

ТУМОР НЕКРОТИЗИРАЩ ФАКТОР-АЛФА ПРИ КЛИНИЧНА ИЗЯВА НА ПАРОКСИЗМАЛНО ПРЕДСЪРДНО МЪЖДЕНЕ

Мария Негрева¹, Светослав Георгиев², Атанас Пенев¹

¹Първа клиника по кардиология, МБАЛ "Св. Марина" - Варна

²Втора клиника по кардиология, МБАЛ "Св. Марина" - Варна

TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA IN CLINICAL MANIFESTATION OF PAROXYSMAL ATRIAL FIBRILLATION

Mariya Negreva¹, Svetoslav Georgiev², Atanas Penev¹

¹First Clinic of Cardiology, Varna University Hospital "St. Marina"

²Second Clinic of Cardiology, Varna University Hospital "St. Marina"

РЕЗЮМЕ

Въведение: Предсърдното мъждене (ПМ) е най-честата аритмия в клиничната практика. Все повече данни се натрупват за участието на цитокините в патогенезата на аритмията, като обект на изследване до момента са преди персистиращата и перманентната форма на ритъмното нарушение.

Цел: Да се потвърдят промени в плазмените концентрации на TNF- α , свързани с изявата на пароксизмалното предсърдно мъждене (ППМ).

Материал и методи: Плазмените концентрации на TNF- α бяха измерени трикратно при 51 пациенти (26 мъже и 25 жени; средна възраст 59.84 ± 1.60 г) с ППМ, а именно: незабавно след хоспитализацията им (т.е. по време на ритъмното нарушение), 24 часа и 28 дни след възстановяване на синусов ритъм. Показателят беше измерен еднократно при 52 контроли (26 мъже и 26 жени; средна възраст 59.50 ± 1.46 г.) без анамнестични или електрокардиографски данни за ПМ до момента. Плазмените концентрации на TNF- α бяха определени с ELISA кит (Elabscience Biotechnology Co., Ltd, China). Синусов ритъм бе възстановен медикаментозно с пропafenone.

Резултати: При постъпване на пациентите в отделението концентрациите на TNF- α бяха повишени спрямо тези на контролите (15.06 ± 0.81 vs 8.20 ± 0.29 pg/mL, $p < 0.001$). Двадесет и четири часа след възстановяване на синусов ритъм промените персистираха (13.09 ± 0.70 vs 8.20 ± 0.29 pg/mL, $p < 0.001$). На двадесет и осмия ден липсваше значима разлика (9.21 ± 0.54 vs 8.20 ± 0.29 pg/mL, $p = 0.10$).

ABSTRACT

Introduction: Atrial fibrillation is the most common arrhythmia in clinical practice. There has been a growing body of evidence in recent years of the role of inflammatory cytokines in the pathogenesis of the rhythm disorder, although the studies have been predominantly in the field of persistent and permanent atrial fibrillation.

Aim: To find changes in plasma concentrations of TNF- α , concerning the clinical manifestation of paroxysmal atrial fibrillation.

Materials and Methods: Plasma concentrations of IL-6 were measured three times in 51 patients (26 men and 25 women; mean age 59.84 ± 1.60 yrs) with paroxysmal atrial fibrillation: once immediately after hospitalization of these patients (that is, during the rhythm disorder episode at baseline), then at 24 hours and finally 28 days after restoration of sinus rhythm. The plasma concentration was measured only once in the control group of 52 control subjects (26 men, 26 women; mean age 59.50 ± 1.46 yrs). We used ELISA kit to determine the IL-6 concentrations. The sinus rhythm was restored with propafenone for all patients.

Results: Baseline plasma concentrations of IL-6 were higher than those of controls ($15.06.38 \pm 0.81$ vs 8.20 ± 0.29 pg/mL, $p < 0.001$). The difference was retained for 24 hours after sinus rhythm restoration of (13.09 ± 0.70 vs 8.20 ± 0.29 pg/mL, $p < 0.001$). At 28 days there was no statistically significant difference between patients and controls (9.21 ± 0.54 vs 8.20 ± 0.29 pg/mL, $p = 0.10$).

Conclusion: Dynamic changes of TNF- α plasma concentrations were established in paroxysmal atrial fibrillation. The cytokine levels were significantly ele-

Заклучение: При ППМ се наблюдават динамични промени в плазмените концентрации на TNF- α . Те са значимо повишени по време на клиничната изява на ритъмното нарушение. След възстановяване на синусов ритъм те се нормализират бавно във времето. Специфичният характер на установените отклонения дават сериозно основание да се приеме клиничната им значимост за изявата на заболяването.

Ключови думи: предсърдно мъждене, синусов ритъм, TNF- α

УВОД

Тумор-некротизиращият фактор (TNF) е открит още през 1975 г. като ендотоксин-индуциран гликопротеин, причиняващ в експериментални проучвания върху плъхове хеморагична некроза на сарком (8). Това лабораторно откритие е сериозно обещание за успех в лечението на злокачествените заболявания и води след себе си до усилен опит за синтез и клониране на молекулата. Така през 1984 г. Aggarwal et al изолират два цитотоксични фактора с висока хомоложност на структурите, един получен от макрофагите и друг от лимфоцитите, поради което им дават самостоятелни наименования и ги наричат тумор-некротизиращ фактор-алфа (TNF- α) и тумор-некротизиращ фактор-бета (TNF- β) (1). В хода на експерименталните проучвания се установява, че TNF- α притежава широк спектър от биологични ефекти. На клетъчно ниво той има способността да индуцира пролиферация и диференциация, както и апоптоза и некроза при определени условия, което предопределя участието му в патогенезата на редица заболявания (8). Синтезира се основно от активирани макрофаги и Т-лимфоцити и в много малка степен от други клетки като НК клетки, мастни и ендотелни клетки, както и кардиомиоцити. Впоследствие факторът се експресира на плазмената мембрана като рго-TNF, където екстрацелуларният му домейн може да бъде отцепен и да се образува разтворимата форма на TNF- α . Двете форми, мембранно асоциираната и разтворимата, са биологично активни.

TNF- α се определя като плейотропен цитокин поради способността му да действа на различни типове клетки (7). Проучвания вече доказва ролята му в процеси като ангиогенеза, морфогенеза, метастазиране и др. (2). Наред с това TNF- α има изразени проинфламаторни свойства. Той е един от инициращите възпалител-

ated during the clinical manifestation of the arrhythmia. They decreased slowly after restoration of sinus rhythm. The changes we found provide a strong rationale to suggest that they are most likely relevant to the clinical manifestation of paroxysmal atrial fibrillation.

Keywords: atrial fibrillation, sinus rhythm, TNF- α

ната каскада цитокини и поради тази причина често е наричан „първичен цитокин“ (9). Проинфламаторните си свойства TNF- α проявява чрез активиране на транскрипционния нуклеарен фактор NF- κ B (9, 11). Това от своя страна тригерира и медира инфламаторния отговор, като активира металопротеиназите и миграцията на неутрофили. Индуцира се също така продукцията на проинфламаторните цитокини IL-1, IL-6, чиито функции са основни за диференциацията и пролиферацията на Т и В-лимфоцитите, както и за чернодробния синтез на острофазовия протеин CRP (17). Циркулиращите нива на TNF- α заедно с IL-1 и IL-6 са есенциални за индуциране на острофазовия отговор, който придружава както остро, така и хроничното възпалително нарушение (12).

Предсърдното мъждене (ПМ) е най-често срещаната аритмия в клиничната практика, като само в Европа заболяването засяга повече от 6 млн. души и се очаква в следващите 50 години броят им да се удвои (16). Пароксизмалното предсърдно мъждене (ППМ) представлява около 25% от всички случаи на предсърдно мъждене, регистрирани в амбулаторни и болнични условия (13). Въпреки провежданото лечение приблизително 10% от пациентите имат рецидив на заболяването още в рамките на същата година. Ниската ефективност е причина за многобройни проучвания в търсене на механизмите, свързани с инициране и задържане на аритмията. Все повече проучвания определят цитокините като потенциални медиатори, отговорни за клиничната изява на ритъмното нарушение (10,19,25). Това даде основание за провеждане на настоящето проучване.

ЦЕЛ

Да се потърсят промени в плазмените концентрации на TNF- α , свързани с изявата на ППМ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Дизайн на проучването

За проучването бяха скринирани само пациенти с ППМ с давност на ритъмното нарушение < 48 часа до момента на хоспитализация, която беше прецизно определяна въз основа на подробно снета анамнеза. Диагнозата „предсърдно мъждене“ беше приемана едва след обективизирането ѝ от електрокардиографско изследване. При липса на противоположения бе правен остър медикаментозен опит с пропafenone за регуларизация на ритъма. Пациентите, възстановили синусов ритъм, бяха наблюдавани до двадесет и осмия ден след прекъсване на ритъмното нарушение (4 седмици). Плазмени концентрации на TNF- α бяха определяни трикратно: непосредствено след хоспитализацията им (начални стойности), двадесет и четири часа и двадесет и осем дни след възстановяване на синусов ритъм. В контролната група показателят беше изследван еднократно.

За изследване на TNF- α беше използвана венозна кръв, събирана в хепаринов вакутейнер (VACUETTE/4.0 ml/Li Hepar).

През периода на наблюдение на пациентите бяха извършвани два контролни прегледа - на седми и двадесет и осми ден.

Проучването беше проведено в Интензивно кардиологично отделение на Първа клиника по кардиология към МБАЛ “Св. Марина” – Варна за периода 10.2010 г. - 05.2012 г. след одобрение от Комисията по етика на научните изследвания (№35/29.10.2010) към същата болница и в съответствие с изискванията на Хелзинкската декларация (24). Участниците бяха включени в изследването след предварително подписване на информирано съгласие за участие.

Участници в проучването

От общо 338 скринирани селектирани бяха само 56 участници (31 мъже, 25 жени) с възстановен и трайно задържан до края на проучването синусов ритъм без наличие на рецидиви. 282 пациенти с ППМ отпаднаха поради изключващи критерии (виж изкл. критерии).

За изравняване на половата структура бяха последователно селектирани 51 пациенти (26 мъже и 25 жени) на средна възраст 59.84 ± 1.60 г. (31-77 г.).

Изключващи от проучването критерии:

1. сърдечно-съдови заболявания: исхемична болест на сърцето, сърдечна недостатъчност, вродени или възпалителни заболявания на сърцето, умерени или тежки придобити клапни пороци, кардиомиопатии;

2. други заболявания: бъбречна, чернодробна или белодробна недостатъчност, заболявания на централна нервна система, възпалителни и/или инфекциозни заболявания през последните три месеца, неопластични или аутоимунни заболявания, заболявания на ендокринната система (с изключение на захарен диабет тип 2);
3. прием на хормонозаместителна терапия, бременност, системен прием на аналгетици в т.ч. и НСПВС, затлъстяване с $BMI > 35$;
4. персистиране на ритъмното нарушение след медикаментозния опит за регуларизация с пропafenone, възстановяване на синусов ритъм чрез електрическо кардиоверсия, рецидив на ПМ до края на проучването (изключващи критерии за пациенти).

При сформирани на контролната група бяха приложени същите изключващи критерии (виж по-горе), тъй като подборът на участниците (пациенти и контроли) целеше в максимална степен да елиминира или изравни между двете групи факторите, оказващи влияние върху възпалението. Така, от общо 169 скринирани, 52 бяха селектирани като контроли за проучването. Средната им възраст беше 59.50 ± 1.46 г. (30-76 г.), като мъжете и жените бяха по равен брой 26 (50%). До момента на проучването контролите нямаха анамнестични или електрокардиографски данни за ПМ.

Терапевтична схема на пропafenone

Пропafenone бе прилаган по установената за него схема: i.v. 2 мг/кг болус, последван от инфузия в доза 0.0078 мг/кг/мин за 120 мин. и р.о. прием в доза 300 мг трикратно през интервал от 8 часа (4, 5). При възстановяване на синусов ритъм схемата бе преустановявана и до края на проучването всички пациенти преминаваха на поддържаща доза пропafenone р.о. 150 мг трикратно дневно. Всички пациенти бяха под постоянно мониторно наблюдение до дехоспитализацията.

Събиране и съхраняване на кръвни проби. Изследване на TNF- α

Кръвните проби бяха незабавно центрофугирани, а получената впоследствие плазма беше замразявана. Събирането и съхраняването на пробите беше извършвано в пълно съответствие с използваната методиката.

При провеждане на изследването повторно замразяване на пробите не беше допускано.

Плазмените концентрации на TNF- α бяха определяни с ELISA кит (Elabscience Biotechnology Co., Ltd, China) според протокола на производителя. Всички проби бяха изследвани двукратно.

Статистически анализ

С помощта на дескриптивна статистика бяха изчислявани средни стойности, относителни дялове и централна тенденция (M_o =мода). Тестването на хипотези за равенство беше направено чрез t-критерий на Стюdent. Анализът на всички данни беше извършен със специализиран статистически пакет GraphPad PRISM, Version 5.00. Резултатите бяха представени като средна стойност \pm стандартна грешка на средната аритметична (SEM) или n(%). Стойности $p < 0.05$ се приемаха за статистически значими.

РЕЗУЛТАТИ

Клинична характеристика на участниците

Клиничната характеристика на групата с ППМ беше статистически идентична с тази на контролите ($p > 0.05$) (Таблица 1).

Направеният статистически анализ върху давността на ПМ до момента на хоспитализация

показва, че всички 51 пациенти бяха хоспитализирани между втори и двадесет и четвърти час след началото на аритмията, а най-често на петия час ($M_o=5$; 10 от всички 51 пациенти). Средната продължителност на епизодите на ПМ до момента на хоспитализация беше 8.14 ± 0.76 часа (минимум 2 часа до максимум 24 часа).

Плазмени концентрации на TNF- α

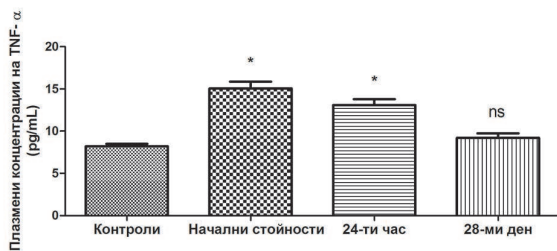
Резултатите, получени при изследване на плазмените концентрации на TNF- α , са представени на Фигура 1. От нея е видно, че стойностите на показателя при постъпване на пациентите в отделението (начални стойности) бяха повишени спрямо тези на контролите (15.06 ± 0.81 vs 8.20 ± 0.29 pg/mL, $p < 0.001$). Двадесет и четири часа след възстановяване на синусовия ритъм промените персистираха (13.09 ± 0.70 vs 8.20 ± 0.29 pg/mL, $p < 0.001$). На двадесет и осмия ден липсваше значима разлика в стойностите, измерени при пациенти и контроли (9.21 ± 0.54 vs 8.20 ± 0.29 pg/mL, $p = 0.10$).

Таблица 1. Клинични данни за пациентска и контролна група

	Пациенти	Контроли	P стойност
Брой участници в група	51	52	$p = 0.89$
Средна възраст (години)	59.84 ± 1.60	59.50 ± 1.46	$p = 0.87$
Мъже/Жени	26/25	26/26	$p = 1/p = 0.93$
Придружаващи заболявания			
Хипертонична болест	37 (72.54%)	34 (65.38%)	$p = 0.44$
Захарен диабет тип 2	3 (5.88%)	2 (3.84%)	$p = 0.62$
Язвена болест в ремисия	2 (3.92%)	0	$p = 0.15$
Състояние след хистеректомия	2 (3.92%)	1 (1.92%)	$p = 0.54$
Доброкачествена простатна хипертрофия	1 (1.96%)	0	$p = 0.32$
Дислипидемия	4 (7.84%)	3 (5.77%)	$p = 0.69$
Медиакменти за лечение на хипертоничната болест и дислипидемията			
Бета блокери	19 (37.25%)	17 (32.69%)	$p = 0.62$
АСЕ-инхибитори	15 (29.41%)	14 (26.92%)	$p = 0.78$
Сартани	11 (21.57%)	9 (17.31%)	$p = 0.58$
Статини	4 (7.84%)	3 (5.77%)	$p = 0.69$
Вредни навици			
Тютюнопушене*	8 (15.69%)	7 (13.46%)	$p = 0.75$
Прием на алкохол**	7 (13.72%)	6 (11.53%)	$p = 0.74$
BMI (kg/m^2)	23.85 ± 0.46	24.95 ± 0.45	$p = 0.09$
Ехокардиографски параметри			
LVEDD (mm)	52.57 ± 0.58	52.29 ± 0.57	$p = 0.73$
LVESD (mm)	34.43 ± 0.56	34.73 ± 0.48	$p = 0.69$
EF (%)	62.98 ± 0.70	61.54 ± 0.58	$p = 0.12$
IVS (mm)	10.37 ± 0.23	9.92 ± 0.26	$p = 0.20$
PW (mm)	10.24 ± 0.21	9.73 ± 0.28	$p = 0.16$
LA обем (ml/m^2)	22.81 ± 0.45	23.82 ± 0.48	$p = 0.13$
RVEDD (mm)	30.54 ± 1.58	29.17 ± 1.52	$p = 0.18$

*не повече от половин кутия цигари седмично

**1-2 питиета/седмично



Фигура 1. Плазмени концентрации на TNF-α (pg/mL) при пациенти с ППМ

(начални стойности – стойности при хоспитализацията на пациентите; 24-ти час – стойности на TNF-α, измерени 24 часа след хоспитализацията на пациентите; 28-и ден – стойности на TNF-α, измерени 28 дни след хоспитализацията на пациентите; * - $p < 0.001$; ns – статистически незначима разлика)

ДИСКУСИЯ

TNF-α участва в инициирането и прогресията на редица сърдечно-съдови заболявания. Резултати от проучвания сочат, че той е ключова молекула в развитието на атеросклерозата (3). TNF-α редуцира експресията на ендотелната NO синтетаза и така предизвиква ендотелна дисфункция. Същевременно факторът оказва директно влияние върху липидния профил. Цитокинът имат отношение и към миокардния контрактилитет. Високи концентрации на показателя са измерени при прогресираща сърдечна недостатъчност, което най-вероятно е следствие на намалено β-адренергично куплиране и намален синтез на контрактилните протеини алфа-миозин и алфа-актин в кардиомиоцитите (23). Съвсем естествено е потърсено мястото на TNF-α в изявата и на ПМ. Проучванията обаче са насочени преди всичко към хроничната форма на заболяването. Установено е, че тя се асоциира със значимо покачване на плазмените концентрации на цитокина (20,21). Същите промени в показателя са установени и при персистиращо предсърдно мъждене (15). В този смисъл нашето изследване дава съществено нова информация. То установява, че високи концентрации на TNF-α са налице още в първите часове от аритмията (Фигура 1). Както е видно от секцията „Резултати“, началните стойности на показателя са определени между втори и двадесет и четвърти час от клиничната изява на заболяването, като при десет от всички петдесет и един пациенти концентрациите са измерени още на петия час. Ранно установените промени са сериозна предпоставка за клиничната им значимост. Те са основание да се приеме, че съществува тясна взаимовръзка между тях и иницииращите заболяването процеси. Дали TNF-α е една от молекулите, тригери-

раци изявата на заболяването, или отклоненията в стойностите ѝ са непосредствено следствие от иницииращите механизми, бихме могли само да предполагаме.

Важен момент при анализиране на резултатите са динамичните промени в стойностите на показателя. Плазмените концентрации на TNF-α са определяни трикратно: един път по време на епизода на ППМ и двукратно по време на синусов ритъм. Този начин на изследване дава възможност да се потърси зависимост между клиничната изява на ПМ и нивата на TNF-α. Подобен дизайн на проучване представят Sata et al (22). Те изследват показателя до втората седмица след епизод на ППМ, при което нивата на показателя остават повишени до края на изследването. Краткият период на наблюдение не позволява на авторите да установят дали промените в концентрации на цитокина са транзитно явление, придружаващо изявата на ритъмното нарушение, или постоянна находка. По-дългият период на проследяване в нашето проучване дава възможността да установим, че високите нива на TNF-α намаляват значимо след възстановяването на синусов ритъм, но процесът настъпва бавно във времето. Специфичната динамика дава основание промените в TNF-α да се приемат като вероятна част от молекулните механизми на заболяването.

От клинична гледна точка покачване на серумните и тъканните нива на TNF-α се наблюдава обичайно при възпалителни и инфекциозни състояния, като промените са пропорционални на тежестта на заболяването (22,18). В експериментални условия при животни повишената експресия на TNF-α води до усилен възпалителна сигнализация и заедно с това до скъсяване на ефективния рефрактерен период на предсърдните кардиомиоцити (14). Този факт позволява да се потърси тясна връзка между възпалителния процес, електрическото ремоделиране на предсърдията и клиничната изявата и рецидиви на ПМ.

ИЗВОДИ

При ППМ се наблюдават динамични промени в плазмените концентрации на TNF-α. Те са значимо повишени по време на клиничната изява на ритъмното нарушение. След възстановяване на синусов ритъм нивата се нормализират бавно във времето. Специфичният характер на установените отклонения дава сериозно основание да се приеме клиничната им значимост за изявата на заболяването.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aggarwal BB, Moffat B, Harkins RN. Human lymphotoxin. Production by a lymphoblastoid cell line, purification, and initial characterization. *J Biol Chem.* 1984;259(1):686-91.
2. Aggarwal BB, Gupta SC, Kim JH. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. *Blood.* 2012;119(3):651-65.
3. Asifa GZ, Liaquat A, Murtaza I, Kazmi SA, Javed Q. Tumor necrosis factor-alpha gene promoter region polymorphism and the risk of coronary heart disease. *ScientificWorldJournal.* 2013;2013:203492.
4. Bellandi F, Cantini F, Pedone T, Palchetti R, Bamoshmoosh M, Dabizzi RP. Effectiveness of Intravenous Propafenone for Conversion of Recent-Onset Atrial Fibrillation: A Placebo-Controlled Study. *Clin Cardiol.* 1995;18: 631-634.
5. Bianconi L, Mennuni M. Comparison Between Propafenone and Digoxin Administered Intravenously to Patients With Acute Atrial Fibrillation. *Am J Cardiol.* 1998;82:584-588.
6. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *Pathol.* 2008;214(2):149-60.
7. Brotas AM, Cunha JM, Lago EH, Machado CC, Carneiro SC. Tumor necrosis factor-alpha and the cytokine network in psoriasis. *An Bras Dermatol.* 2012;87(5):673-81.
8. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1975;72(9):3666-70.
9. Engelmann MD, Svendsen JH. Inflammation in the genesis and perpetuation of atrial fibrillation. *Eur Heart J.* 2005;26(20):2083-92.
10. Friedrichs K, Klinke A, Baldus S. Inflammatory pathways underlying atrial fibrillation. *Trends Mol Med.* 2011;17(10):556-63.
11. Gordon JW, Shaw JA, Kirshenbaum LA. Multiple facets of NF- κ B in the heart: to be or not to NF- κ B. *Circ Res.* 2011;108:1122-1132.
12. Guo Y, Lip GY, Apostolakis S. Inflammation in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(22):2263-70.
13. Knecht S, Oelschläger C, Duning T, Lohmann H, Albers J, Stehling C, Heindel W, Breithardt G, Berger K, Ringelstein EB, P Kirchhof, Wersching H. Atrial fibrillation in stroke-free patients is associated with memory impairment and hippocampal atrophy. *Eur Heart J.* 2008, 29(17):2125-32.
14. Kourliouros A, Savelieva I, Kiotsekoglou A, Jahangiri M, Camm J. Current concepts in the pathogenesis of atrial fibrillation. *Am Heart J.* 2009;157(2):243-52.
15. Li J, Solus J, Chen Q, Rho YH, Milne G, Stein CM, Darbar D. Role of inflammation and oxidative stress in atrial fibrillation. *Heart Rhythm.* 2010;7(4):438-44.
16. Lip G, Caterina R, Savelieva I et al. ESC Committee for Practice Guidelines 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation. *Eur Heart J.* 2012; 33:2719-2747.
17. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: Integrating mammalian biology. *Cell.* 2010; 104:487-501.
18. Nürnberger W, Platonov A, Stannigel H, Beloborodov VB, Michelmann I, von Kries R, Burdach S, Göbel U. Definition of a new score for severity of generalized Neisseria meningitidis infection. *Eur J Pediatr.* 1995;154(11):896-900.
19. Patel P, Dokainish H, Tsai P, Lakkis N. Update on the association of inflammation and atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 2010;21(9):1064-70.
20. Qu YC, Du YM, Wu SL, Chen QX, Wu HL, Zhou SF. Activated nuclear factor-kappaB and increased tumor necrosis factor-alpha in atrial tissue of atrial fibrillation. *Scand Cardiovasc J.* 2009;43(5):292-7.
21. Ren M, Li X, Hao L, Zhong J. Role of tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis of atrial fibrillation: A novel potential therapeutic target? *Ann Med.* 2015;47(4):316-24.
22. Robak T, Gladalska A, Stepień H. The tumour necrosis factor family of receptors/ligands in the serum of patients with

- rheumatoid arthritis. Eur Cytokine Netw.;9(2):145-54.
23. Sinagra E, Perricone G, Romano C, Cottone M. Heart failure and anti tumor necrosis factor-alpha in systemic chronic inflammatory diseases. Eur J Intern Med. 2013;24(5):385-92.
24. World Medical Association Declaration of Helsinki (2008). Ethical principles for medical research involving human subjects. 59th WMA General Assembly. Seoul.
25. Wu N, Xu B, Xiang Y, Wu L, Zhang Y, Ma X, Tong S, Shu M, Song Z, Li Y, Zhong L. Association of inflammatory factors with occurrence and recurrence of atrial fibrillation: a meta-analysis. Int J Cardiol. 2013;169(1):62-72.

Адрес за кореспонденция:
Мария Негринова Негрева
Първа клиника по кардиология,
МБАЛ "Св. Марина" - Варна,
бул. Хр. Смирненски 1
e-mail: mnegreva@abv.bg