

## STUDII ŞI SINTEZE

### PARTICULARITĂȚILE RĂSPUNSULUI INFLAMATOR ÎN EVOLUȚIA POST-INFARCT

Mihail Popovici – academician al AŞM, prof. univ., dr. hab. în şt. med.,

Lucia Ciobanu<sup>1</sup> – dr. hab. în şt. med., conf. cercet.,

Ion Popovici<sup>1</sup> – dr. hab. în şt. med., conf. cercet.,

Victoria Ivanov<sup>1</sup> – dr. hab. în şt. med., prof. cercet.,

Nicolae Ciobanu<sup>1</sup> – dr. hab. în şt. med., conf. cercet.,

Sava Costin<sup>2</sup> – dr. hab. în şt. med., prof. univ.,

Valeriu Cobeţ<sup>3</sup> – dr. hab. în şt. med., prof. univ.,

<sup>1</sup>IMSP Institutul de Cardiologie din Moldova,

<sup>2</sup>Institutul Max-Planck (Bad-Nauheim, Germania),

<sup>3</sup>Universitatea de Stat de Medicină şi Farmacie „Nicolae Testemiţanu”

*popovicim@gmail.com*

#### Rezumat

În cadrul acestui studiu clinico-fundamental s-a evaluat substratul celular al răspunsului inflamator în miocard după IMA, precum şi dinamica markerilor principali ai inflamaţiei la pacienţii cu STEMI pe o perioadă de 12 luni. Evoluţia IMA excelează prin acumularea celulelor promotore a inflamaţiei în miocard, care evaluează într-un anumit format cronologic: neutrofilele (48 de ore), macrofagele M1 (72 de ore) şi macrofagele M2 (7 zile), fenomene asociate de creşterea expresiei TNF- $\alpha$  cu o ascensiune cantitativă de circa 170 ori pe perioada 24 ore–5 zile. Dinamica markerilor circulanţi la pacienţii cu STEMI se impune prin majorarea progresivă a IL-1, IL-6, FLA2, TNF- $\alpha$  şi PCRhs în primele 72 de ore de la debutul IMA, precum şi micşorarea semnificativă a IL-4. Tendinţa de redresare a markerilor se decelează după perioada de 14 zile, preia proporţii notabile după 6 luni, iar la distanţa de 12 luni conţinutul seric al IL-4 rămâne semnificativ depreciat, iar PCRhs nu coboară sub valoarea de 6,0 mg/L. Perioada de 3 luni a evoluţiei post-infarct iminentă prin finalizarea sintezei collagenului fibrilar de tip I se caracterizează prin niveluri circulante semnificativ majorate ale collagenazei 2 (MMP8) şi SDF-1.

**Cuvinte-cheie:** inflamaţie, citokine, macrofage, proteina C reactivă

#### Summary. The traits of inflammatory response during post-infarction evolution

This clinic-experimental study aimed the evaluation of myocardium cell substrate of inflammatory response after acute myocardial infarction (AMI) as well as of dynamics of the main inflammation markers in patients with AMI with ST segment elevation (STEMI) during a period of 12 months. AMI evolution means a certain temporal pattern accumulation of linked to inflammation cells in myocardium: neutrophiles (48 hours), macrophages M1 (72 hours) and macrophages M2 (7 days), phenomena associated with TNF- $\alpha$  expression increase, whose quantitative boosting is about 170 times in the period 24 hours-5 days. The circulatory dynamics of IL-1, IL-6, phospholipase A2, TNF- $\alpha$  and high sensitivity C reactive protein (hsCRP) is characterized by their progressively elevation in the first 72 days after AMI, while IL-4 significantly falls. The tendency of marker redressing is underlined after 14 days, it becomes notable after 6 months, and after 12 months the serum level of IL-4 remains significantly decreased, but hsCRP does not decline below 6,0 mg/L. The circulatory levels of collagenase 2 (MMP8) and SDF-1 (stromal derived factor) significantly elevate during 3 months after AMI, a period known by finishing of fibrillar collagen type I synthesis needed for an adequate myocardium scarring.

**Key words:** inflammation, cytokine, macrophage, C-reactive protein

#### Резюме. Особенности воспалительного ответа пост-инфарктного периода

В ходе данного клинико-экспериментального исследования был изучен клеточный субстрат воспалительного ответа миокарда после острого инфаркта миокарда (ОИМ), а также характер динамики основных маркеров воспаления у больных с ОИМ с подъёмом сегмента ST (STEMI) на протяжении 12 мес. Воспалительный ответ миокарда при ОИМ отличается определенным временным паттерном клеточного состава: накопление нейтрофилов (48 часов), макрофагов M1 (72 часов) и макрофагов M2 (7 дней), что сопровождалось повышением экспрессии TNF- $\alpha$ , количество которого возросло около 170 раз в течение периода 24 часов - 5 дней. Динамика циркулирующих маркеров у больных STEMI характеризовалась прогрессивным увеличением IL-1, IL-6, фосфолипазы A2, TNF- $\alpha$  и hsCRP в первые 72 часа от начала ОИМ, а также достоверным снижением IL-4. Тенденция нормализации

маркеров наблюдается после 14 дней, становится очевидным после 6 мес, однако после 12 мес IL-4 остаётся достоверно сниженным, а hsCRP не падает ниже 6,0 мг/л. Важно отметить, что коллагеназа 2 и фактор-1 стромальных клеток определяются достоверно повышенными в первые 3 мес после ОИМ, период завершения синтеза фибриллярного коллагена типа 1.

**Ключевые слова:** воспаление, цитокины, макрофаги, С-реактивный белок

## Introducere

Evoluția post-infarct impune în plan fiziopatologic remodelarea cardiacă consecutivă necrozei miocardului și leziunilor cardiomiocitelor inerente reperfuziei. Aceasta are la bază un set de evenimente care se desfășoară interdependent și într-un format cronologic iminent ce rezultă în fond în sinteza proteică a matricei extracelulare, hipertrofia miocardului viabil și substituția zonei de necroză prin fibroză și/sau scleroză, angiogeneză și arteriogeneză, precum și reabilitarea funcțională a miocardului siderat și hibernat, expresia diferitor factori de creștere, inclusiv a factorului de creștere neuronală (NGF), care asigură creșterea potențialului simpato-adrenergic intrinsec al cordului etc. Totodată, evoluția post-infarct este asociată de activarea sistemului celulelor progenitoare rezidente și medulare care grație diferențierii și proliferării vor asigura restabilirea numerică a diferitor populații celulare. Sechestrarea celulelor progenitoare derivate de măduva oaselor, precum și cantonarea lor în miocard este predilect reglată prin intermediul VEGF (factorul endotelial vascular de creștere) și, respectiv, SDF-1 (factorul derivat de stromă).

Caracterul și fezabilitatea remodelării miocardului influențează în mod direct evoluția clinică și funcțională a pacienților după infarct miocardic acut (IMA) și este inteligibil în conexiune strânsă cu dimensiunea zonei de necroză. Astfel, V. Schachinger și colab. (2009) au relatat că valoarea fracției de ejeție a ventriculului stâng apreciată la ziua a 4-a a IMA este corelativă cu volumele telediastolic și telesistolice atestate la perioada de 4 luni după infarct [1]. Cu toate acestea există evidențe care demonstrează că o remodelare cardiacă negativă poate avea loc și în cazul unei zone de necroză a miocardului <18% [2]. În acest context se admite rolul și altor factori care se pot implica nemijlocit în procesul de remodelare, cum ar fi inflamația, stresul oxidativ, *turnover*-ul collagenului interstițial determinat de activitatea fibroblastelor și miofibroblastelor, iar pe de altă parte de raportul MMP/TIMP (metaloproteinazele matricei extracelulare/inhibitorii lor specifici).

Inflamația prezintă un interes deosebit din mai multe considerente:

- necroza cardiomiocitelor declanșează *per se* răspunsul inflamator (componentele necrozei celulare au acțiune proinflamatoare notabilă);
- citokinele proinflamatoare activează stresul

oxidativ, stimulează diferențierea fibroblastelor în miofibroblaste, cresc expresia MMP și SDF-1, stimulează proliferarea și migrarea celulară;

- markerii inflamației pot fi evaluați și cuantificați în sânge (fiind de natură proteică sunt determinați prin metoda ELISA).

Trebuie de asemenea de menționat, că prin entitatea sa biologică, inflamația estimată drept o reacție tisulară nespecifică imună la oricare gen de leziune are semnificație adaptivă, beneficiile căreia constau în izolarea și limitarea injuriei, fagocitoza celulelor ireversibil alterate și epavelor celulare (rezultatul infiltrării neutrofilelor, monocitelor și acumulării regionale a macrofagelor), stimularea proceselor proliferative propice regenerării structurale și remodelării organului.

Dar, inflamația „adaptivă” inevitabil creează precondiții de perpetuare a inflamației (i.e. inflamația induce inflamația), fenomen contiguu cu diseminarea inflamației, dat fiind faptul că markerii proinflamatori posedă acțiune nu numai autocrină și paracrină, dar și endocrină. Prin urmare se instalează o inflamație cronică sau sistemică, care în perimetrul cordului compromite miocardul viabil, iar în perimetrul sistemului cardiovascular afectează la distanță diferite segmente ale patului vascular (e.g. creșterea riscului accidentului vascular cerebral la pacienții cu IMA, fiind, totodată, valabilă și relația inversă). Monitorizarea dinamicii nivelurilor circulante ale markerilor anti- și proinflamatori este importantă în vederea aprecierii gradului răspunsului inflamator în diferite perioade de evoluție post-infarct și predicției remodelării negative a miocardului. Desemnarea particularităților și pârgghiilor răspunsului inflamator ar oferi, totodată, predictorii importanți de diagnostic și pronostic, precum și ar contura ținte terapeutice adiacente strategiei terapeutice standard a evoluției post-infarct.

Elucidarea originii și entității fiziopatologice a modificării fiecărui marker al inflamației în evoluția post-infarct este o problemă intricată a cardiologiei, fapt care a conturat **scopul** studiului: evaluarea în condiții clinico-experimentale a particularităților răspunsului inflamator inerent evoluției post-infarct.

## Material și metode

Studiul fundamental a fost realizat pe șoricea, la care s-a reprodus IMA prin ocluzia arterei coronariene. Celulele proinflamatoare (neutrofile, macrofage) în zona necrozei, identificarea macrofagelor activate

pe cale clasică (M1) și alternativă (M2), precum și expresia și cantitatea TNF- $\alpha$  s-au explorat pe perioada primelor 14 zile după IMA, utilizând microscopia confocală cu laser și qRT-PCR (reacția de polimerază în lanț cantitativă în timp real).

În studiul clinic au fost înrolați 43 de pacienți cu IMA cu elevarea segmentului ST (STEMI) tratat prin revascularizare intervențională primară prin angioplastie coronariană cu implantare de stent (PCI). Nivelurile circulante ale markerilor principali de estimare a intensității răspunsului inflamator ((proteina C reactivă înalt senzitivă (PCRhs), interleukinele 1, 4 și 6 (IL-1, IL-4, IL-6), TNF- $\alpha$  (factorul de necroză a tumorii), fosfolipaza A2 (FLA2) și SDF-1)), precum și MMP-8 au fost determinate repetat fiecare 24-48 ore pe perioada primelor 2 săptămâni post-infarct, precum și la distanța de 1 an cu estimările respective după 1, 3, 6 și 12 luni.

### Rezultate

Perioada precoce a evoluției post-infarct se impune printr-un anumit aranjament cronologic de acumulare a celulelor proinflamatoare în zona de necroză a miocardului.

Astfel, este remarcabilă acumularea destul de timpurie a neutrofilelor, care atinge cote maxime deja după 48 de ore de la debutul IMA (fig.1). Stocul

acestora începe să descrească după 72 de ore cu peste 50% și se estimează minimal după 7 zile.

Granulocitele sunt markate în verde, cardiomiocitele în roșu, iar nucleii în albastru.

Infiltrarea neutrofilelor în miocard s-a asociat cu activarea macrofagelor pe cale clasică (M1) și alternativă (M2), acumularea cărora în miocard s-a produs în mod succesiv. Acumularea mai devreme este caracteristică pentru macrofagele M1, stocul maxim al cărora se identifică după 72 de ore de la debutul IMA (fig.2A). Acumularea maximă a macrofagelor M2 se constată la ziua a 7-a de la debutul IMA și către ziua a 14-a numărul lor scade considerabil (fig.2B).

Markaj triplu al macrofagelor: CD68 este un pan-marker al macrofagelor, IL-1beta este markerul macrofagelor de tip I, iar receptorul de manoză (MRC – mannose receptor) este markerul macrofagelor de tip II (Panoul din mijloc, jos, colorat în roșu). Colorație roșie din toate panpurile din stânga reprezintă actina sarcomerică.

Macrofagele sunt o sursă importantă de eliberare a TNF- $\alpha$ , citokină proinflamatoare cu acțiune stimulatorie potentă asupra expresiei chemokinelor și sintezei hepatice a PCR. Rezultatele qRT-PCR au decelat, că cantitatea ARN-TNF- $\alpha$  în macrofagele izolate din zona infarctului după 24 crește notabil față de nivelul

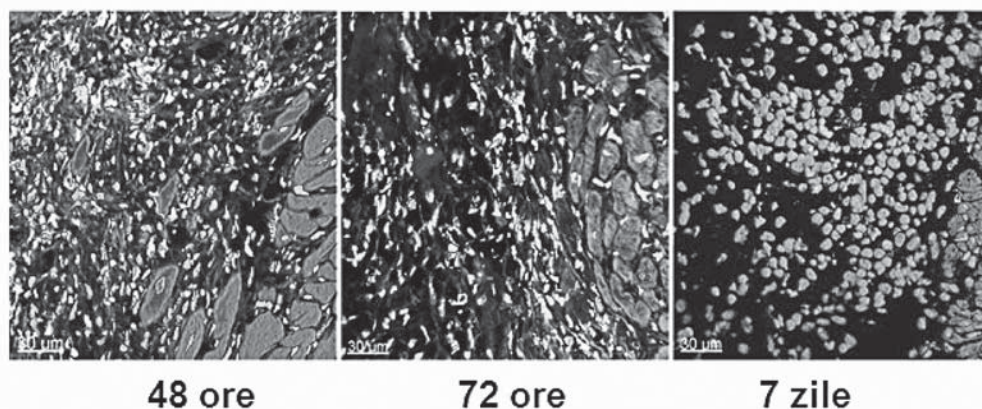


Figura 1. Dinamica acumulării neutrofilelor în miocard după IMA

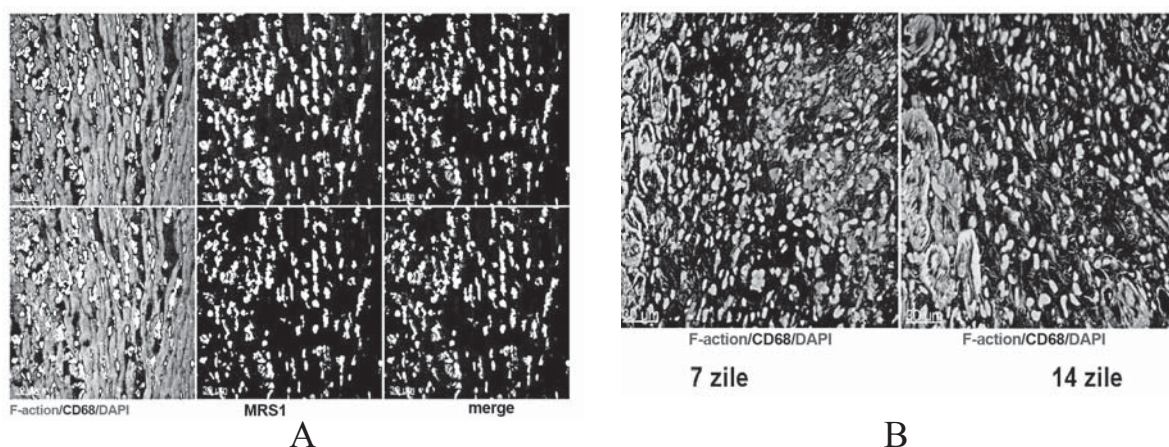


Figura 2. Acumularea macrofagelor M1 (A) și M2 (B) în miocard după IMA

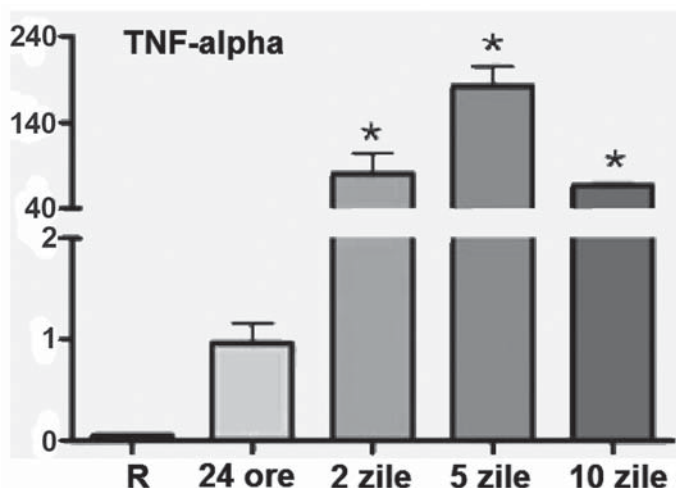


Figura 3. Cantitatea ARN-TNF- $\alpha$  în macrofagele izolate după IMA (R-referință)

de referință. Elevarea continuă se estimează maximă (o creștere de cca 170 ori) după 5 zile de la debutul IMA. După 10 zile cantitatea ARN-TNF- $\alpha$  se reduce și se atestă aproximativ al nivelul propriu perioadei de 2 zile (fig.3).

Așadar, majorarea exponențială a nivelului TNF- $\alpha$  în miocard după IMA (2-5 zile) se urmărește pe perioada când are loc acumularea maximă a macrofagelor M1, iar declinul citokinei practic se suprapune pe perioada acumulării macrofagelor M2.

Remarcabil, că determinarea nivelului circulant al TNF- $\alpha$  la pacienții cu STEMI pe perioada de 14 zile de la debutul IMA indică modificări similare ale markerului în miocard (tab. 1).

Astfel, în primele 24 de ore de la debutul IMA markerul crește cu cca 24%, dar statistic nesemnificativ. Elevarea concludentă se înregistrează la distanța de 72 de ore, când incrementul este de 3,3 ori peste valoarea de referință, iar la ziua 5 diferența este maximă (3,56 ori). Către perioada de 14 zile a evoluției post-infarct nivelul circulant al TNF- $\alpha$  descrește, dar se menține mai mult ca dublu comparativ cu markerul de referință și cu 34% mai mare versus markerul perioadei de 48 de ore.

Un alt marker care reflectă expresia macrofagelor este fosfolipaza A2. Conținutul seric al acesteia crește semnificativ cu cca 2/3 față de nivelul martor sau de referință (conform experienței clinicii Maya din Cleveland  $\leq 200$  nm/ml) deja după 24 de ore și atinge platoul maxim pe perioada 72 ore–7 zile de la debutul IMA, care se estimează cu 75,5-94% peste nivelul de referință (tab.2).

Declinul concludent al markerului se atestă după 1 lună, când reculul față de markerul perioadei de 24 de ore constituie 13,3%.

Citokinele importante nu numai în declanșarea răspunsului inflamator, dar și în menținerea acestuia pe perioadă de durată (inclusiv diseminarea procesului inflamator) sunt interleukinele atât cu acțiune pro-, cât și antiinflamatoare. Raportul acestora este însemnat și în vederea puterii de sinteză a PCR de către hepatocite, celule extrahepatice (e.g. endotelioцит, miocit neted vascular, cardiomiocit etc.), precum și a expresiei TNF- $\alpha$ . În acest context am evaluat nivelurile circulante ale IL-1, IL-4 și IL-6 nu numai în perioada precoce de evoluție post-infarct, dar și la distanța de 12 luni (tab. 3).

Tabelul 1

**Dinamica conținutului seric al TNF- $\alpha$  (pg/ml) la pacienții cu STEMI**

Martor	Pacienții cu STEMI (perioada de la debutul infarctului)					
	24 ore	48 ore	72 ore	5 zile	10 zile	14 zile
5,7 $\pm$ 0,5	7,1 $\pm$ 0,7	8,8 $\pm$ 0,8*	18,6 $\pm$ 1,7*	20,3 $\pm$ 2,2*	16,5 $\pm$ 1,6*	11,8 $\pm$ 0,9*

Legendă: p – discrepanță semnificativă (p<0,01) față de indicele martor

Tabelul 2

**Dinamica conținutului seric al FLA2 (nm/ml) la pacienții cu STEMI**

Martor (Clinica Maya)	Pacienții cu STEMI (perioada de la debutul infarctului)					
	24 ore	48 ore	72 ore	7 zile	14 zile	1 lună
$\leq 200$	324 $\pm$ 31*	349 $\pm$ 33*	388 $\pm$ 36*	351 $\pm$ 35*	317 $\pm$ 28*	281 $\pm$ 25*

Legendă: p – discrepanță semnificativă (p<0,05) față de indicele martor

Tabelul 3

**Dinamica de durată a IL-1, IL-4 și IL-6 la pacienții cu STEMI**

Marker	Martor	Dinamica post-infarct la pacienții cu STEMI							
		24 ore	48 ore	72 ore	7 zile	14 zile	1 lună	6 luni	12 uni
IL-1 (pg/ml)	5,31 ±0,34	8,24± 0,65*	7,98± 0,69*	7,21± 0,63*	6,81± 0,56*	6,62± 0,53*	6,43± 0,41*	6,25± 0,36*	5,86± 0,39
IL-4 (pg/ml)	7,78 ±0,44	6,73± 0,52	5,82± 0,51*	4,73± 0,32*	6,04± 0,38*	6,44± 0,41*	6,57± 0,41*	6,72± 0,46*	6,85± 0,43*
IL-6 (pg/ml)	5,48 ±0,31	6,18± 0,55	8,45± 0,63*	11,20± 0,78*	10,75± 0,83*	9,68± 0,79*	8,62± 0,63*	7,83± 0,61*	6,08± 0,58

Legendă: \* -  $p < 0,05$  versus indicele martor

Datele obținute indică majorarea semnificativă cu 55,2% a conținutului seric al IL-1 deja după 24 de ore după debutul IMA, precum și o creștere mai moderată și ne semnificativă a IL-6 cu 12,8% comparativ cu valorile indicilor martor. Nivelul circulant al IL-4, dimpotrivă s-a redus la această perioadă cu 13,5%. La distanța de 72 de ore se atestă o menținere a valorii semnificativ înalte a IL-1, iar IL-6 demonstrează o creștere practic dublă. Conținutul seric al IL-4 are la această perioadă cea mai mică valoare, cu 39,2% sub markerul martor. Către ziua a 7-a s-a stabilit o descreștere a ambelor interleukine, și o majorare a IL-4 cu cca 33% față de indicele atestat după 72 de ore. La ziua a 14-a devierile markerilor comparativ cu nivelul propriu zilei a 7-a sunt neglijabile. Estimările efectuate la luna 1 și 6 indică valori mai reduse ale IL-1 și IL-6, dar IL-4 este în creștere. După 12 luni de la debutul IMA nivelul circulant al IL-1 și IL-6 s-au redus până la o diferență ne semnificativă față de markerii martor, iar IL-4, deși a diminuat, rămâne semnificativ subiacentă cu 12%.

Remarcabil că PCRhs a fost identificată la valori de peste 8,5 mg/L la toate estimările perioadei timpurii a evoluției post-infarct (24, 48 și 72 de ore, 7 și 14 zile), valoarea acesteea corelând robust cu alți markeri ai inflamației (fig. 4).

Diminuarea nivelului circulant al PCRhs s-a constatat progresiv pe perioada 3-12 luni, dar rămâne, totuși, la ultima estimare peste valoarea de 6 mg/L, deci se încadrează în valoarea markerului ce semnifică un risc cardiovascular înalt.

Acumularea neutrofilelor și macrofagelor în zona necrozei a miocardului, precum și creșterea expresiei citokinelor proinflamatoare abordează întrebarea privind caracterul modificării expresiei colagenazelor autentice ale matricei extracelulare (colagenazele 1, 2, 3 și 4), cunoscute ca MMP1, MMP8, MMP13 și, respectiv, MMP18. Activitatea acestora augmentează degradarea colagenului, sinteza căruia este necesară procesului de fibrozare și sclerozare a miocardului și reducerii riscului de subțiere a miocardului și dezvoltării anevrismului ventricular. În acest context am evaluat nivelul circulant al MMP8 pe perioada critică post-infarct privind *turnover*-ul colagenului, deci 3 luni de la debutul IMA când se finalizează sinteza colagenului de tip I, precum și la distanța de 6 luni oportună consolidării procesului de remodelare cardiacă.

Totodată, am estimat pe această perioadă și conținutul seric al SDF-1, citokina importantă pentru evoluția post-infarct prin acțiunea sa de stimulare a fibroblastelor și reglare a cantonării celulelor progenitoare medulare circulante în miocard (tab. 4).

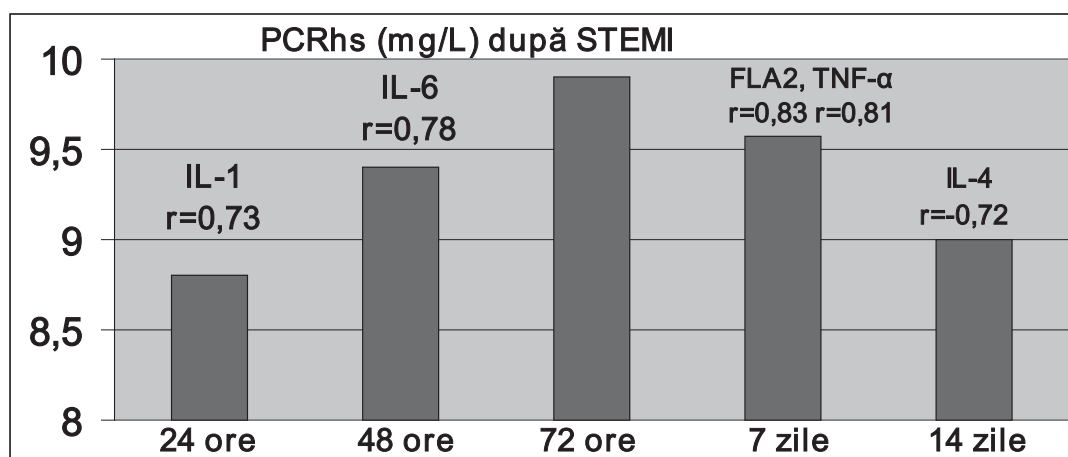


Figura 4. Valoarea serică a PCRhs în perioada precoce a evoluției postinfarct

Tabelul 4

**Dinamicul seric al MMP8 și SDF-1 la pacienții cu STEMI după PCI**

Marker	Martor	Pacienții cu STEMI, evoluția post-infarct				
		2 zile	4 zile	3 săptămâni	3 luni	6 luni
MMP8 ng/ml	3,2±0,29	6,1±0,46 p<0,01	6,8±0,41 p<0,05	5,6±0,36 p<0,05	5,4±0,35 p<0,05	3,6±0,32 p>0,05
SDF-1 pg/ml	173±14	203±15 p<0,05	213±17 p<0,05	225±19 p<0,05	217±16 p<0,05	198±18 p<0,05

Legendă: \* - p<0,05 versus indicele martor

Astfel, deja după 2 zile după STEMI conținutul seric al MMP8 și SDF-1 elevează semnificativ față de nivelul martor cu 90,6 și, respectiv, 17,3%. Nivelul circulant al ambilor markeri se menține semnificativ majorat fără variații notabile ale decalajului relativ până la perioada de 3 luni după debutul STEMI. La distanța de 6 luni, însă, conținutul seric la MMP8 se reduce până la o diferență ne semnificativă față de markerul martor, iar SDF-1 rămâne semnificativ majorat cu 14,5%.

**Discuție**

Studiul fundamental și clinic efectuat a scos în evidență particularități importante ale răspunsului inflamator pe diferite perioade după infarctul miocardic acut privind atât suportul celular, cât și caracterul modificării citokinelor și chemokinelor. De menționat în primul rând acumularea destul de promptă a neutrofilelor în zona de necroză a miocardului, stocul lor atingând cote maxime deja după 48 de ore. Neutrofilele sunt sursa principală a IL-17 care posedă efecte chemoattractant și protrombotic, iar cromatina îmbibată cu conținutul plasmatic eliberat din neutrofile augmentează notabil expresia moleculelor de adeziune și agregarea plachetelor, fenomen recunoscut ca „capcana extracelulară a neutrofilelor” [3]. Aceasta din urmă influențează detrimental evoluția post-infarct pe mai multe paliere: activarea stresului oxidativ și potențarea răspunsului inflamator, riscul crescut de „no-reflow” și „low-reflow” în cadrul reperfuziei miocardului, citotoxicitate asupra ADN, activarea TOLL-receptorilor etc.

Puțin mai târziu, deja după 72 de ore la debutul IMA se constată acumularea macrofagelor M1, activate pe cale clasică. Acestea se impun oportun în potențarea și perpetuarea răspunsului inflamator dată fiind faptul că sunt sursa principală de eliberare a chemokinelor, citokinelor proinflamatoare (în primul rând a TNF- $\alpha$ ), mieloperoxidazei. Macrofagele M1 sporesc în continuare cantitatea MMP8 în miocard, majorarea căreia mai devreme este atribuită neutrofilelor.

În cercetarea clinică am stabilit elevarea concludentă (mai mult ca dublă) a colagenazei 2 (MMP8) în primele 4 zile după STEMI, deci în coordonatele

de timp ce semnifică stocarea dominantă a neutrofilelor și M1 în miocard, precum și sinteza colagenului fibrilar de tip III (începând cu ziua a 2-a și durează circa 3 săptămâni) și a colagenului fibrilar de tip I (începând cu ziua a 4-a și durează circa 3 luni). Elevarea MMP8 consemnează degradarea exagerată a colagenului, care pe o parte periclitează substituția zonei de necroză prin fibroză și scleroză, iar pe de altă parte potențează răspunsul inflamator, întrucât produsele degradării colagenului cresc expresia citokinelor proinflamatoare [4], iar acestea pot *per se* activa fibroblaștii și diferențierea lor în miofibroblaști [5].

Majorarea progresivă a TNF- $\alpha$  în primele 5 zile de la debutul IMA se decelează atât în miocard, cât și în sânge. În miocard activarea clasică a macrofagelor M1 se asociază cu creșterea expresiei și cantității TNF- $\alpha$  de circa 170 ori, iar nivelul circulant al markerului elevează de circa 4 ori, care descrește dublu către ziua a 14-a.

Remarcabil, că creșterea conținutului seric al IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  și PCRhs la pacienții cu STEMI se notează la cote superioare la perioada post-infarct de 72 de ore, ceea ce indică legătura coerentă a acestor citokine cu macrofagele M1. Prin urmare, prin determinarea în primele 72 de ore după IMA a conținutului sanguin al IL-1, IL-6, PCRhs și TNF- $\alpha$  se poate sugera asupra amplitudinii activării macrofagelor M1 în miocard și, respectiv, asupra severității răspunsului inflamator. Interleukinele și TNF- $\alpha$  se anunță la această noimă factori de stimulare a sintezei hepatice a PCR și deci diseminare a inflamației pe perioada post-infarct.

Evoluția post-infarct la distanța de 7 zile se impune prin acumularea în miocard a macrofagelor M2 vizate preponderent prin capacitatea lor de eliberare a interleukinelor antiinflamatoare, IL-4 și IL-10. Conținutul seric al IL-4 aflat în declin în primele 72 de ore la pacienții cu STEMI se majorează către ziua a 7-a și până la luna a 12-a a evoluției post-infarct este în raport cantitativ indirect cu IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  și PCRhs. Aprecierea acestui raport la pacienți cu STEMI este importantă în contextul evaluării dinamicii PCRhs și are valoare predictivă asupra pronosticului răspunsului inflamator și remodelării cardiace.

În studiul nostru PCRhs rămâne la distanța de 12 luni a evoluției post-infarct notabil majorată, fapt ce s-a asociat cu valori semnificativ reduse ale IL-4 față de markerul martor, în timp ce IL-1 și IL-6 s-au redresat până la o diferență nesemnificativă față de nivelul martor.

Răspunsul inflamator după infarct este asociat de procesele reparative pe care le influențează prin intermediul citokinelor și chemokinelor. Chemokina CHCL12 sau SDF-1 are rol deosebit în procesul reparativ, deoarece stimulează atât fibroblastele, cât și asigură cantonarea celulelor progenitoare derivate de măduvă [6]. Este inteligibilă aprecierea acestei citokine în format comun cu MMP, TIMMP, markerii degradării colagenului fibrilar, oxiprolina etc. [7]. Conținutul seric al SDF-1 a crescut la pacienții cu STEMI pe perioada sintezei active a colagenului fibrilar de tip III (3 săptămâni) și de tip I (3 luni) corelativ cu majorarea MMP8. Creșterea acestui raport ar consemna remodelarea miocardului cu o fibrozare și sclerozare excesivă, iar diminuarea – riscul de anevrism și de ruptură a mușchiului cardiac.

Așadar, estimarea în dinamică a markerilor inflamației deja de la debutul necrozei miocardului poate consemna severitatea ei, expresia adaptivă și rolul negativ asupra remodelării cardiace la distanță și asupra pronosticului evoluției clinice a pacientului cu STEMI.

Deși, datele acumulate indică *per ansamblu* aportul fiziopatologic al răspunsului inflamator în evoluția post-infarct tentativele de atenuare a acestuia nu s-au soldat întotdeauna cu obținerea rezultatelor scontate. La ora actuală rămân fezabile prin acțiunea antiinflamatoare statinele și antagoniștii IL-1 (e.g. trialul VCU-ART) vizavi de beneficiile cardiace post-infarct dovedite în studiile clinice [8, 9] și sunt de perspectivă relevantă datele studiilor fundamentale, care aduc la apel efectul blocării receptorilor factorului nuclear  $\kappa$ B în reducerea zonei de infarct [10].

### Concluzii

1. Substratul celular care caracterizează răspunsul inflamator al miocardului după IMA se impune, potrivit rezultatelor studiului fundamental, prin acumularea maximă a neutrofilelor după 48 de ore, macrofagelor M1 după 72 de ore și a macrofagelor M2 după 7 zile, fenomene asociate de creșterea expresiei TNF- $\alpha$ , cu o ascensiune cantitativă de circa 170 ori pe perioada 24 ore – 5 zile.

2. Perioada precoce a evoluției post-infarct (prima săptămână) excelează la pacienții cu STEMI prin elevarea maximă a nivelurilor circulante ale markerilor proinflamatori principali: IL-1, IL-6, FLA2 și PCRhs după 72 de ore, iar TNF- $\alpha$  la ziua a 5-a. Pe această perioadă IL-4 (citokina proinflamatoare)

demonstrează un declin semnificativ față de indicele martor. Aceste evidențe sunt în contiguitate conceptuală cu datele studiului fundamental.

3. Tendința de redresare a markerilor inflamației se decelează după 14 zile de la debutul STEMI, devine notabilă după 6 luni, iar la distanța de 12 luni IL-4 rămâne depreciată semnificativ, în timp ce PCRhs se menține al valori  $\geq 6,0$  mg/L.

4. Perioada de 3 luni a evoluției post-infarct, importantă prin finalizarea sintezei colagenului fibrilar de tip I propice unei cicatrizări adecvate a miocardului necrotizat, precum și a proliferării celulare determinate de celulele progenitoare rezidente și circulante derivate de măduvă se impune prin valori semnificativ crescute ale conținutului seric al colagenazei 2 (MMP8) și SDF-1.

5. Nivelul circulant al PCRhs se corelează robust pe perioada precoce a evoluției post-infarct cu markerii proinflamatori (IL-1, IL-6, FLA2 și TNF- $\alpha$ ) și markerul antiinflamator, IL-4, iar pe perioada post-infarct tardivă (6-12 luni) cu indicii ecocardiografici inerenti remodelării cardiace (FE, VTDVS și VTSVS). Evaluarea PCRhs complementară cu estimarea raportului markerilor proinflamatori/antiinflamatori câștigă sufragii suplimentare privind pronosticul evoluției post-infarct.

### Bibliografie

- Schachinger V, Assmus B, Erbs S et al. *Intracoronary infusion of bone marrow-derived mononuclear cells abrogates adverse left ventricular remodeling post-acute myocardial infarction: insights from the reinfusion of Enriched Progenitor Cells and Infarct Remodelling in Acute Myocardial Infarction (REPAIR-AMI) trial*. Eur J Heart Fail., 2009; 11: 973-999.
- Westman PC, Lipinski MJ, Luger D et al. *Inflammation as a driver of adverse left ventricular remodeling after acute myocardial infarction*. J Am Coll Cardiol, 2016; 67: 2050-2060.
- De Boer OJ, Li X, Teeling P et al. *Neutrophils, neutrophil extracellular traps and interleukin-17 associate with the organisation of thrombi in acute myocardial infarction*. Thromb Haemost, 2013; 109(2): 290-297.
- Kwak HB. *Aging, exercise, and extracellular matrix in the heart*. J Exerc Rehabil, 2013, 9(3): 338-347.
- Linthout SV, Miteva K, Tschöpe C. *Crosstalk between fibroblasts and inflammatory cells*. Cardiovasc Res, 2013; 102(2): 258-269.
- Muhlstedt S, Ghadge SK, Duchene J et al. *Cardiomyocyte-derived CXCL12 is not involved in cardiogenesis but plays a crucial role in myocardial infarction*. J Mol Med, 2016; DOI: 10.1007/s00109-016-1432-1.
- Doring Y, Pawing L, Weber C et al. *The CXCL12/CHCR4 chemokine ligand/receptor axis in cardiovascular disease*. Front Physiol, 2014 ; 5: 212-220.
- Pourafkari L, Visjeveac O, Ghaffari S et al. *Statin*

drugs mitigate cellular inflammatory response after ST elevation myocardial infarction, but do not affect in-hospital mortality. *J Cardiovasc Thorac Res*, 2016; 8(1): 34–39.

9. Abbate A, Kontos MC, Grizzard JD et al. *Interleukin-1 blockade with anakinra to prevent adverse cardiac remodeling after acute myocardial infarction (Virginia*

*Commonwealth University Anakinra Remodeling Trial [VCU-ART] Pilot study*). *Am J Cardiol*, 2010; 105(10): 1371-1377.

10. Carbone F, Crowe LA, Roth A et al. *Treatment with anti-RANKL antibody reduces infarct size and attenuates dysfunction impacting on neutrophil-mediated injury*. *J Mol Cell Cardiol*, 2016; 94: 82-94.