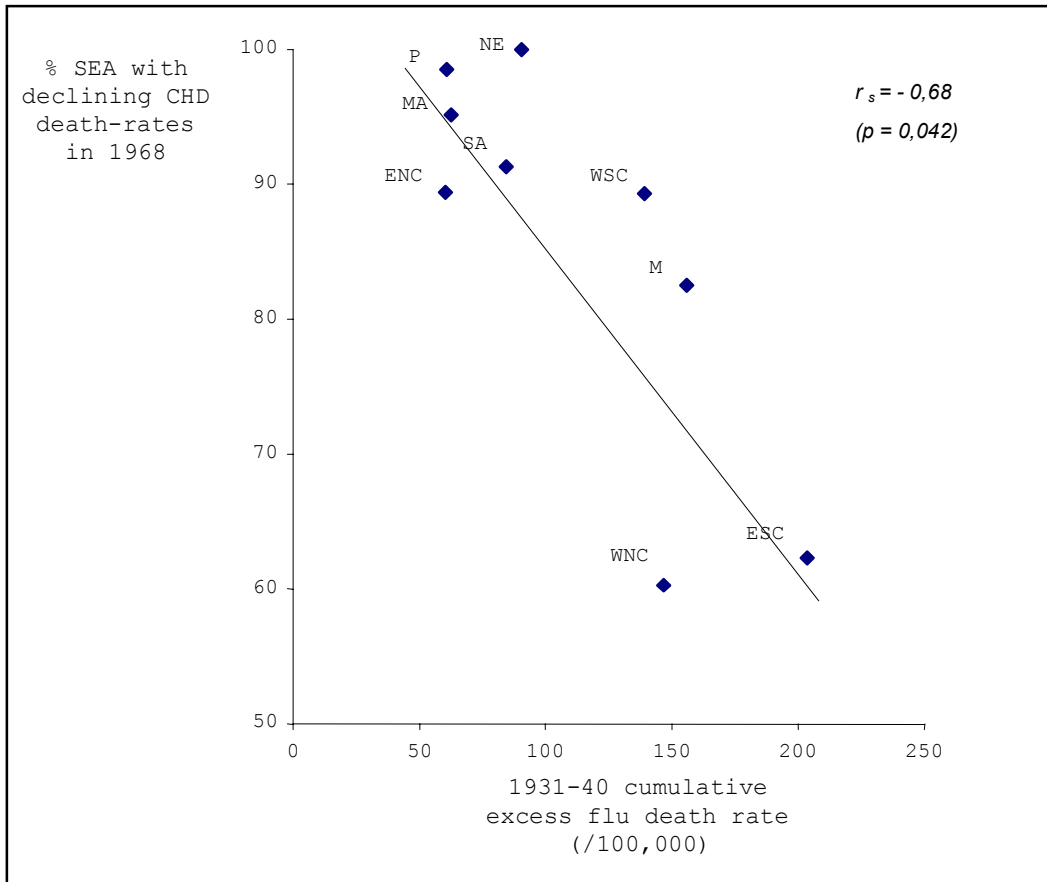


Figure 3: Correlation<sup>a</sup> between persistence of H1 flu activity after 1930 (measured by 1931-40 flu excess death rates (27)) and the beginning of the decline in CHD mortality (measured by proportion of metropolitan SEA<sup>b</sup> with declining CHD death rates in 1968 and earlier (30)), across the US Geographic Divisions<sup>c</sup>.

Figura 3: Correlação<sup>a</sup> entre a persistência da atividade do vírus da influenza após 1930 (medida pelo excesso nas taxas de mortalidade por influenza entre 1931-40 (27)) e o início do declínio na mortalidade por DIC (medida pela proporção de áreas econômicas metropolitanas com taxas declinantes de mortalidade por DIC em 1968 ou antes (30)) nas Divisões Geográficas<sup>c</sup> dos EUA.

<sup>a</sup> Spearman ( $r_s$ ) correlation.

<sup>b</sup> SEA = State Economic Areas

<sup>c</sup> NE:Northeast; P:Pacific; MA:Mid-Atlantic; ENC:East North Central; SA:South Atlantic; WSC:West South Central; M:Mountain; WNC:West North Central; and ESC: East South Central.