

The role of systemic inflammation in cardiovascular disorders evolution

E. Panfile

Department of Acquired Cardiac Malformations, Institute of Cardiology, Chisinau, the Republic of Moldova

Corresponding author: p.a.n.f.i.l.e@rambler.ru. Manuscript received September 22, 2014; accepted December 05, 2014

Abstract

Background: Growing clinic-experimental evidences suggest notable systemic inflammation implication in the pathogenesis of multiple cardiovascular diseases. This article is aimed at underlying the most important referred to inflammation mechanisms causing circulatory disorders and proven predictors of their diagnosis and prognosis. It has been established that crucial triggering factor of inflammatory response is the nuclear transcription factor-*kappaB* whose activation leads to increased quantity and expression of a lot of inflammation mediators, like C reactive protein, cytokines (TNF-alpha, interleukins), chemokines (MCP-1) and intercellular adhesion molecules (selectins, integrins) which basically guide the sequestration of circulatory leukocytes. These mediators are responsible for inflammation sustaining and dissemination. On the other hand IL-10 is defined as a cytokine having anti-inflammatory action. The common effects of inflammation are endothelial dysfunction associated with NO synthesis impairment, oxidative stress boosting, extracellular matrix reorganization resulted from metalloproteinase activation, cell migration proliferation and apoptosis, neointima hyperplasia and plaque destabilization.

Conclusions: Recent studies indicate the inflammation pathogenic value in the major adverse cardiovascular events development in patients undergone primary coronary revascularization by angioplasty, inclusive in-stent restenosis. Diabetes mellitus, smoking, dislipidemia, metabolic syndrome, hyperhomocysteinemia, arterial hypertension are main cardiovascular risk factors leading to inflammatory response augmentation.

Key words: systemic inflammation, cardiovascular disorders.

Rolul inflamației sistemice în evoluția afecțiunilor cardiovasculare

Cercetările fundamentale și clinice asupra studiului aportului inflamației sistemice (IS) în patogenia afecțiunilor cardiovasculare au în plan cantitativ, o ascensiune notabilă în ultimii 8-10 ani. Substratul conceptual al acestei abordări este determinat de relațiile care, tot mai frecvent, aduc la apel corelarea gradului manifestărilor clinico-funcționale cu devierile nivelurilor circulante ale markerilor specifici ai IS.

În mod general, inflamația sistemică este definită drept un complex de modificări celulare și moleculare, care se desfășoară în peretele vascular (artere și vene) și țesuturile organelor vitale, rezultând în acumularea celulelor sanguine proinflamatoare, activarea enzimelor matricei extracelulare și stresului oxidativ, apoptoza celulară și reorganizarea spațiului interstițial. Spre deosebire de inflamația clasică care evoluează, de regulă, local și este declanșată de flogogenul bacterian, IS este indusă și susținută, în fond, de citokinele proinflamatoare, care asigură diseminarea și evoluția persistentă a răspunsului inflamator iar, pe de altă parte, servesc drept markeri specifici și, totodată, predictorii ai pronosticului disfuncției organice [1, 2, 3].

Cu referire la sistemul cardiovascular, este important de menționat validarea de către Asociația Americană a Inimii a utilizării markerilor IS în evaluarea afecțiunilor coronariene și miocardului, îndeosebi a sindromului coronarian acut [4]. Cei mai pertinenti markeri afișați în panoul de diagnostic și pronostic sunt proteina C reactivă (PCR), interleukinele (IL), cum ar fi IL-1, IL-6, IL-10, IL-18 etc, precum și chemokinele (*i.e.* interleukinele cu efect chemoattractant asupra celulelor proinflamatoare circulante) și moleculele de adeziune intercelulară. În acest context, s-a evidențiat și valoarea informativă a PCR privind aprecierea riscului evoluției infarctului miocardic acut cu elevarea segmentului ST și a restenozei intra-stent după corecția stenozei coronariene prin angioplastie cu implantare de stent.

Mai mult decât atât, în baza unei meta-analize a 11 tria-luri clinice (studii caz control), Asociația Americană a Inimii a tranșat PCR drept predictor al evoluției afecțiunilor cardi-ovasculare la pacienții asimptomatici [5]. Valoarea serică a PCR din tertila superioară a coortei generale de persoane investigate are o rată a probabilității privind evoluția afecți-unilor coronariene egală în medie cu 2,0 (intervalul confi-dențial 1,6-2,5). Rezultatele studiului MONICA, de aseme-nea, au demonstrat valoarea predictivă a PCR, estimată prin tehnică înalt senzitivă (hsCRP) asupra evoluției afecțiunilor cardiovasculare la bărbații aparent sănătoși de vârstă medie (n = 936) pe o perioadă de supraveghere de circa 8 ani [6].

Stimulii naturali care posedă acțiune trigger și sustenabi-lă asupra răspunsului inflamator, care compromite sistemul cardiovascular nu sunt încă pe deplin elucidati. Totuși, se evidențiază însemnătatea activării neuroendocrine, disfunc-ției endoteliale, stresului oxidativ, diabetului zaharat, sin-dromului metabolic și obezității, dislipidemie, tabagismului etc. Fiind una din componentele de bază ale patogeniei ater-osclerozei, dovedită pe un material probatoriu vast, infla-mația este tratată actualmente și drept o repercusiune a le-ziunilor aterosclerotice ale vaselor periferice și coronariene.

Relatarea de sinteză a lui D. Mann este una din primele publicații, care trece în apanajul conceptual al insuficienței cardiace, influența congruentă a activării neuroendocrine și a răspunsului inflamator sistemic, asociată de activarea sistemului imun celular [7]. Elevarea nivelurilor circulante ale mediatorilor proinflamatori se corelează autentic cu gra-dul de majorare a norepinefrinei, endotelinei-1 și Ang II în sânge, cât și cu severitatea clinică și modificările funcționale ale cordului. Catecolaminele sunt în plan conceptual vizate drept potențiali factori neuroendocrini de stimulare a sin-tezei în miocard a citokinelor proinflamatoare, în special în stările de hipoperfuzie și injurie cardiacă [8].

Hipoxia, ischemia miocardului, carența energetică, repercusiunile de bază ale excesului de catecolamine, induc creșterea notabilă a expresiei TNF-alpha și IL-6 în miocard și perețele coronarian, rezultând într-o serie de modificări patologice (e.g. disfuncție endotelială, apoptoză, reorganizare a matricei extracelulare vasculare și interstițiului miocardic etc.).

Acțiunea de stimulare a expresiei enzimei de conversie a TNF-alpha (TACE) în formă solubilă este atribuită atât catecolaminelor, cât și altor factori neuroendocrini, cum ar fi angiotensina II (Ang II), endotelina-1 (ET-1), vasopresina [9]. Pe de altă parte, este importantă și acțiunea de stimulare a TNF-alpha asupra sistemului neuroendocrin [10].

Blocarea receptorilor centrali TLR4 (Toll-like) cu care se cuplează TNF-alpha, a determinat reducerea expresiei citokinelor proinflamatoare în modelarea hipertensiunii arteriale prin acțiunea excesului de Ang II, ameliorarea remodelării vasculare cerebrale și coronariene, precum și hipertrofiei miocardului [11].

Se consideră că blocarea receptorilor TLR4 din creier exercită o reglare „în jos” a expresiei citokinelor proinflamatoare în miocard.

Conexiunea dintre disfuncția endotelială și inflamație este, în mare parte, datorată carenței de oxid nitric, care potențează expresia moleculelor de adeziune intercelulară (în primul rând a selectinelor și integrinelor) și, respectiv, pasajul celulelor circulante proinflamatoare (e.g. neutrofile, limfocite și chiar monocite) în spațiul subendotelial și extravazarea lor în țesut.

Moleculele de adeziune intercelulară din familia selectinelor influențează predominant rostogolirea celulelor proinflamatoare circulante pe suprafața endotelului, iar integrinele, ICAM-1 (molecula de adeziune intercelulară) și PECAM-1 (molecula de adeziune celulară derivată de placete), asigură prin intermediul receptorilor specifici, adeziunea leucocitelor la endoteliocit și migrarea lor ulterioară prin spațiul dintre 2 celule endoteliale vecine. Infiltrarea celulelor proinflamatoare și augmentarea răspunsului inflamator exacerbează leziunile endoteliale și accentuează deficitul de NO, rezultând în creșterea expresiei moleculelor de adeziune intercelulară. Acest fenomen se datorează în parte majorării expresiei și activității NF- κ B (factorul nuclear *kappa*B) în disfuncția endotelială, care determină elevarea expresiei practic tuturor citokinelor proinflamatoare [12]. Remodelarea vasculară, odată cu vârsta, agravarea injuriilor aterosclerotice și prezența deranjamentelor metabolice (e.g. sindromul metabolic, diabetul zaharat) este asociată de creșterea activității transcripționale a factorului nuclear κ B, necesară în controlul sintezei diferitor citokine și molecule de adeziune intercelulară. Mai mult ca atât, NF-*kappa*B crește activitatea și expresia NOSi (nitricoxidsintetaza inductibilă), iar excesul de oxid nitric (NO) potențează stresul nitrozativ.

Deja în publicația lui B. Levin și colab. (1990), considerată ca o primă relatare a corelației dintre nivelul circulant al TNF-alpha și severitatea insuficienței cardiace cronice, s-a sugerat semnificația patogenetică a inflamației în remodelarea miocardului, precum și rolul-cheie al NF- κ B [13]. Ulterior, au fost estimate și nivelurile circulante ale recepto-

rilor solubili (TNF-alpha-R1 și -R2) care, de asemenea, s-au corelat concludent cu statusul funcțional și clinic al insuficienței cardiace, valoarea lor predictivă privind pronosticul la distanță a IS fiind similară TNF-alpha. Dislipidemia, hipertensiunea arterială și tabagismul periclitează în plan funcțional și structural endoteliul vascular, rezultând în potențarea răspunsului inflamator.

O altă cauză a activării răspunsului inflamator în afecțiunile cardiovasculare este stresul oxidativ. Radicalii liberi de oxigen sunt unii din factorii principali, care lezează și degradează centrul inhibitor nuclear al NF- κ B citozolic, fapt ce impune translocarea acestuia din urmă în nucleu, activarea genelor proinflamatoare și sinteza sporită a citokinelor. Rata dominantă de formare a radicalilor liberi de oxigen se datorează aparatului mitocondrial, în special, sistemului respirator de transport al electronilor, iar în urma pierderii unui electron, molecula de oxigen devine activă (e.g. anionul superoxid, radicalul hidroxil), care preluând electronul pereche de la structurile organice (lipide, proteine, acizii nucleici etc.) alterează celulele și organele ei.

Hiperglicemia inerentă diabetului zaharat, precum și hiperglicemia postprandială intensifică procesul de eliberare a speciilor agresive de oxigen. F. Paneni și colab. (2013), aduc la apel în acest context, mai multe căi de formare a radicalilor liberi de oxigen (RLO), prin intermediul protienkinazei C, care angrenează NADPH oxidaza și proteina adaptor p66, reducerea expresiei NOS constitutivă, excesul de endotelina-1 și inhibiția proceselor de fosforilare [14]. Hiperglicemia, totodată, conduce la glicarea neenzimatică a proteinelor, produsele finale ale căreia prin intermediul receptorilor RAGE, augmentează eliberarea RLO de către diferite celule (endoteliocit, miocit neted vascular, cardiomiocit etc.).

Mai multe studii au demonstrat, că gradul de afectare a sensibilității receptorilor la insulină se corelează cu gradul de expresie a markerilor inflamației și al leziunilor vasculare, fenomen asociat de creșterea expresiei NF- κ B [15, 16].

Evidențele acumulate sugerează prezența unei interdependențe dintre insulinorezistență și răspunsul inflamator. Y. Hasegawa și colab. (2012) au stabilit, că atenuarea expresiei NF- κ B se manifestă prin ameliorarea sensibilității receptorilor la insulină, precum și a funcționalității celulelor endoteliale [17].

Fluctuațiile glicemiei iminente prediabetului au impact negativ asupra răspunsului inflamator, similar celui atestat în hiperglicemia bazală. Datele obținute de către M. Rizzo și colab. (2012), indică augmentarea răspunsului inflamator la pacienții cu diabet zaharat de tip II și fluctuații diurne de glicemie, iar atenuarea acestora se manifestă prin reducerea marcată a markerilor proinflamatori, PCR, IL-1, IL-6 și IL-8 [18]. În paralel cu ameliorarea răspunsului inflamator, autorii au urmărit și reducerea activității stresului în baza deprecierii concentrației plasmatică a nitrotirozinei (produsul interacțiunii NO și anionului superoxid).

Este important în plan conceptual și rolul inflamației în formarea memoriei metabolice a celulei expuse acțiunii hiperglicemiei, punctul de tangență în cadrul acestui fenomen vizavi de acțiunea RLO fiind metilarea diminuată a proteinei

66, care persistă pe o anumită perioadă chiar și în condiția de normalizare a glicemiei [19]. Activarea și expresia factorului nuclear *kappaB* indusă de hiperglicemie se decelează la cote neschimbate și după corecția nivelului de glucoză, fapt ce a determinat și niveluri majorate ale markerilor inflamației.

Creșterea activității factorului tisular în diabet, care conduce la un status protrombotic este, de asemenea, vizat drept un mecanism al augmentării răspunsului inflamator [20, 21].

M. White și colab. (2006) au estimat dinamica markerilor inflamației și stresului oxidativ, precum și nivelului hiperglicemiei la pacienții cu insuficiență cardiacă congestivă de origine ischemică, consemnând modificări similare ale acestora în funcție de ameliorarea sau agravarea IC [22]. Autorii au stabilit, îndeosebi, o corelare concludentă între nivelul circulant al TNF-alpha și moleculele de adeziune solubile, ICAM-1 și selectina-E, precum și gradul de infiltrare a celulelor proinflamatoare (neutrofile și monocite) în miocard. Rezultatele studiului realizat au arătat în premieră elevarea IL-18 la pacienții cu insuficiență cardiacă, incrementul căreia față de valoarea normală a indicelui s-a dovedit a fi mai mare, comparativ cu sporul altor citokine (e.g. TNF-alpha, IL-1 și IL-6). Autorii consideră că sursa principală a markerilor inflamației sunt miocardul și arterele coronariene.

Valoarea patogenetică a sindromului metabolic și obezității, ca factori importanți de risc cardiovascular, este fondat tratată și prin prisma inflamației sistemice.

Elevarea nivelului circulant al leptinei, hormon polipeptid (1,6 kD), secretat de celulele adipoase, este în raport direct cu creșterea dimensiunii adipocitului, gradului de afectare a sensibilității receptorilor la insulină, riscului cardiovascular, dar și a conținutului plasmatic al markerilor inflamației. Privind adiponectina, un alt hormon secretat de țesutul adipos, este de subliniat declinul ei în sânge odată cu agravarea manifestărilor cardiovasculare, fapt care sugerează acțiunea ei preventivă asupra dishomeostaziei circulatorii în special la pacienții cu sindrom metabolic și obezitate.

Leptina și adiponectina au acțiuni diferite asupra răspunsului inflamator: stimulative și, respectiv, inhibitoare [23].

Efectul proinflamator al leptinei este confirmat prin corelarea strânsă între nivelul ei circulant și al markerilor principali ai inflamației (TNF-alpha, IL-1, IL-6, ICAM-1 etc.). Administrarea la animalele de laborator a leptinei conduce la un răspuns inflamator în miocard și peretele vascular, atestat biochimic și histologic.

C. Procaccini și colab. (2012) consideră că acțiunea proinflamatoare a leptinei este determinată în fond de stimularea sistemului imun, în primul rând, a limfocitelor T-helper prin intermediul activării receptorilor specifici, JAK-STAT, PI3K și ERK 1/2 [24].

Deci, leptina este o moleculă pleiotropă, care reglează nu numai apetitul, dar conectează procesul imun la inflamația nespecifică și angrenează *per ansamblu* sistemul neuroendocrin, fiind un predictor cardiovascular și al pronosticului pacienților cu sindrom metabolic și diabet zaharat [25].

Țesutul adipos subepicardic conține un număr mare de limfocite ce contactează cu adipocitele și care stimulează expresia receptorilor celulari specifici către leptină.

Efectul antiinflamator al adiponectinei (monomer, 30 kD) se estimează prin prezența raportului indirect între nivelul adipokinei (citokina adipocitelor) și al markerilor IS, îndeosebi, la pacienții cu afecțiuni coronariene, diabet zaharat și hipertensiune arterială [26].

Deja relatarea lui A. Berg și P. Scherer (2005) semnaleză fenomenul reducerii sintezei adiponectinei odată cu mărirea dimensiunii lor (deci odată cu creșterea gradului de obezitate), asociind creșterea markerilor răspunsului inflamator și ai riscului cardiovascular [27]. Adiponectina inhibă expresia TNF-alpha și IL-6 în țesutul adipos, iar citokinele proinflamatoare reduc capacitatea adipocitelor de sinteză a acesteia. Radicalii liberi de oxigen, de asemenea, micșorează rata de sinteză a adiponectinei, stimulând, totodată, formarea rezistinei, o citokină cu acțiune proinflamatoare [28]. Diminuarea adiponectinei potențează efectul citokinelor proinflamatoare asupra remodelării miocardului și vasculare [29].

Un factor cu acțiune stimulative asupra inflamației sistemice și care angrenează atât dereglările metabolice, cât și disfuncția endotelială, este hiperhomocisteinemia, datorată, în fond, carenței vitaminelor B2, B6, B9 (acid folic) și B12, necesare în procesul de convertire a metioninei în cisteină. Prezența vitaminelor, magneziului și zincului, este importantă în convertirea biochimică a aminoacidului în *C-adenozyl*-metionină și glutation.

Mai multe studii clinice au dovedit rolul nivelurilor elevate de homocisteină (peste 15 $\mu\text{mol/L}$) în periclitarea formării oxidului nitric, activarea stresului oxidativ, accentuarea răspunsului imun-inflamator și exacerbarea evoluției afecțiunilor cardiace, vaselor periferice, coronariene și cerebrale [30, 31, 32].

Datele obținute *in vitro* de Z. Chang și colab. (2014) indică acțiunea hiperhomocisteinemiei de periclitare a relaxării vasculare, mediate de factorul hiperpolarizant derivat de endotelium, iar vasorelaxarea dependentă de NO este compromisă, în special, pe fundalul impactului diabetogen [33].

Cu referire la inflamație, este de menționat acțiunea homocisteinei asupra expresiei moleculelor de adeziune intercelulară pe endotelocit, care rezultă în recrutarea exagerată a neutrofilelor, monocitelor, limfocitelor și acumularea lor în spațiul subendotelial și interstițiul miocardic. În plus, hiperhomocisteinemia stimulează sinteza matricei extracelulare și proliferarea miocitelor netede vasculare, prin care se aduc sufragii în privința validării ei drept un factor de risc metabolic asupra evoluției leziunilor vasculare aterosclerotice. Alte repercusiuni cardiovasculare ale hiperhomocisteinemiei sunt datorate consolidării unui status protrombotic și eliberării în surplus a mediatorilor vasotropi și inflamatori derivați de acidul arahidonic (e.g. prostaglandina E2, leucotrienele etc.).

Implicarea hiperhomocisteinemiei în remodelarea coronariană negativă după angioplastie este confirmată de mai mulți autori, care au relatat reducerea incidenței restenozei intra-stent pe fundalul micșorării sau normalizării nivelului circulant al markerului [34, 35]. În acest context, sunt evidențiate 3 mecanisme prin care homocisteina promovează riscul restenozei intra-stent: 1) recrutarea leucocitelor grație

creșterii expresiei IL-8 și MMP-1 (proteinei chemoattractante a monocitelor); 2) intensificarea *turnover*-ului colagenului fibrilar de tip I și III; 3) acumularea marcantă a plachetelor datorită efectului proagregant *per se* al aminoacidului sau compromiterii sistemului endotelial de inhibiție a adeziunii trombocitare.

Acțiunea detrimentală a inflamației asupra vasului se realizează în consonanță cu impactul dislipidemiilor, un factor de risc potent al aterosclerozei. Viziunea conceptuală remarcă, în primul rând, efectul mediatorilor inflamației de stimulare a lipolizei, ceea ce duce la majorarea nivelurilor circulante ale acizilor grași liberi, trigliceridelor și colesterolului LDL. Totodată, citokinele proinflamatoare modifică compoziția și funcția carierului HDL al colesterolului, determinând nu numai reducerea cantitativă, dar și a capacității antioxidante iminente lipoproteinelor cu densitate înaltă. Prin urmare, inflamația potențează efectul aterogenic al dislipidemie și cel de remodelare vasculară.

În comunicarea recentă a lui U. Tietge (2014), se menționează rolul inflamației subendoteliale, asociate de activarea fosfolipazei A2 (FLA2) în promovarea pasajului transendotelial al moleculelor LDL oxidate, determinat în parte de creșterea conținutului de superoxid anion) și expresiei receptorilor LDL [36]. Autorul subliniază, de asemenea, rolul proteinkinazei activate de adenozinmonofosfat în medierea acestor procese.

M. Mancini și colab. (2011), coroborează semnificația predictivă a fosfolipazei A2, asociate de lipoproteinele circulante (LDL) în vederea destabilizării plăcii aterogene și evoluției accidentelor vasculare, drept consecvență a interacțiunii inflamației și deranjamentelor lipidice [37].

Markerii principali ai inflamației și semnificația lor fiziopatologică. În baza evidențelor acumulate privind aportul inflamației sistemice în evoluția afecțiunilor vaselor și cordului și complicațiilor acestora, grupul de lucru al Asociației Americane a Inimii și Centrelor de control al bolilor a desemnat în 2002 panoul de utilizare a markerilor IS drept predictor ai diagnosticului și pronosticului cardiovascular [38]. Acesta a inclus PCR, citokinele, moleculele de adeziune intercelulară, fibrinogenul și amiloidul C.

O serie de markeri ai IS care, de regulă, fac parte din familia citokinelor, precum și fosfolipaza A2 au fost acceptați ulterior ca predictor ai afecțiunilor cardiovasculare, dată fiind legătura lor pertinentă cu răspunsul inflamator și dinamica evoluției clinice și funcționale a bolilor.

Proteina C reactivă, un pentamer polipeptidic, vizată drept un factor important al fazei acute a inflamației, rămâne cel mai bine studiat și fidel predictor al afecțiunilor cardiovasculare. Ultimele studii au demonstrat, că PCR este sintetizată nu numai în ficat sub acțiunea diferitor citokine proinflamatoare, dar și de alte celule, cum ar fi endoteliocele, cardiomicocele, miocitele netede coronariene. Deși rata sintezei extrahepatice a PCR este relativ joasă, semnificația fiziopatologică a acesteia devine inteligibilă în contextul decelării capacității ei de realizare a mai multor funcții propice remodelării vasculare și cardiace: diminuarea expresiei NOS constitutive din endoteliu și creșterea expresiei NOS inductibile,

stimularea sintezei factorului nuclear-*kappa*B, TNF- α și proliferării celulelor musculare netede vasculare, activarea metaloproteinazelor matricei extracelulare etc. Ultima rezultă în degradarea colagenului fibrilar de tip I, producând o creștere a cantității de colagen și, respectiv, acumularea monocitelor, macrofagilor și miocitelor netede migratoare în spațiul subendotelial. Prin intermediul receptorilor FC γ RI, FC γ RIIa și Fc α RIIb, proteina C reactivă activează neutrofilele și induce formarea excesivă a radicalilor liberi de oxigen. Totodată, PCR acționează și ca modulator al procesului inflamator datorită stimulării prin intermediul receptorilor FC γ RI ai sintezei de către macrofage a citokinei cu proprietăți antiinflamatoare, IL-10.

N. Jenny și M. Cushman (2014), consideră în acest context, PCR nu numai un produs al inflamației, dar și un factor cu abilitatea de accentuare și diseminare a procesului inflamator, fiind un predictor de valoare în estimarea aterosclerozei subclinice [39].

Mai multe studii populaționale (MONICA, ARIC, HANES, Honolulu Heart Study), au evidențiat valoarea predictivă a PCRhs în stratificarea riscului cardiovascular. După ajustarea la factorii de risc utilizați în scorul Framingham, PCRhs se anunță un predictor al evenimentelor coronariene.

Potrivit AHA (Clasa IIa de recomandări practice, nivelul B de evidențe), sunt evidențiate 3 paliere de valori ale PCRhs privind riscul cardiovascular la persoanele asimptomatice cu diferiți factori de risc:

- < 1,0 mg/L – risc minor;
- 1-3 mg/L – risc mediu;
- > 3,0 mg/L – risc majorat.

Este conceptual importantă relatarea recentă a lui K. Sung și colab. (2014), care trece în evidență rezultatele trialului Sud Korean, efectuat pe un lot de 268803 de persoane, antrenate în programul național de estimare a sănătății și a relației între PCRhs și mortalitatea generală și cardiovasculară [40]. Nivelul bazal (inițial) al PCRhs s-a dovedit a fi mai mare la bărbați (0,3-1,3 vs 0,1-1,1 mg/L). De remarcat, că nivelurile decelate ale markerului sunt mai joase, comparativ cu cele atestate în studiile efectuate în populația europeană. La 8,6% din cohorta bărbaților și 6,2% a femeilor s-au constatat valori inițiale ale PCR la hotarul dintre riscul mediu și riscul înalt (\approx 3,0 mg/L). La sfârșitul perioadei de supraveghere (4,49 ani), s-au decelat 1487 de cazuri de deces general și 187 - de deces cardiovascular. Oportună este evidența, potrivit căreia numai la bărbați s-a urmărit asocierea liniară între nivelul circulant al PCRhs și decesul general sau cardiovascular.

Sub acest aspect, K. Satoh și H. Shimokawa (2014), susțin opinia, care tranșează utilitatea markerului PCRhs în evaluarea riscului cardiovascular, în special, a evenimentelor coronariene [41].

Rata probabilității de evoluție a afecțiunilor coronariene este mai mare în tertila superioară a valorii PCRhs față de tertila inferioară aproximativ de 2 ori. Totodată, trebuie de menționat, că valoarea predictivă a PCR privind riscul evoluției sindromului coronarian acut este mai pertinentă vizavi

de valoarea markerului > 10,0 mg/L, iar valoarea markerului > 3,0 mg/L se anunță cu o predicție fiabilă pentru pacienții cu angor pectoral stabil [38].

Relatării lui D. Chew și D. Walter (2001) au dat curs utilizării PCRhs în evaluarea riscului dezvoltării restenozei intra-stent după o angioplastie coronariană [42, 43].

Studiul factorilor care influențează variațiile nivelurilor circulante ale PCRhs, inclusiv devierile sezoniere și diurne, a demarcat hipertensiunea arterială, supraponderabilitatea, sindromul metabolic, diabetul zaharat, fumatul, creșterea raportului LDL/HDL, artrita reumatoidă, sedentarismul drept factori care duc la elevarea markerului. Activitatea fizică, micșorarea greutateii corpului, administrarea statinelor și fibratelor, consumul moderat de alcool (în special vinul roșu) au efect opus [38].

Conform recomandărilor practice ale AHA, pacienții cu o elevare persistentă și inexplicabilă a PCRhs peste 10,0 mg/L după repetarea testului biochimic (ELISA), cel mult pentru o perioadă de 2 săptămâni, trebuie să fie evaluați în vederea depistării etiologiei extracardiovasculare, în special infecțioase și inflamatorii (Clasa IIa, nivelul B de evidențe).

Factorul nuclear-*kappaB*, descoperit în 1986 de David Baltimore, impune efecte versatile în homeostazia circulatorie și, fiind un factor important de transcripție reglează multiple procese vitale: răspunsul imun și inflamator, diferențiere și proliferație celulară, reactivitatea celulară la acțiunea hipoxiei, ischemiei, impact neuroendocrin [44]. Expresia FN-*kB* are repercusiuni benefice asupra sindromului ischemie-reperfuzie, îndeosebi, în faza precoce, determinând supraviețuirea cardiomiocitului în paradoxul de calciu și oxigen. În faza tardivă, dimpotrivă, expresia sporită a factorului nuclear-*kappaB* periclitează capacitatea de protecție a miocardului, efect atribuit creșterii sintezei mediatorilor inflamației: TNF-alpha, IL-1 și IL-6 [45].

Angiotensina II este un potent factor neuroendocrin care stimulează expresia FN-*kB*.

Deși, implicarea decisivă a factorului nuclear-*kappaB* în inflamația sistemică cronică, care asociază și potențează evoluția afecțiunilor cardiovasculare, este dovedită cu certitudine, acest marker nu și-a găsit locul în afișa panoului markerilor circulanți ai IS, anume din considerentele dihotomice expuse *ut supra*.

Cu toate acestea, trebuie de menționat relevanța mai multor studii, care au demonstrat majorarea concludentă a FN-*kappaB* în monocitele circulante, îndeosebi, la pacienții cu angor pectoral instabil. Aceasta se corelează veritabil cu activitatea și cantitatea markerului identificat în macrofagii miocardului, celulele cardiace și endoteliale.

Factorul de necroză a tumorii reprezintă unul din mediatorii-cheie ai inflamației și un predictor notabil al afecțiunilor cardiovasculare. Descris pentru prima dată în 1975 sub denumirea de cachectin (tetramer) de E. Carswell, TNF-alpha a trădat asocierea sa cu sistemul cardiovascular în 1990, când B. Levin și colab. [46] au comunicat elevarea concludentă a nivelului lui circulant la pacienții cu insuficiență cardiacă (115 ± 25 vs 9 ± 11 U/ml, $p < 0,001$). Cele două 2 tipuri de receptori periferici (TNFR1 și TNFR2) sunt expresați, în

fond, pe endoteliocite, miocite netede vasculare, cardiomiocite și fibroblaști. Se sugerează că între receptori și ligandul TNF-alpha există un „*feed back*” negativ. Sinteza TNF-alpha se produce în citoplasma celulelor sub acțiunea stimulatorilor a factorului nuclear-*kappaB* și translocat pe membrana celulară. Ulterior, enzima de conversie, TACE, asigură desprinderea markerului de membrană și, respectiv, creșterea nivelului circulant. Receptorii TNF-alpha, de asemenea, pot exista în formă solubilă, iar concentrația lor serică reprezintă un marker veritabil al răspunsului inflamator. Sursa principală de sinteză a TNF-alpha este macrofagul, deși alte celule (*e.g.* cardiomiocitele, miocitele netede coronariene, endoteliocitele, fibroblaștii), de asemenea, expresează acest factor, în special, în urma activării neuroendocrine.

Efectele cardiovasculare mai importante ale TNF-alpha sunt: inducerea apoptozei celulare, activarea proliferației miocitelor netede coronariene și migrarea lor în condițiile de preluare a fenotipului secretor, reducerea sintezei de NO prin mecanismul de inhibiție a expresiei tetrabiopterinei, cofactorul NOsec, micșorarea sensibilității receptorului la insulină, activarea degradării colagenului fibrilar de tip al matricei extracelulare, creșterea sintezei radicalilor liberi de oxigen, decuplarea receptorului adrenergic beta de la complexul adenilatciclază etc.

La pacienții cu insuficiență cardiacă TNF-alpha se estimează drept un factor de micșorare a contractilității miocardului și afectării răspunsului inotrop la solicitări neuroendocrine și hemodinamice. Conținutul seric al markerului se corelează direct cu clasa funcțională a insuficienței cardiace și severitatea disfuncției ventriculului stâng, efect plauzibil determinat și de factorii care declanșează creșterea TNF-alpha, întrucât terapia prin blocantele receptorilor acestuia nu a atins țintele scontate [47].

Depresia contractilă a miocardului sub acțiunea TNF-alpha este un rezultat al diminuării activității și expresiei pompei de calciu a reticulului sarcoplasmic (SERCA2a) și periclitării funcției receptorului beta-adrenergic. Studiile fundamentale au adus în evidență posibilitatea inducerii hipertrofiei miocardului și dezvoltării ulterioare a cardiomiopatiei dilatative în condițiile administrării la șobolani a TNF-alpha.

W. Dinh și colab. (2009), au stabilit prezența unei corelări de intensitate înaltă între nivelul circulant al TNF-alpha și gradul disfuncției diastolice la pacienții cu dereglări ale metabolismului glucidic [48].

Factorul de necroză a tumorii posedă și un potent efect chemotactic pronunțat față de neutrofile și monocite, determinat în fond de stimularea expresiei mai multor familii de molecule de adeziune intercelulară pe suprafața celulelor endoteliale.

Ca și proteina C reactivă, TNF-alpha de asemenea influențează reorganizarea matricei extracelulare, efect determinat predilect de reducerea expresiei inhibitorului activatorului metaloproteinazelor matricei extracelulare.

Printre variatele efecte pleiotrope ale TNF-alpha, efectul de inducere a apoptozei celulelor cardiace se consideră oportun (fig. 1.3).

Evidențele acumulate indică rolul activării caspazei 8 și ulterior a caspazei 3 la acțiunea TNF-alpha, mediată prin receptorii TNFR1 și MORT-1. De menționat în acest context, că la animalele transgenice private de receptorul MORT-1 nu se decelează apoptoza cardiomiocitelor în cadrul activării TNFR1 (calea extrinsecă a apoptozei). Prin acțiunea nemijlocită asupra mitocondriilor, TNF-alpha declanșează eliberarea citocromului c și proteinei bax, care rezultă în activarea caspazelor 9 și 3 (calea clasică a apoptozei), asociată de creșterea cantitativă a radicalilor liberi de oxigen [49, 50].

Un alt aspect de tangență a acțiunii TNF-alpha asupra apoptozei celulare este determinat de sinteza sfingolipide și creșterea conținutului de sfingolipide (în primul rând a ceramidei, un mesager intracelular ce promovează activarea receptorului TNDR1), care sunt implicate și în reducerea afinității receptorilor față de insulină [51]. Nivelul plasmatic al sfingolipidelor este consemnat drept un marker al sindromului de insulinorezistență și obezității viscerale, iar la pacienții cu diabet zaharat de tip II poate indica și severitatea răspunsului inflamator.

Cercetările *in vitro* au demonstrat că în concentrații mari (dublu reduse vs conținutul seric al markerului inerent șocului septic), TNF-alpha induce apoptoza cardiomiocitelor murine prin activarea NOS inductibile. Acest efect nu se decelază la animalele transgenice private de expresia NOS inductibile, fapt ce dovedește rolul excesului de NO în medierea apoptozei cardiomiocitelor, induse prin acțiunea TNF-alpha. Pe de altă parte, sunt conceptual importante datele ce arată capacitatea NO exogen să inducă apoptoza celulară prin intermediul mesagerului intracelular cGMP.

Totodată, acțiunea proapoptotică a TNF-alpha are la bază și reducerea expresiei proteinei antiapoptotice, Bcl-2.

Acțiunea vasotropă a TNF-alpha se impune prin stimularea sintezei de către endoteliul vascular al factorilor vasoconstrictori, iar la pacienții cu hipertensiune arterială, afecțiuni coronariene și accident vascular cerebral sunt decelate niveluri circulante elevate ale markerului [52, 53].

Interleukinele și chemokinele. Sunt citokine care au referire concludentă la sistemul imunitar, fiind în mare parte sintetizate de celulele albe proinflamatoare: limfocitele T (în special CD4, celulele T-helper), monocitele și macrofagele. Rata sintezei interleukinelor de alte tipuri de celule (*e.g.* endoteliocit, monocit, fibroblast) este sub 10%. Din totalitatea interleukinelor cunoscute în prezent (peste 40), majoritatea au acțiune proinflamatoare, care în manieră directă sau intermediat conduc la diferențierea, creșterea, migrarea și stocarea leucocitelor [54]. Chemokinele sunt citokinele cu efect de recrutare a neutrofilelor și monocitelor circulante, fiind expresate activ pe suprafața endoteliocitului.

În contextul inflamației sistemice ce asociază evoluția maladiilor cardiovasculare, cele mai implicate interleukine sunt IL-1, IL-6, IL-8 și IL-18, iar rolul IL-10 este vizat prin prisma acțiunii ei antiinflamatoare.

Sursa principală de sinteză a celor 2 tipuri de IL-1 (IL-1 α și IL-1 β , codate de gene diferite) sunt monocitele. Grupul altor celule capabile, de asemenea, să elibereze IL-1 este format din: limfocite T și B, neutrofile, endoteliocite, fibro-

blaști, miocite netede vasculare, keratinocite etc. În creier este decelată numai expresia IL-1 β . Pentru acest marker se anunță caracteristice cele mai incipiente elevări ale expresiei și cantității ca răspuns la injuriile mecanice și impactul biologic (1,5-3,5 ore). Posedă efect chemoatractant puternic față de leucocite (în primul rând neutrofile), determinând activarea acestora în cadrul stocării în țesut și spațiul subendotelial. Stimularea limfocitelor T de către IL-1 este asociată și de stimularea expresiei altor citokine proinflamatoare, în special, TNF-alpha, în condițiile acțiunii agenților biologici. De remarcat, că un segment al receptorului Toll-like (antrenat în răspunsul antimicrobian și antivirotic) este de fapt și receptorul citozolic către IL-1 [55]. Ieșirea în sânge a IL-1 din monocite este controlată de caspaza-1, enzima intracelulară ce conține cisteină și clivează telomerul N-terminal și transformă IL-1 într-o citokină activă.

Elevarea nivelurilor circulante ale IL-1 se decelează mai importantă în afecțiunile cardiovasculare asociate sau induse de patologii autoimune și agravate prin ateroscleroză. În placa aterosclerotică, s-a stabilit o creștere concludentă a expresiei IL-1, asociată de acumularea macrofagelor.

Blocarea receptorilor IL-1 β comportă beneficii notabile în inflamațiile acute și cronice și, totodată, reprezintă un obiectiv de studiu al eficienței diferitor antagoniști la pacienții cu diabet zaharat tip I [56].

Trialul Britanic CANTOS se derulează actualmente în vederea aprecierii efectului anticorpului către IL-1 β la pacienții cu infarct miocardic acut.

Sunt relatate mai multe evidențe privind relația dintre IL-6 și afecțiunile cardiovasculare. Nivelurile circulante ale markerului sunt elevate la pacienții cu insuficiență cardiacă congestivă, miocardită și infarct miocardic acut [57]. Efectele de bază ale IL-6 sunt: stimularea hipertrofiei, activarea macrofagelor, fibroblaștilor și metaloproteinazelor matricei, exacerbarea disfuncției diastolice a ventriculului stâng și promovarea infiltrației interstițiale în miocardita virotică.

Într-un studiu efectuat pe un lot de 620 de femei cu vârsta peste 65 de ani, s-a constatat că riscul mortalității pe o perioadă de supraveghere de 3 ani este de 4 ori mai mare (riscul relativ = 4,4) la persoanele, la care afecțiunile cardiovasculare sunt asociate de valori serice crescute ale IL-6 [58].

O meta-analiză a 82 de studii clinico-experimentale, inclusiv genetice, demonstrează rolul receptorului IL-6 în evoluția afecțiunilor coronariene [59]. Utilizarea în unele din acestea a blocării semnalului de la receptorul IL-6 prin tocilizumab s-a impus prin reducerea riscului evenimentelor coronariene.

Rezultatele studiului Rancho Bernardo, efectuat pe un lot de 1843 de persoane cu vârsta medie de 698 de ani, au adus la apel asocierea dintre rata mortalității generale și valoarea serică a IL-6 [60]. Rata hazardului, calculată prin modelul multivariat Cox pentru maladiile cardiovasculare, a fost în medie de 1,48 (intervalul confidențial: 1,33-1,64).

Două studii populaționale prospective (Reykjavik Study și British Regional Heart Study), care au înrolat peste 24230 de persoane cu vârsta medie au identificat relația nivelului circulant al IL-6 cu diabetul, fumatul și dislipidemiile [61].

Acești factori de risc cardiovascular pot induce *per se* majorarea conținutului de IL-6 în detrimentul evoluției patologiei cardiovasculare.

T. Cesari (2004), aduce în publicația sa mai multe dovezi, potrivit cărora valoarea predictivă a IL-6 privind pronosticul evoluției accidentului vascular cerebral și infarctului miocardic acut este notabilă, iar în populația bătrână, chair mai mare comparativ cu proteina C reactivă și TNF-alpha [62]. Mai târziu apare comunicarea lui H. Scharnagl (2010), bazată pe datele LURIC Study, care confirmă valoarea predictivă a IL-6 asupra mortalității generale și cardiovasculare mai mare decât PCR și fibrinogenul [63].

În relatarea recentă a lui D. Su și colab. (2013), se indică legătura pertinentă între nivelul seric al IL-6 și mortalitatea generală și cardiovasculară intraspitalicească la pacienții cu cardiopatie ischemică [64].

Mecanismele plauzibile principale atribuite acțiunii deprimente a IL-6 asupra homeostaziei circulatorii sunt: (1) stimularea sintezei PCR, fibrinogenului și TNF-alpha; (2) activarea plachetelor, statusului protrombotic și depunerii vasculare a fibrinogenului; (3) stimularea formării radicalilor liberi de oxigen; (4) expresia moleculelor de adeziune intercelulară, ce rezultă în creșterea pasajului transendotelial al celulelor circulante proinflamatoare.

Un stimulator relevant al eliberării IL-6 este IL-1. Astfel, dacă o injurie vasculară cu componentă imună se impune prin elevarea valorii serice a IL-1 peste 3,5 ore, atunci IL-6 este estimată notabil majorată peste 5-6 ore. După 6-8 ore se contată și începutul creșterii PCR.

Similar IL-1, sursa principală de eliberare a IL-6 este reprezentată de macrofage și limfocite T. Celula musculară nedată vasculară, de asemenea, sub acțiunea diferitor citokine proinflamatoare (e.g. PCR) poate să inițieze o sinteză a IL-6.

Persoanele supraponderale și obeze au, de regulă, niveluri circulante crescute ale IL-6, dată fiind sinteza markerului de adipocite.

Activitatea fizică sporește conținutul seric al IL-6, întrucât și celulele musculaturii scheletice are capacitatea de a sintetiza markerul definit și miokină.

În urma trecerii barierei hematoencefalice, IL-6 induce sinteza prostaglandinei E2 în celulele hipotalamusului și variații de temperatură iminente febrei din impactul bacterian.

Chemokinele (molecule mici de glicoproteine) sunt markeri importanți ai inflamației și fac parte din familia citokinelor, care au menirea să asigure prin intermediul mecanismului de chemoatrăcție recrutarea celulelor din sânge și pasajul lor în diferite zone ale țesutului. Unele interleukine, cum ar fi IL-8 (sau factorul CXCL8), de asemenea, posedă efect chemoatrăctant asupra neutrofilelor și a fost inițial identificată în miocard, în cadrul sindromului ischemie-reperfuzie.

Una din chemokinele-cheie în procesul de diapedefă a monocitelor este MCP-1 (sau CCL2), receptorul căreia este CCR2, localizat pe suprafața diferitor celule, inclusiv cardiomiocit. Receptorul CCR2 funcționează în angrenaj cu receptorul citokinei MIP-2 (proteina inflamatoare a macrofagelor), CXCR2. Expresia acestor 2 receptori, cât și a re-

ceptorului factorului derivat de celulele stromale, CXCR2, se realizează în manieră constitutivă, dar excesul de radicali liberi de oxigen poate induce creșterea expresiei lor [65].

Pasajul monocitelor și acumularea lor în spațiul subendotelial conduce la formarea celulelor „foam” și creșterea populației de macrofage, care au un rol oportun în destabilizarea plăcii aterogene și hiperplazia neointimei. Ultimul fenomen este vizat drept un mecanism al restenozei intra-stent după angioplastie. Sistemul CCL2/LLR2 este consemnat și drept un factor însemnat în evoluția evenimentelor coronariene acute și afecțiunilor cardiovasculare diabetogene [66].

În cultura de celule s-a demonstrat că sub acțiunea citokinelor proinflamatoare (TNF-alpha, IL-1 și IL-6) determină creșterea expresiei MCP-1 pe suprafața cardiocitelor umane.

Nivelul de expresie a MCP-1 se corelează cu conținutul MMP-9 (gelatinaza B), fapt care demonstrează rolul celulelor mononucleare în activarea metaloproteinazelor matricei și, deci, în reorganizarea matricei extracelulare iminentă fenomenului de hiperplazie a neointimei. De remarcat că citotoxicitatea macrofagelor, care este în raport direct cu nivelul mieloperoxidazei secretată de acestea, depinde de acțiunea MCP-1 mediată prin receptorul FasL și se află în conexiune directă cu activarea stresului oxidativ.

Studiul recent efectuat MONICA/KORA Augsburg a demonstrat valoarea predictivă a mieloperoxidazei privind afecțiunile coronariene, independent de alți factori de risc cardiovascular [67], prin care s-au confirmat, de fapt, datele unui studiu analogic realizat anterior EPIC-Norfolk pe persoane aparent sănătoase [68].

Expresia MCP-1 se află în raport direct și cu nivelul amiloidului seric A3, un marker proinflamator (factor al fazei acute a inflamației) eliberat de mai multe celule, inclusiv adipocite, relația dată fiind, îndeosebi, pertinentă la pacienții cu obezitate și sindrom metabolic. Sunt dovezi ce arată acțiunea coerentă a MCP-1 și amiloidul seric A3 în procesul de depunere a lipidelor în placa ateromatoasă și exacerbarea patologiei vasculare. Amiloidul A3 posedă un efect chemoatrăctant notabil asupra limfocitelor, induce stimularea acestora, precum și a metaloproteinazelor matricei extracelulare.

Un studiu de cohortă norvegian a trecut în evidență relația dintre nivelul circulant al MCP-1 și PCR la pacienții cu IMA cu elevarea segmentului ST și toleranța alterată la glucoză (atestată în testul oral de efort cu glucoză) anterior necunoscută, fapt ce extinde posibilitățile predictive ale MCP-1 și opțiunile patogenetice ale inflamației [69].

Din familia citokinelor care influențează răspunsul inflamator, IL-10 este considerată drept o citokină proinflamatoare.

Sinteza IL-10 este atribuită limfocitelor B, T (Th1-CD4, Th2-CD4, T-CD8) și macrofagelor. Acțiunea antiinflamatoare a IL-10 se datorează inhibiției eliberării citokinelor proinflamatoare de către neutrofile, monocite, macrofage și limfocite Th1.

Expresia IL-10 este dovedită în arterele coronariene și placa aterogenă.

Efectul de creștere a expresiei inhibitorului activatorului metaloproteinazelor matricei extracelulare inherent adipo-

nectinei este mediat prin IL-10, fapt care impune micșorarea activității acestor enzime și, deci, a *turnover*-ului colagenului fibrilar de tip I și III [70].

Proteina C reactivă reduce expresia IL-10 în macrofage, sugerând prin aceasta un mecanism plauzibil al acțiunii pro-inflamatoare a PCR.

De menționat în acest context, rezultatele trialului CAOTURE efectuat pe un lot de 547 de pacienți cu angor pectoral instabil, care aduc la apel o prognoză mai bună a persoanelor cu niveluri circulante ale IL-10 mai ridicate [71].

Cu toate acestea, trialul PROSPER (*PRO*spective Study of *Pravastatin* in the *Elderly* at Risk) a identificat concentrații serice majorate ale IL-10 la pacienții vârstnici cu risc cardiovascular (perioada de supraveghere 3,2 ani), dar fără evenimente cardiovasculare în antecedentă, valoarea predictivă a markerului fiind mai concludentă la pacienții cu istoric cardiovascular [72].

Așadar, răspunsul inflamator sistemic reprezintă un proces polivalent cu impact notabil asupra evoluției afecțiunilor cardiovasculare, iar markerii specifici sunt estimați atât în plan diagnostic, cât și cu scop de predicție a pronosticului.

Concluzii

1. Activarea inflamației sistemice în afecțiunile cardiovasculare este determinată de creșterea expresiei factorului de transcripție *NF-kappaB*, care conduce la creșterea sintezei citokinelor proinflamatoare și moleculelor de adeziune intercelulară, consecința oportună fiind sechestrarea celulelor proinflamatoare circulante (neutrofile, monocite) în zona subendotelială și extravazarea lor în miocard.

2. Impactul patogenetic al inflamației sistemice asupra homeostaziei circulatorii se datorează acțiunii ei de declanșare și exacerbare a disfuncției endoteliale, activare a stresului oxidativ și statusului protrombotic, reorganizare a matricei extracelulare, stimulare a migrării, hiperplaziei și hipertrofiei celulare.

3. Diabetul zaharat, dislipidemiile, fumatul, sindromul metabolic, hiperhomocisteinemia sunt factori de risc cardiovascular, care prin multiple mecanisme activează răspunsul inflamator.

4. Proteina C reactivă și citokinele proinflamatoare (TNF- α , IL-1, IL-6) sunt mediatorii principali ai diseminării procesului inflamator și se consemnează drept predictorii importanți ai diagnosticului și pronosticului afecțiunilor cardiovasculare.

References

- Ioannidis JPA, Tzoulaki I. Minimal and null predictive effects for the most popular blood biomarkers of cardiovascular disease. *Circulation Research*. 2012;110:658-662.
- Dregan A, Charlton J, Chowienczyk P, et al. Chronic inflammatory disorders and risk of type 2 diabetes mellitus, coronary heart disease, and stroke. A Population-based cohort study. *Circulation*. 2014;130:837-844.
- Zakynthinos E, Pappa N. Inflammatory biomarkers in coronary disease. *Journal of Cardiology*. 2009;53(3):317-333.
- Biasucci LM. CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: clinical use of inflammatory markers in patients with cardiovascular diseases: a background paper. *Circulation*. 2004;110(25):e560-e567.

- Wilson PW. CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: ability of inflammatory markers to predict disease in asymptomatic patients: a background paper. *Circulation*. 2004;110(25):e568-e571.
- Koenig W, Sund M, Fröhlich M, et al. 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 to 1992. *Circulation*. 1999;99:237-242.
- Mann DL. Inflammatory mediators and the failing heart: past, present, and the foreseeable future. *Circ Res*. 2002;91(11):988-998.
- Anker SD, von Haehling S. Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview. *Heart*. 2004;90(4):464-470.
- Charakida M, Halcox JPJ. Tumor necrosis factor- α in heart failure: more questions than answers. *Rev Esp Cardiol*. 2005;58:470-472.
- Kreiner FF, Galbo H. Activity of the neuroendocrine axes in patients with polymyalgia rheumatica before and after TNF- α blocking etanercept treatment. *Arthritis Research and Therapy*. 2012;14:R186. doi:10.1186/ar4017.
- Dange RB, Agarwal D, Masson GS, et al. Central blockade of TLR4 improves cardiac function and attenuates myocardial inflammation in angiotensin II-induced hypertension. *Cardiovasc Res*. 2014;103(1):17-27.
- Csiszar A, Wang M, Lakatta EG. Inflammation and endothelial dysfunction during aging: role of NF- κ B. *Journal of Applied Physiology*. 2008;105(4):1333-1341.
- Levine B, Kalman J, Mayer L, et al. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med*. 1990;323:236-241.
- Paneni F, Beckman JA, Creager MA, et al. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart Journal*. 2013;34:2436-2446.
- Rask-Madsen C, Li Q, Freund B, et al. Loss of insulin signaling in vascular endothelial cells accelerates atherosclerosis. *Cell Metab*. 2010;11:379-389.
- Olefsky JM, Glass CK. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physiol*. 2010;72:219-246.
- Hasegawa Y, Saito T, Ogihara T, et al. Blockade of the nuclear factor κ B pathway in the endothelium prevents insulin resistance and prolongs life spans. *Circulation*. 2012;125:1122-1133.
- Rizzo MR, Barbieri M, Marfella R. Reduction of oxidative stress and inflammation by blunting daily acute glucose fluctuations in patients with type 2 diabetes. Role of dipeptidyl peptidase-IV inhibition. *Diabetes Care*. 2012;35:2076-2082.
- Zheng Z, Chen H, Li J, et al. Sirtuin 1-mediated cellular metabolic memory of high glucose via the *ihk1/ampk/rospathway* and therapeutic effects of metformin. *Diabetes*. 2012;61:217-228.
- Li ZY, Wang P, Miao CY. Adipokines in inflammation, insulin resistance and cardiovascular disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2011;38:888-896.
- Taube A, Schlich R. Inflammation and metabolic dysfunction: link to cardiovascular disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;302:H2148-H2165.
- White M, Ducharme A, Ibrahim R, et al. Increased systemic inflammation and oxidative stress in patients with worsening congestive heart failure: improvement after short-term inotropic support. *Clinical Science*. 2006;110:483-489.
- Tang J, Yan H, Zhuang S. Inflammation and oxidative stress in obesity-related glomerulopathy. *International Journal of Nephrology*. 2012. DOI:dx.org/10.1155/2012/608397.
- Procaccini C, Jirillo E, Matarese G. Leptin as an immunomodulator. *Mol Aspects Med*. 2012;33(1):35-45.
- Cinti S. The adipose organ at a glance. *Disease Models and Mechanisms*. 2012;5(5):588-594.
- Aprahamian TR, Sam F. Adiponectin in cardiovascular inflammation and obesity. *International J. of Inflammation*. 2011. http://dx.doi.org/10.4061/2011/376909.
- Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation Research*. 2005;96(9):939-949.
- Mangge H, Almer G, Schmidt A, et al. Inflammation, adiponectin, obesity and cardiovascular risk. *Current Medicinal Chemistry*. 2010;17(31):24-33.

29. Highes-Austin JM, Wassel CL, Jimenez J, et al. The relationship between adiposity-associated inflammation and coronary artery and abdominal aortic calcium differs by strata of central adiposity: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Vasc. Med.* 2014;19:264-271.
30. Cheng Z, Yang X, Wang H. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction. *Curr. Hypertens. Rev.* 2009;5(2):158-165.
31. McCully KS. Chemical pathology of homocysteine, excitotoxicity, oxidative stress, endothelial dysfunction, and inflammation. *Annals. Clin. Lab. Sci.* 2009;39:219-232.
32. Yoon JH, Lee JS, Yong SW. Endothelial dysfunction and hyperhomocysteinemia in Parkinson's disease: flow-mediated dilation study. *EPDA.* 2014. DOI: 10.1002/mds.26005.
33. Cheng Z, Jiang X, Fang P, et al. Hyperhomocysteinemia aggravates endothelial dysfunction via EDHF impairment in resistant arteries of db/db mice. *FASEB Journal.* 2014;28(1):1053 (Suppl.).
34. Schnyder G, Flammer M, Pin Y, et al. Effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid, vitamin B12 and vitamin B6 on clinical outcome after percutaneous coronary intervention: the Swiss Heart study: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2002;288:973-979.
35. De Luca G, Suryapranata H, Gregorio G, et al. Homocysteine and its effects on in-stent restenosis. *Circulation.* 2005;112:e307-e311.
36. Tietge U. Hyperlipidemia and cardiovascular disease: inflammation, dyslipidemia, and atherosclerosis. *Current Opinion in. Lipidology.* 2014;25(1):94-95.
37. Mancini M, Ordovas JM, Riccardi G, et al. The Relationship between dyslipidemia and Inflammation. *In: Nutritional and metabolic bases of cardiovascular disease.* Blackwell Publishing Ltd, 2011. DOI: 10.1002/9781444318456.ch26.
38. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al. AHA/CDC scientific statement markers of inflammation and cardiovascular disease application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association. *Circulation.* 2003;107:499-511.
39. Jenny NC, Cushman M. C-reactive protein: initiation or product of inflammation. *Circ. Res.* 2014;114:596-597.
40. Sung KC, Ryu S, Chang Y, et al. C-reactive protein and risk of cardiovascular and all-cause mortality in 268 803 East Asians. *Eur. Heart. J.* 2014;35(27):1809-1816.
41. Satoh K, Shimokawa H. High-sensitivity C-reactive protein: still need for next-generation biomarkers for remote future cardiovascular events. *Eur. Heart. J.* 2014;35(27):1776-1778.
42. Chew DP, Bhatt DL, Robbins MA, et al. Incremental prognostic value of elevated baseline C-reactive protein among established markers of risk in percutaneous coronary intervention. *Circulation.* 2001;104:992-997.
43. Walter DH, Fichtlscherer S, Britten MB, et al. Statin therapy, inflammation and recurrent coronary events in patients following coronary stent implantation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001;38:2006-2012.
44. Van der Heiden K, Cuhlmann S, Luong A, et al. Role of nuclear factor κ B in cardiovascular health and disease. *Clin. Sci.* 2010;118(10):593-605.
45. Gordon JW, Shaw JA, Kirshenbaum LA. Multiple facets of NF- κ B in the heart: to be or not to be NF- κ B. *Circ. Res.* 2011;108(9):1122-1132.
46. Levine B, Kalman J, Mayer L, et al. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *New Engl. J. Med.* 1990;323:236-41.
47. Javed Q, Murtaza I. Therapeutic potential of tumor necrosis factor-alpha antagonist in patients with chronic heart failure. *Heart. Lung. Circ.* 2013;22(5):323-327.
48. Dinh W, Futh R, Nickl W, et al. Elevated plasma levels of TNF-alpha and Interleukin-6 in patients with diastolic dysfunction and glucose metabolism disorders. *Cardiovascular Diabetology.* 2009;8:58-65.
49. Aggarwal BB, Gupta SC, Kim JH. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its super family: 25 years later, a golden journey. *Blood.* 2012;119(3):103-114.
50. Morgan MJ, Liu ZG. Reactive oxygen species in TNFalpha-induced signaling and cell death. *Mol. Cells.* 2010;30(1):1-12.
51. Russo SB, Ross JS, Cowart LA. Sphingolipids in Obesity, Type 2 Diabetes, and Metabolic Disease. *Handbook. Exp. Pharmacol.* 2013;216:373-401.
52. Cui G, Wang H, Li R, et al. Polymorphism of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) gene promoter, circulating TNF-alpha level, and cardiovascular risk factor for ischemic stroke. *Journal Neuroinflammation.* 2012;9:235-245.
53. Asifa GZ, Liaquat A, Murtaza I, et al. Tumor necrosis factor-alpha gene promoter region polymorphism and the risk of coronary heart disease. *Scientific World Journal.* 2013. DOI: 10.1155/2013/203492.
54. Akdis M, Burgler S, Cramier R. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011;127(3):701-721.
55. Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis of inflammatory diseases. *Blood.* 2011;117(14):139-153.
56. Mandrup-Poulsen T, Pickersgill L, Donath MY. Blockade of interleukin 1 in type 1 diabetes mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2010;6(3):158-166.
57. Kanda T, Takanashi T. Interleukin-6 and cardiovascular diseases. *Jpn. Heart. J.* 2004;45(2):183-193.
58. Volpato S, Guralnic JM, Ferrucci L, et al. Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study. *Circulation.* 2001;103(7):947-953.
59. Sarwar N. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet.* 2012;379(9822):1205-1213.
60. Bettencourt R, Brenner D, Le TA, et al. Association between serum interleukin-6 concentrations and mortality in older adults: the Rancho Bernardo Study. *PLOS. One.* 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0034218.
61. Danesh J, Kaptode S, Mann A, et al. Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two new prospective studies and a systemic review. *PLOS. Med.* 2008. DOI: 10.1371/journal.pmed.005078.
62. Cesari TM. Interleukin-6 as a marker for heart disease, stroke in elderly. *Emergency Medicine News.* 2004;26(13):13-18.
63. Schrnagl H, Stojakovic T, Weihrauch B, et al. Interleukin-6 is stronger associated with all-cause and cardiovascular mortality than c-reactive protein, serum amyloid A and fibrinogen (the LURIC Study). *Atherosclerosis.* 2010;Supplements, 11:42.
64. SuD, Li Z, Li X, et al. Association between Serum Interleukin-6 Concentration and Mortality in Patients with Coronary Artery Disease. *Mediators of Inflammation.* 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/726178>.
65. Tarzami S. Chemokines and inflammation in heart disease: adaptive or maladaptive? Review article. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2011;4(1):74-80.
66. Niu J, Kolattukudy PE. Role of MCP-1 in cardiovascular disease: molecular mechanisms and clinical implications. *Clin. Sci. (Lond).* 2009;117(3):95-109.
67. Karakas M. Myeloperoxidase is associated with incident coronary heart disease independently of traditional risk factors: Results from the MONICA/KORA Augsburg study. *J. Intern. Med.* 2012;271:43-50.
68. Meuwese MC. Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: The EPIC-Norfolk prospective population study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007;50:159-165.
69. Knudsen EC, Seljeflot I, Eristland J, et al. Increased levels of CRP and MCP-1 are associated with previously unknown abnormal glucose regulation in patients with acute STEMI: a cohort study. *Cardiovascular Diabetology.* 2010;9:47. DOI: 10.1186/1475-2840-9-47.
70. Kumada M, Kihara S, Ouchi N, et al. Adiponectin specifically increased tissue inhibitor of metalloproteinase-1 through interleukin-10 expression in human macrophages. *Circulation.* 2004;109(17):2046-2049.
71. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. (CAPTURE study investigators). Serum level of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. *Circulation.* 2003;107(16):2109-2114.
72. Welsh P, Murray HM, Ford I, et al. (PROSPER Study Group). Circulating interleukin-10 and risk of cardiovascular events: a prospective study in the elderly at risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011;31(10):2338-2344.