

LA TEORIA INFIAMMATORIA DELL'INFARTO: FATTI E FANTASIE

R. De Caterina, G. Malatesta

Istituto di Cardiologia, Università degli Studi "G. d'Annunzio", Chieti.

Le nostre conoscenze patogenetiche sulla fisiopatologia degli eventi che portano all'infarto del miocardio si sono accumulate gradualmente negli ultimi centocinquant'anni, ma hanno avuto un'importante accelerazione soprattutto negli ultimi venti. L'infarto è stato sempre, sin dalle sue prime descrizioni, associato alla malattia coronarica. Ma è sulle modalità con cui la malattia coronarica – che attraversa lunghissime fasi di quiescenza o stabilità clinica – acquisiti i caratteri di instabilità che portano alle sindromi coronariche acute – l'infarto in primis – che le teorie si sono accavallate e combattute per decenni. Inizialmente si è considerata la patologia coronarica come una malattia da deposito di colesterolo. Oggi ne conosciamo molto meglio gli aspetti cellulari e reattivi, complessivamente chiamati "infiammatori", scatenati da complesse interazioni di fattori di rischio con le cellule della parete arteriosa e le cellule del sangue.

Appare utile, ai fini di una discussione su quanto è "fatto" e quanto è "teoria" delle attuali interpretazioni patogenetiche sull'origine infiammatoria della cardiopatia ischemica sintomatica, ripercorrere brevemente il cammino delle conoscenze che hanno portato all'attuale interpretazione.

Circa 40 anni fa le conoscenze sull'origine e la fisiopatologia dell'aterosclerosi si concentravano sull'ingresso degli esteri del colesterolo nell'intima vascolare e sulle correlazioni di tali accumuli con lo stress emodinamico. Numerosi studi avevano già correlato, infatti, i livelli alti di colesterolo nel sangue con la malattia vascolare aterosclerotica. Altri studi avevano correlato la specifica posizione delle placche aterosclerotiche nei siti di biforcazione dei vasi con lo "shear stress" provocato dalla turbolenza del flusso sanguigno, considerandolo responsabile di aumentata permeabilità endoteliale¹⁻⁴. In questo modo veniva ad esempio spiegato il motivo per cui l'ipertensione arteriosa, importante fattore di rischio cardiovascolare, accelerasse l'aterosclerosi^{5,6}.

Gli esteri del colesterolo erano considerati i maggiori responsabili della sclerosi parietale⁷⁻¹¹. Si ipotizzava il possibile trasporto del colesterolo in forma libera, o tramite le cellule endoteliali, al di sotto dell'intima vascolare, e il deposito all'interno dei fagociti¹².

Cominciava poi gradualmente ad emergere il ruolo specifico del colesterolo LDL come principale iniziatore del processo aterosclerotico, e anche l'idea che diverse forme di lipoproteine veicolanti colesterolo e trigliceridi (derivate dal fine bilancio tra assorbimento intestinale, produzione epatica e metabolismo intravascolare) correlate direttamente o inversamente con le diverse manifestazioni della malattia coronarica, ne fossero responsabili causali¹³⁻¹⁸. Si possono ricordare, a tal proposito, molti studi, portati avanti negli anni '80, riguardo il ruolo dell'ipercolesterolemia familiare, dell'iperapobetalipoproteinemica e dell'ipoalfalipoproteinemia sullo sviluppo dell'aterosclerosi precoce¹⁹⁻²¹. Il "corpus" di conoscenza maturato in quegli anni offriva una ragionevole interpretazione sull'origine e la progressione dell'aterosclerosi in relazione ai fattori di rischio ben apprezzati della cardiopatia ischemica.

Ma è utile ricordare che quegli anni furono anche testimoni di una disputa, oggi dimenticata dai lettori più giovani, su come originasse l'infarto su un substrato di aterosclerosi coronarica. Importanti scuole di pensiero, italiane e americane principalmente, consideravano la stenosi grave delle arterie epicardiche la causa primaria scatenante gli eventi acuti^{22,23}. Era da esse ritenuto che la formazione del trombo fosse secondaria alla stasi ematica successiva all'infarto²⁴, e dunque non una causa primaria. Altri invece ritenevano l'infarto come secondario alla complicazione trombotica dell'aterosclerosi^{25,26}. Molte di queste ricerche si basavano su sezioni anatomico-patologiche delle coronarie ottenute all'autopsia, in cui, retrospettivamente, la durata variabile dell'intervallo tra l'insorgenza dei sintomi e la morte dell'individuo rendeva conto di tutto lo spettro possibile dei reperti e portava alternativamente legna al fuoco dell'una o dell'altra teoria sulla primarietà o meno del trombo. La risoluzione delle controversie arrivò con il ricorso a tecniche di studio in vivo, quali l'angiografia coronarica e le tecniche scintigrafiche con radioligandi del fibrinogeno nei pazienti con sindromi coronariche acute^{27,28}.

Se uno studio deve essere citato e considerato come "spartiacque" tra il periodo della querelle e quello della consolidazione del dato, esso è lo studio di De Wood et al, che mostrò la maggiore incidenza di occlusione trombotica totale o subtotale quanto più precoce era la coronarografia dopo l'inizio dei sintomi di un infarto acuto, e la possibilità di estrarre materiale trombotico dalle coronarie con il catetere di Fogarty: possibilità legata a quanto più precocemente si effettuava l'intervento²⁹. Seguirono altri studi che dimostravano angiograficamente l'occlusione trombotica entro un'ora dalla comparsa delle alterazioni elettrocardiografiche³⁰, occlusione che spesso svaniva successivamente per la lisi spontanea del trombo e il rilassamento della parete coronarica dopo lo spasmo che frequentemente lo accompagna. Davies e collaboratori, in una rassegna del 1985, illustravano il concetto di fissurazione di placca come causa scatenante l'infarto miocardico acuto, la morte cardiaca improvvisa e l'angina instabile, facendo chiarezza sulle controversie sviluppatasi durante gli anni precedenti sull'idea del trombo come causa o conseguenza degli eventi precipitanti³¹. L'implicazione clinico-terapeutica di questi fenomeni era che l'infusione, intracoronarica o sistemica, di trombolitici e l'uso di farmaci anti-

trombotici (eparina, aspirina) erano approcci razionali alla terapia dell'infarto acuto, e di fatto essi dimostrarono in quegli anni di poter ridurre drasticamente la mortalità post-infartuale³²⁻⁴⁵. Si chiudeva pertanto il circolo tra il progredire delle conoscenze teoriche e l'applicazione terapeutica di tali conoscenze.

Il problema principale diveniva a questo punto una comprensione di che cosa portasse alla precipitazione della trombosi coronarica.

La teoria infiammatoria dell'aterosclerosi

Le lesioni aterosclerotiche iniziali si esprimono essenzialmente come strie lipidiche, aree di ispessimento intimale dovuto all'accumulo di cellule "schiumose" (macrofagi ricchi di lipidi), matrice extracellulare e linfociti⁴⁶⁻⁵⁵. Le placche mature, invece, consistono in un'intima ingrandita che contiene un core ricco in lipidi (*atheros*, polpa), circondato da matrice extracellulare. Il core, ricco in lipidi, contiene elevate quantità di fattore tissutale, pro-trombotico, capace di attivare la via estrinseca della coagulazione⁵⁶⁻⁵⁸. La presenza di un cappuccio di collagene e di cellule muscolari lisce intorno al core agisce prevenendo il contatto del sangue con la componente trombogenica⁵⁹. Le cellule muscolari lisce, stimulate dalla presenza di *transforming growth factor- β* (TGF- β), dal fattore di crescita per i fibroblasti di tipo 2 (*fibroblast growth factor-2*, FGF2) e dal *platelet-derived growth factor* (PDGF) prodotti dalle cellule che partecipano al processo infiammatorio aterosclerotico, migrano, infatti, dalla media verso l'intima, secernendo diversi sottotipi di collagene e sostanza extracellulare (collagene di tipo I e II, elastina, proteoglicani, fibronectina), contribuendo alla resistenza del cappuccio fibroso alla rottura e prevenendo la trombosi⁶⁰⁻⁶⁴, e trasformandosi, da cellule puramente contrattili, in cellule secernenti e proliferanti⁶¹. La digestione della matrice avviene invece grazie alla produzione di particolari proteasi denominate metallo-proteinasi (MMP) della matrice, da parte soprattutto dei macrofagi attivati, arrivati nell'intima come trasformazione dei monociti circolanti e per loro replicazione locale.

Molti di questi aspetti cellulari dell'aterosclerosi, quali il passaggio dei monociti dal sangue periferico ai tessuti e l'attivazione macrofagica, sono aspetti generalmente definibili come "infiammatori"^{58,65-67}. L'infiammazione infatti, nella sua accezione più ampia, è definibile come il passaggio di elementi cellulari dal sangue ai tessuti in risposta a una noxa sulla parete vascolare o sui tessuti circostanti⁶⁸. L'infiammazione acuta (con coinvolgimento prevalente dei neutrofili), le risposte immunitarie cellulo-mediate (con prevalente coinvolgimento linfocitario) e l'aterosclerosi (con primario coinvolgimento dei monociti) sono tre forme di reazioni "infiammatorie" tutte aventi alla base fenomeni di passaggio di cellule dal sangue alla periferia. Aspetti infiammatori sono pure la secrezione di matrice e la degradazione collagenolitica della stessa ad opera di enzimi principalmente di origine macrofagica. L'infiammazione sta dunque alla base di tutti gli aspetti patogenetici dell'aterosclerosi, dall'inizio delle lesioni (adesione e transmigrazione dei monociti)^{68,69}, alla loro crescita (accumulo di cellule e matrice)⁷⁰, fino al loro affioramento clinico (fissurazione di placca)⁷¹. Molti aspetti molecolari dell'infiammazione vascolare presente nell'aterosclerosi sono pure comuni all'infiammazione acuta e ai fenomeni immunitari. Tutti questi hanno infatti alla base una situazione di

disfunzione endoteliale (“attivazione endoteliale”) con l’espressione di un fenotipo adesivo dell’endotelio nei confronti dei leucociti (vari sottotipi leucocitari) del sangue periferico ⁶⁸. Anche la stessa localizzazione dell’aterosclerosi in siti particolari dell’albero vascolare è spiegabile con questi fenomeni. Infatti, l’insorgenza preferenziale dell’aterosclerosi nei punti di diramazione dell’albero arterioso, dove gli “shear stress” sono bassi od oscillanti e producono fluttuazioni temporali della frizione tangenziale esercitata sulle cellule endoteliali ⁷²⁻⁷⁴, è spiegabile attraverso l’attivazione di specifici recettori responsivi a tali forze (*shear stress response sensors*) e i successivi eventi nucleari coinvolti: *shear stress response elements* (SSRE), che producono un rimodellamento citoscheletrico delle cellule endoteliali, l’espressione in superficie di molecole di adesione leucocitaria (*intercellular adhesion molecule* (ICAM)-1, *vascular cell adhesion molecule* (VCAM)-1, etc.) e una riduzione della produzione endoteliale di nitrossido (NO), che per contro, aumenta quando lo stress è di tipo laminare ⁷⁵⁻⁷⁷.

La specificità dell’aterosclerosi rispetto ad altre forme d’inflammatione è essenzialmente orchestrata a livello endoteliale, dove all’inizio l’espressione selettiva di molecole di adesione per i monociti fa sì che queste cellule - e non neutrofilo o linfociti - aderiscano preferenzialmente all’endotelio arterioso, contrariamente a quanto avviene in altri casi d’inflammatione. L’immunoglobulina VCAM-1 è in questo contesto parecchio rilevante in quanto, attraverso l’interazione con l’integrina *very late activation antigen-4* (VLA4), espressa dai monociti e da alcune classi linfocitarie ⁷⁸⁻⁸⁴, essa determina il reclutamento selettivo di tali tipi particolari di leucociti. L’espressione di VCAM-1 dall’endotelio è favorita, oltre che da alterazioni del normale *shear stress* laminare, anche da quasi tutti i fattori di rischio cardiovascolare. Stimoli alla sua espressione sono, ad esempio, le *low density lipoproteins* (LDL) modificate od ossidate, i prodotti di glicazione avanzata che si ritrovano abbondanti nei soggetti diabetici o uremici, citochine infiammatorie primarie quali interleuchina (IL-1) e *tumor necrosis factor* (TNF)- α , e il lipopolisaccaride batterico (LPS) ⁸⁵⁻⁸⁸. Queste sostanze sono ritenute, quindi, i mediatori solubili della malattia infiammatoria aterosclerotica, che congiurano con i meccanismi biomeccanici sopra menzionati nel determinare l’estensione e la localizzazione dell’aterosclerosi.

A conferma della relazione dei fenomeni alla base dell’aterosclerosi con malattie classicamente ritenute “infiammatorie” va anche rilevata l’associazione tra aterosclerosi e tali malattie. L’artrite reumatoide, per esempio, è associata ad un’elevata incidenza di cardiopatia ischemica. Entrambe le patologie mostrano somiglianze nell’attivazione dei linfociti T, nell’attivazione delle mast-cellule, nella produzione di TNF- α , IL-6 e molecole di adesione. La produzione di queste ed altre citochine dal tessuto sinoviale dei soggetti affetti da artrite reumatoide, riproduce gli effetti pro-aterogeni che si manifestano nei soggetti con malattia aterosclerotica, come ad esempio la resistenza insulinica, la dislipidemia, l’attivazione endoteliale e gli effetti protrombotici ed antifibrinolitici. I pazienti con artrite reumatoide hanno elevati livelli di proteina C-reattiva (*C-reactive protein*, CRP), marcatore infiammatorio associato ad aumentato rischio cardiovascolare ⁸⁹.

L’endotelio si difende dall’attivazione pro-aterogena mediante la produzione di fattori controregolatori, come la prostaciclina (PGI₂), NO, polisaccaridi complessi simil-eparinici in grado di attivare l’antitrombina, l’attivatore

del plasminogeno di tipo 1 (PAI-1), la proteina S, la trombomodulina e la secrezione di interleuchine ad attività antiproliferativa ed antinfiammatoria. Nei soggetti con fattori di rischio multipli per lo sviluppo dell'aterosclerosi, si assiste in contemporanea anche ad una riduzione della produzione endoteliale di tali fattori atero- e trombo-protettivi.

L'alterazione del normale equilibrio omeostatico tra fattori endoteliali atero-protettivi e fattori atero-favorenti è generalmente spiegata dall'attivazione, sotto la pressione di fattori di rischio per la malattia vascolare, di un fattore pro-infiammatorio comune, che a sua volta orchestra l'apparizione "pleiotropica" del fenotipo endoteliale pro-aterogeno.

L'attivazione del nuclear factor- κ B: un comune denominatore nella malattia vascolare

Esistono due caratteristiche importanti dei meccanismi cellulari e molecolari di tipo infiammatorio che accompagnano l'attivazione endoteliale alla base dell'aterosclerosi e della sua instabilizzazione, denominate "ridondanza" e "pleiotropismo". Il primo termine si riferisce al fatto che lo stesso fenotipo di attivazione endoteliale può essere indotto da stimoli infiammatori diversi, che trasducono in pratica tutti i noti fattori di rischio della malattia vascolare. Tali sono, per citarne alcuni, le LDL modificate/ossidate (meccanismo d'azione molecolare delle ipercolesterolemie); gli "advanced glycation endproducts" (AGEs), i livelli elevati di glucosio e l'insulina, tutti probabilmente coinvolti nel meccanismo d'azione molecolare del diabete; le varie citochine infiammatorie (IL-1, IL-6, TNF- α , ...), mediatori generali dell'infiammazione; l'iperomocisteinemia (associata in maniera concentrazione-dipendente al rischio di malattia vascolare); l'angiotensina-II, implicata in tutto il continuum della malattia vascolare e dell'insufficienza cardiaca, anche indipendentemente dall'ipertensione. Data la molteplicità delle vie di attivazione (la mancanza di uno stimolo può essere vicariata da una sovra-attivazione di un'altra: "ridondanza" del sistema), è difficile immaginare che il limitare l'azione di un singolo fattore di rischio possa "eliminare" il problema della malattia vascolare, ma è parimenti logico ipotizzare che possa servire a limitarlo. Di fatto, questo approccio "intuitivo" alla scelta dei bersagli terapeutici nella malattia vascolare ha dato dei risultati apprezzabili, come verrà in seguito discusso.

L'altra importante caratteristica del sistema è quella della "pleiotropia": una volta attivato, il sistema risponde con un repertorio fenotipico multiforme, caratterizzato dall'attivazione più o meno contemporanea di geni multipli e con diverse capacità effettrici: si pensi all'attivazione delle molecole di adesione leucocitarie; all'attivazione della cicloossigenasi-2 (COX-2); all'attivazione secondaria di citochine infiammatorie (IL-1, TNF- α , IL-6), di chemochine chemoattrattanti (*monocyte chemoattractant protein-1*, MCP-1), IL-8, fattori di crescita (*macrophage colony-stimulating factor*, M-CSF), fattore tissutale (*tissue factor*, TF), tutto come potenziale conseguenza anche dell'attivazione da parte di un singolo fattore scatenante primario. Il che spiega la difficoltà ad arginare il fenomeno, una volta innescato, andando a limitare l'azione di questo o quel singolo mediatore (vedi oltre). Queste caratteristiche sono tutte spiegate dall'esistenza di un unico "motore intracellulare" dell'infiammazione (o un numero molto limitato di essi), su cui convergono i vari stimoli

infiammatori, e da cui si irradiano secondariamente i vari meccanismi effettori. Tali caratteristiche sono possedute dal sistema di fattori di trascrizione conosciuto come *nuclear factor-κB* (NF-κB) (con l'eventuale contributo di fattori accessori, quali AP-1, GATA, egr-1), che fungerebbero da minimi denominatori comuni dell'infiammazione vascolare (Fig. 1) ⁹⁰.

Il fatto che l'attivazione di NF-κB sia stata dimostrata nelle lesioni aterosclerotiche, ma non nei vasi sani ⁹¹, e che il comune suo attivatore finale sembra essere l'induzione di stress ossidativo, nella fattispecie prodotti reattivi dell'ossigeno e specialmente H₂O₂, suggerisce che questo fattore gioca un ruolo

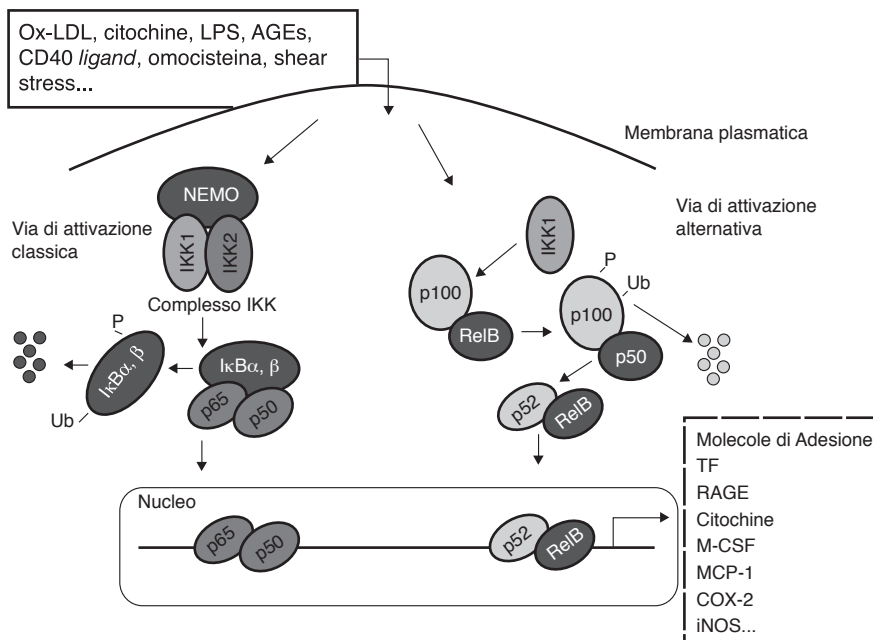


Fig. 1. Via classica e alternativa di attivazione del fattore di trascrizione nuclear factor (NF)-κB. Il sistema NF-κB comprende una serie di molecole eterodimeriche (i monomeri comprendono Rel-A/p65, p50, p52, Rel-B, c-Rel) normalmente sequestrate nel citoplasma e legate a un inibitore (I-κB). Sotto l'influenza di stimoli di attivazione primari (riquadro in alto a sinistra), tra cui le citochine infiammatorie, le LDL modificate, etc., la generazione di specie attivate dell'ossigeno (prevalentemente H₂O₂) porta al legame di I-κB con l'ubiquitina, e alla degradazione proteolitica di I-κB. Gli eterodimeri, liberati dall'inibitore, possono migrare nel nucleo, dove legano specifiche sequenze di riconoscimento (consensus) nella regione del promotore di una varietà di geni dell'attivazione endoteliale, con il risultato finale di un aumento della trascrizione dei geni rispettivi (riquadro in basso a destra). La parziale sovrapposizione delle proprietà degli stimoli primari ("ridondanza", ad esempio la quasi identità nell'attivazione endoteliale indotta da IL-1 e TNF), risulta in un'attivazione simile da stimoli diversi. Il fatto che geni multipli, ad esempio E-selectina, VCAM-1, e ICAM-1, si animano anche quando una singola citochina attiva il sistema, epitomizza la "pleiotropia" del sistema stesso, un'altra proprietà delle citochine infiammatorie. Riprodotto, con modifiche, da: De Caterina R, Zampolli A, Lazzarini G, Libby P. Endothelial activation and the initiation of atherosclerosis. In: De Caterina R, Libby P, eds. Endothelial Dysfunctions in Vascular Disease. New York: Blackwell-Futura; 2007, p. 26-35.

lo essenziale nell'attivazione endoteliale e nell'aterogenesi. La delezione del gene che codifica le componenti del NF- κ B è letale per l'embrione: per questo una terapia che abroghi l'attività di questo importante responsabile della reattività cellulare all'ambiente non appare essere plausibile. È tuttavia plausibile la possibilità di limitarne l'attivazione, il che costituisce tuttora un bersaglio innovativo attraente finalizzato alla prevenzione della malattia vascolare.

I frutti di questa conoscenza: (a) nuovi biomarcatori

Queste nuove conoscenze sul ruolo centrale dell'infiammazione nell'aterogenesi hanno in effetti partorito tutta una serie di potenziali biomarcatori plasmatici, diversi da quelli comunemente utilizzati (basati ad esempio sul profilo lipidico), che risultano tra loro embricati nei meccanismi patogenetici della malattia vascolare. I biomarcatori infiammatori di cui si potrebbe teoricamente fare uso sono quelli citati durante la disamina della patogenesi dell'aterosclerosi: VCAM-1, TNF- α , IL-1, IL-18, MMPs, CD40L, adiponectina, PAI-1, fibrinogeno, e moltissimi altri ⁶⁷. Il biomarcatore ideale dovrebbe essere facilmente valutabile, avere minime variazioni della concentrazione plasmatica nelle 24 ore, non risentire di influenze da parte di alimenti presenti nella dieta e avere una lunga emivita. La CRP si adatta bene a questa descrizione: essa è facilmente misurabile attraverso dosaggi standardizzati ad elevata sensibilità (concentrazioni misurate <1 mg/l), con risultati simili sia utilizzando sangue a temperatura ambiente che congelato. Questo sottolinea l'elevata stabilità della proteina, che risulta attualmente la più maneggevole e suscettibile di studi retrospettivi ⁹². Per converso, il PAI-1 ha un'emivita di circa 6 ore e, come pure il fibrinogeno, presenta importanti variazioni circadiane.

La CRP è risultata predittiva di eventi cardiovascolari (infarto miocardico, ictus ischemico e morte cardiaca improvvisa), in aggiunta alle misurazioni dei livelli del colesterolo LDL ⁹³. Per questo è stata proposta la sua aggiunta alla lista dei classici fattori di rischio cardiovascolare nelle carte del rischio basate sullo studio di Framingham ⁹⁴. I soggetti con concentrazioni inferiori a 1 mg/l vengono considerati a basso rischio, mentre quelli con concentrazioni superiori a 3 mg/l sono a rischio elevato (il rischio di cardiopatia ischemica e di ictus sono aumentati rispettivamente di un fattore di 1.3 e 1.6) ⁹⁵.

Diversi Autori hanno sostenuto l'ipotesi che questa proteina ricopra anche un ruolo causale nell'insorgenza dell'aterosclerosi. La CRP viene prodotta non solo dal fegato, ma è secreta anche dalle cellule muscolari lisce e dalle cellule endoteliali coronariche ^{96,97}. Si è ipotizzato quindi, un suo ruolo locale come mediatore infiammatorio. È stato ipotizzato che la CRP possa svolgere un ruolo diretto nel danno endoteliale, favorendo la captazione macrofagica delle LDL ossidate, la disregolazione della fibrinolisi e l'espressione e l'attività del PAI-1 ⁹⁸⁻¹⁰⁰. Studi in vitro hanno dimostrato che la CRP aumenta l'espressione del TF e delle molecole di adesione endoteliale, e aumenta la produzione di endotelina (ET)-1, IL-6 e di MCP-1 ¹⁰¹. Se la CRP fosse un fattore causale nella patogenesi dell'aterosclerosi, potrebbe essere un nuovo bersaglio per la prevenzione dell'infarto miocardico e dell'ictus. Uno studio del tutto recente sembra però confinare il valore di questa proteina al ruolo di biomarcatore e non di mediatore. Lo studio ha mostrato che le combinazioni genotipiche di quattro polimorfismi della CRP sono associate ad un aumento delle sue con-

centrazioni plasmatiche del 64%, che comporterebbe, in un'ipotesi di causalità, un aumento stimato del rischio di cardiopatia ischemica del 32% e di ictus ischemico del 25%. Lo studio non ha mostrato invece alcuna associazione tra le varianti geniche della CRP, livelli plasmatici (correlati al genotipo) e rischio cardiovascolare, suggerendo fortemente che la CRP non è casualmente implicata nell'evoluzione patogenetica della malattia aterosclerotica ⁹⁵.

Altro interessante biomarcatore "infiammatorio" è la molecola simil-citochinica CD40 ligando (CD40L). Nella sindrome metabolica e soprattutto nel diabete, condizioni che favoriscono la comparsa dell'aterosclerosi, i livelli plasmatici di CD40L solubile risultano aumentati ¹⁰². Un'evidente associazione esiste tra la concentrazione plasmatica di CD40L e la presenza dell'ateroma e delle stenosi vascolari (soprattutto carotidee) ¹⁰³. Elevati livelli sierici si ritrovano anche nei pazienti che successivamente sviluppano infarto miocardico, ictus o morte da causa cardiovascolare ¹⁰⁴. Per questo l'elevazione del CD40L solubile identifica un gruppo di pazienti ad alto rischio di eventi cardiovascolari, che beneficerebbero quindi di una terapia aggressiva.

Anche l'adiponectina è stata proposta come marcatore (inverso) di rischio cardiovascolare in considerazione dei bassi valori plasmatici riscontrati in soggetti con diabete, ipertensione arteriosa e dislipidemia ¹⁰⁵. Basse concentrazioni, infatti, riscontrate soprattutto negli uomini che maggiormente presentano sindrome metabolica, sono associate ad un maggiore rischio di comparsa di resistenza insulinica e di malattia coronarica ¹⁰⁶. Alcuni studi dimostrano, inoltre, una correlazione delle concentrazioni sieriche con il grado di estensione delle lesioni coronariche, determinate angiograficamente, in soggetti maschi con malattia aterosclerotica ^{107,108}. Non mancano tuttavia dati contraddittori al riguardo ^{109,110}.

Anche l'IL-18 potrebbe aggiungere ulteriori informazioni prognostiche ai comuni fattori di rischio comunemente utilizzati nella valutazione della malattia coronarica. Questa interleuchina, infatti, viene prodotta dagli adipociti e, nei soggetti obesi, è correlata a un aumento del rischio di diabete tipo 2 di 3 volte ¹¹¹. Si è dimostrata inoltre un'associazione indipendente tra i valori sierici basali ed eventi coronarici futuri.

Anche le metallo-proteinasi vengono attualmente considerate possibili biomarcatori di malattia coronarica e cardiovascolare. La ridotta distensibilità delle pareti dell'aorta, che conduce all'insorgenza di ipertensione arteriosa sistolica, infatti, sembra testimoniare un ruolo patologico delle metallo-proteinasi ¹¹², che risultano aumentate nei pazienti con angina stabile e, ancor più, nelle sindromi coronariche acute ¹¹³. Queste proteine potrebbero essere dei biomarcatori, oltre che di rischio cardiovascolare in genere, del rischio di rottura di placca. Apparterrebbe a questa classe anche il TF, la cui liberazione in circolo marcherebbe la presenza di un "sangue a rischio" per la produzione di un evento trombotico ¹¹⁴⁻¹¹⁷.

I frutti di questa conoscenza: (b) nuovi approcci terapeutici

Un'ipotesi rimane tale, per quanto attraente, finché non si dimostri appieno il suo ruolo causale. La dimostrazione del nesso di causalità richiede, tuttavia, terapie adeguate. Noi abbiamo a disposizione diversissime terapie che hanno un impatto sull'infiammazione vascolare, ma solo alcune di esse sono praticabili su larga scala in strategie di prevenzione.

Queste possono essere classificate in tre gruppi principali:

- 1- terapie che agiscono sui fattori scatenanti aterogeni primari;
- 2- terapie che agiscono sugli effettori finali;
- 3- terapie che agiscono sulla via centrale comune dell'infiammazione vascolare.

1- Terapie che agiscono sui fattori scatenanti aterogeni primari

Per combattere il problema dell'infiammazione legata all'aterosclerosi, un primo approccio logico, quello peraltro seguito oramai da decenni, è di limitare i fattori di rischio classici della malattia vascolare, con interventi sulla dieta, l'attività fisica, la cessazione del fumo. L'alterazione degli stili di vita è purtroppo una fonte costante di frustrazione. L'ultimo EuroAspire, che ha fotografato le pratiche di prevenzione secondaria in 8 Paesi europei (nel 2005) confrontandole con quelle praticate in due diverse precedenti occasioni negli stessi Paesi nel 1996 e nel 2000 ¹¹⁸, ha dimostrato quanto lontani siamo dal raggiungere gli obiettivi dichiarati. Siamo molto più bravi a prescrivere un farmaco (soprattutto anti-ipertensivi e statine) che a far smettere di fumare, limitare l'apporto calorico o adottare stili di vita noti per essere "cardioprotettivi". Siamo stati per converso discretamente bravi a recepire e ad implementare su larga scala strategie di controllo dell'ipercolesterolemia basate sull'uso delle statine, una classe di farmaci particolarmente efficace nel ridurre gli eventi cardiovascolari, anche in soggetti con concentrazioni "medie" di colesterolo LDL. Molti studi, in categorie ampie di individui, hanno mostrato che le statine riducono gli eventi cardiovascolari tra il 25 e il 38% ¹¹⁹⁻¹²¹. Questi trattamenti riducono il volume delle placche aterosclerotiche, nel migliore dei casi, di una frazione molto minore (di pochi punti percentuali ¹²²). L'evidente dissociazione tra l'entità delle stenosi coronariche e il rischio cardiovascolare reitera l'argomento che è lo stato funzionale della placca, piuttosto che il grado di riduzione del lume, a determinare la probabilità di una sindrome coronarica acuta. Pur non riducendo apprezzabilmente il volume della placca, come fanno le statine a funzionare? L'evidenza straripante che lega l'infiammazione a tutte le fasi dell'aterosclerosi suggerisce che tali trattamenti possano essere essi stessi "anti-infiammatori". Approcci sperimentali supportano queste affermazioni: nel coniglio in cui le placche sono state indotte da una dieta aterogena, l'instaurare una dieta a basso tenore di colesterolo può "spegnere" l'infiammazione e stabilizzare la placca, rinforzando il cappuccio fibroso, ma anche riducendo la trombogenicità del core lipidico, con una marcata riduzione del fattore tissutale ^{123,124}. Se l'entità della stenosi, il marcatore tradizionale di malattia cardiovascolare, non è considerata più decisiva nel condizionare il rischio cardiovascolare globale del paziente, rimane la domanda su che cosa la sostituisca meglio per monitorare la vulnerabilità di un paziente a un evento cardiovascolare. Molti marcatori pro-infiammatori si associano al rischio cardiovascolare, tra cui IL-6, TNF, e – in maniera predominante – la CRP ^{125,128}. Se una terapia di riduzione del colesterolo è anti-infiammatoria, essa dovrebbe ridurre la CRP. Questo è esattamente quanto succede: le concentrazioni di CRP diminuiscono del 15-50% con una terapia con statine ^{92,129-136}. Questo è un effetto di classe posseduto dall'intera famiglia delle statine.

Se una ridotta CRP misura veramente la probabilità di una complicazione cardiovascolare, il rischio di eventi cardiovascolari dovrebbe andare di pari passo con tale riduzione. Un recente lavoro ha riportato esattamente questo: in

pazienti con una sindrome coronarica acuta che ricevevano una terapia con statine, soggetti con una concentrazione di CRP <2 mg/l mostravano un ridotto rischio di recidiva d'infarto o di morte per cause cardiovascolari rispetto a soggetti con concentrazioni maggiori (2.8 rispetto a 3.9 eventi per 100 persone-anno; $P < 0.006$)⁹³. Questo beneficio appare in discreta misura indipendente dalla riduzione del colesterolo. Pertanto, il beneficio clinico delle statine sembra correlato con gli effetti antiinfiammatori. In ogni caso, tuttavia, la riduzione dei livelli di colesterolo LDL è essa stessa una terapia antiinfiammatoria, e quest'attività appare centrale all'effetto benefico della terapia con statine.

È possibile invocare un ragionamento simile per i farmaci inibitori di un altro leit-motif comune della malattia vascolare, il sistema renina-angiotensina, importante induttore e co-induttore dell'attivazione endoteliale. ACE-inibitori e sartani sono comunemente considerati utili lungo tutto lo spettro della malattia cardiovascolare, dalla prevenzione primaria fino all'insufficienza cardiaca conclamata^{137,138}.

2- Terapie che agiscono sugli effettori finali

Le classiche terapie "antiinfiammatorie" sono da taluni considerate gli ingredienti essenziali di un cocktail terapeutico destinato a dimostrare la causalità del ruolo infiammatorio nell'aterosclerosi. Tuttavia molte classiche terapie antiinfiammatorie hanno controindicazioni nei pazienti con malattia vascolare. I glucocorticoidi, ad esempio, sono stati sperimentati negli anni '70 nella fase acuta dell'infarto miocardico, ma il loro sviluppo con questa indicazione è stato precocemente interrotto per un'incidenza aumentata di rotture di cuore. I farmaci anti-infiammatori non-steroidi tradizionali (come i più recenti coxib) hanno controindicazione teorica nel fatto che essi limitano, inibendo la ciclo ossigenasi-2 (COX-2), la produzione vascolare di prostaciclina, e competono con gli effetti antitrombotici dell'aspirina. Farmaci anti-citochine, che vanno a colpire selettivamente uno dei tanti effettori finali dell'infiammazione, sono stati oggetto di segnalazioni occasionali. Una terapia con etanercept, derivato da un anticorpo monoclonale anti-TNF- α , è stata sperimentata nell'insufficienza cardiaca nell'ambito di uno studio di fase 3, il RENEWAL, senza risultati apprezzabili anche limitatamente ad endpoint puramente ischemici¹³⁹. Lo studio MRC-ILA-HEART prevede di studiare 186 pazienti con un infarto senza ST sopraslivellato nel Regno Unito utilizzando il farmaco Anakinra, un antagonista recettoriale dell'IL-1 (IL-1Ra), somministrato per iniezione sottocutanea giornaliera per un periodo di 14 giorni. Lo studio valuterà gli effetti di sicurezza e di efficacia sui livelli circolanti di CRP, ed è possibile preludio a un reale studio di efficacia di fase 3¹⁴⁰.

Approcci simili sono l'interferenza ipotizzata con la produzione o l'azione recettoriale dei leucotrieni, con azione per blocco della 5-lipossigenasi e dei recettori per i leucotrieni.

Per quanto concettualmente interessanti, tali approcci risentono del problema teorico di interferire soltanto con alcuni dei molteplici mediatori dell'infiammazione potenzialmente coinvolti.

3. Terapie che agiscono sulla via centrale comune dell'infiammazione vascolare

La soppressione totale dell'attività di NF- κ B, quando tentata a livello animale, interferisce con l'embriogenesi e con la reattività immunitaria, e non appare pertanto una strada praticabile. Al contrario sono state studiate, prima a livello di laboratorio, e poi a livello animale, diverse sostanze, genericamente definibili come "anti-ossidanti", che hanno la capacità d'interferire, a livello intracellulare, con la generazione di alcune specie reattive dell'ossigeno, a loro volta attivatori di NF- κ B. Una di tali sostanze, il succinobucolo, è stato portato fino ad uno sviluppo di fase 3 nell'ambito dello studio ARISE, nelle sindromi coronariche acute senza ST sopraslivellato, con risultati in verità deludenti ¹⁴¹. Va detto comunque che l'entità d'inibizione del fattore di trascrizione con la somministrazione in vivo di tale farmaco non era ben documentata come in vitro.

Scelte cliniche

Il miglior approccio per il trattamento della malattia coronarica è controverso, e talora viene rappresentato come un antagonismo tra l'angioplastica e l'uso degli stent contro la chirurgia con bypass aorto-coronarico. Tuttavia, paragonare questi interventi "terminali" come scelte alternative per un trattamento di routine è una colossale ammissione di fallimento. In verità, sebbene gli interventi di rivascularizzazione possano alleviare l'angina, sono scarsamente efficaci nel prevenire l'infarto o nel prolungare la vita ¹⁴². Dobbiamo trovare nuovi approcci per combattere questa malattia. Per molti anni i cardiologi hanno focalizzato la loro attenzione sulle stenosi. Le lesioni stenotizzanti sono un facile bersaglio, perché i pazienti hanno sintomi, e perché le misure di perfusione o l'acquisizione di immagini di un'arteria ostruita sono relativamente facili da ottenere. Tuttavia, la lesione che si accompagna più frequentemente all'infarto è una lesione non stenotizzante. Lesioni non stenotizzanti sono occultate all'interno della parete vascolare senza causare alterazioni del lume. Clinicamente, spesso dobbiamo ricorrere alla rivascularizzazione per ripristinare una riserva miocardica di flusso. Dobbiamo tuttavia accoppiare tali terapie con interventi sistemici, che comprendono le alterazioni degli stili di vita e appropriati farmaci. Probabilmente è ancora più importante prevenire le complicanze cardiovascolari in individui senza segni o sintomi di alterata riserva di flusso. La comunità medica dovrebbe identificare individui assolutamente sani che sono però a rischio aumentato di un primo, spesso disastroso, evento vascolare, e introdurre approcci efficaci di prevenzione. Ridurre l'infiammazione vascolare è una via efficace per prevenire le complicanze cardiovascolari, ed è oggi possibile, con approcci multipli e complementari.

Conclusioni: non più solo fantasie

L'infiammazione svolge un ruolo centrale nella malattia cardiovascolare. Essa comincia spesso con alterazioni infiammatorie nell'endotelio, che comincia ad esprimere la molecola di adesione VCAM-1. VCAM-1 attrae i monociti, che migrano attraverso lo strato endoteliale sotto l'influenza di vari che-

moattrattanti pro-infiammatori. Una volta all'interno dell'intima, i monociti continuano a subire alterazioni infiammatorie, si trasformano in macrofagi, incorporano lipidi e diventano cellule schiumose. Anche i linfociti T migrano nell'intima, dove liberano citochine pro-infiammatorie che amplificano l'attività infiammatoria. Attraverso questi processi infiammatori si forma la lesione aterosclerotica iniziale, la stria lipidica.

Inoltre l'infiammazione è centrale nella progressione da stria lipidica a placca complessa. Con l'evoluzione della placca, le cellule T attivano i macrofagi o attraverso segnali solubili o attraverso il contatto tramite CD40, per secernere una serie di molecole comprendenti citochine e metalloproteinasi della matrice, che indeboliscono il collagene del cappuccio fibroso, che normalmente protegge la placca. Come risultato, il cappuccio fibroso diventa sottile e fragile, e può andare incontro a rottura, consentendo così la formazione di un trombo, che può portare a un infarto o ad altre complicazioni.

Questa sequenza di eventi differisce radicalmente dalla vecchia prospettiva della malattia cardiovascolare come un problema di accumulo di lipidi. Oggi sappiamo che le stenosi critiche non causano la maggior parte degli infarti. Il nostro approfondimento diagnostico e il nostro trattamento della malattia vascolare deve evolvere come conseguenza della nostra comprensione dei meccanismi fisiopatologici. Marcatori infiammatori come la CRP meritano attenta considerazione per l'inclusione nei nostri algoritmi di valutazione del rischio. Le modifiche degli stili di vita e le terapie mediche comprovate – le più efficaci delle quali di fatto limitano l'infiammazione vascolare, anche se con meccanismi non del tutto specifici – devono associarsi agli interventi di rivascolarizzazione, tutti inevitabilmente tardivi.

BIBLIOGRAFIA

- 1) *Fry DL*. Acute vascular endothelial changes associated with increased blood velocity gradients. *Circ Res* 1968; 22:165-197
- 2) *Fry DL*. Certain histological and chemical responses of the vascular interface to acutely induced mechanical stress in the aorta of the dog. *Circ Res* 1969; 24:93-108
- 3) *Wright HP*. Areas of mitosis in aortic endothelium of guinea-pigs. *J Pathol* 1971; 105:65-67
- 4) *Wright HP*. Mitosis patterns in aortic endothelium. *Atherosclerosis* 1972; 15:93-100
- 5) *Heptinstall RH, Barkley H, Porter KA*. The relative roles of blood cholesterol level and blood pressure level in the production of experimental aortic atheroma in rabbits. *Angiology* 1958; 9:84-87
- 6) *Dawber TR, Kannel WB, Revotskie N, Kagan A*. The epidemiology of coronary heart disease-the Framingham enquiry. *Proc R Soc Med* 1962; 55:265-27
- 7) *Abdulla YH, Adams CW, Morgan RS*. Connective-tissue reactions to implantation of purified sterol, sterol esters, phosphoglycerides, glycerides and free fatty acids. *J Pathol Bacteriol* 1967; 94:63-71
- 8) *Adams CW*. Atheroma lipids. *J Atheroscler Res* 1967; 7:117-119
- 9) *Adams CW, Morgan RS*. The effect of saturated and polyunsaturated lecithins on the resorption of 4-14-C-cholesterol from subcutaneous implants. *J Pathol Bacteriol* 1967; 94:73-76

- 10) *Adams CW*. Lipids, lipoproteins and atherosclerotic lesions. *Proc R Soc Med* 1971; 64:902-905
- 11) *Adams CW*. The pathogenesis of atherosclerosis. *J Clin Pathol Suppl (Assoc Clin Pathol)* 1973; 5:38-42
- 12) *Adams CW, Abdulla YH, Bayliss OB*. Entry of esterified cholesterol into foam cells. *Atherosclerosis* 1971; 13:111-119
- 13) *Rudel LL, Parks JS, Johnson FL, Babiak J*. Low density lipoproteins in atherosclerosis. *J Lipid Res* 1986; 27:465-474
- 14) *Musliner TA, Giotas C, Krauss RM*. Presence of multiple subpopulations of lipoproteins of intermediate density in normal subjects. *Arteriosclerosis* 1986; 6:79-87
- 15) *Goldstein JL, Brown MS*. The low-density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 1977; 46:897-930
- 16) *Gofman JW, Lindgren F*. The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. *Science* 1950; 111:166-171
- 17) *Gofman JW, Jones HB, Lindgren FT, Lyon TP, Elliott HA, Strisower B*. Blood lipids and human atherosclerosis. *Circulation* 1950; 2:161-178
- 18) *Gofman JW*. Blood lipoproteins and atherosclerosis. *J Clin Invest* 1950; 29:815-816
- 19) *Kwiterovich PO Jr., Levy RI, Fredrickson DS*. Neonatal diagnosis of familial type-II hyperlipoproteinaemia. *Lancet* 1973; 1:118-121
- 20) *Kwiterovich PO, Jr.* Neonatal screening for hyperlipidemia. *Pediatrics* 1974; 53:455-457
- 21) *Kwiterovich PO, Jr., Fredrickson DS, Levy RI*. Familial hypercholesterolemia (one form of familial type II hyperlipoproteinemia). A study of its biochemical, genetic and clinical presentation in childhood. *J Clin Invest* 1974; 53:1237-49
- 22) *Baroldi G*. Acute coronary occlusion as a cause of myocardial infarct and sudden coronary heart death. *Am J Cardiol* 1965; 16:859-880
- 23) *Roberts WC, Buja LM*. The frequency and significance of coronary arterial thrombi and other observations in fatal acute myocardial infarction: a study of 107 necropsy patients. *Am J Med* 1972; 52:425-443
- 24) *Roberts W*. Editorial: Coronary thrombosis and fatal myocardial ischemia. *Circulation* 1974; 49:1-3
- 25) *Chapman I*. Editorial: The cause-effect relationship between recent coronary artery occlusion and acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1974; 87:267-271
- 26) *Davies MJ, Woolf N, Robertson WB*. Pathology of acute myocardial infarction with particular reference to occlusive coronary thrombi. *Br Heart J* 1976; 38:659-664
- 27) *Erhardt LR, Lundman T, Mellstedt H*. Incorporation of ¹²⁵I-labelled fibrinogen into coronary arterial thrombi in acute myocardial infarction in man. *Lancet* 1973; 1:387-390
- 28) *Erhardt LR, Unge G, Boman G*. Formation of coronary arterial thrombi in relation to onset of necrosis in acute myocardial infarction in man. A clinical and autoradiographic study. *Am Heart J* 1976; 91:592-598
- 29) *DeWood MA, Spores J, Notske R, Mouser LT, Burroughs R, Golden MS, Lang HT*. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *N Engl J Med* 1980; 303:897-902
- 30) *Brooks N*. Intracoronary thrombolysis in acute myocardial infarction. *Br Heart J* 1983; 50:397-400
- 31) *Davies MJ, Thomas AC*. Plaque fissuring-the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina. *Br Heart J* 1985; 53:363-373
- 32) *Ganz W, Geft I, Shah PK, Lew AS, Rodriguez L, Weiss T, Maddahi J, Berman DS, Charuzi Y, Swan HJ*. Intravenous streptokinase in evolving acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1984; 53:1209-16
- 33) *Lewis HD, Jr., Davis JW, Archibald DG, Steinke WE, Smitherman TC, Doherty*

- JE, 3rd, Schnaper HW, LeWinter MM, Linares E, Pouget JM, Sabharwal SC, Chesler E, DeMots H.* Protective effects of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina. Results of a Veterans Administration Cooperative Study. *N Engl J Med* 1983; 309:396-403
- 34) *Serruys PW, Wijns W, van den Brand M, Ribeiro V, Fioretti P, Simoons ML, Kooijman CJ, Reiber JH, Hugenholtz PG.* Is transluminal coronary angioplasty mandatory after successful thrombolysis? Quantitative coronary angiographic study. *Br Heart J* 1983; 50:257-265
- 35) *Spann JF, Sherry S, Carabello BA, Mann RH, McCann WD, Gault JH, Gentzler RD, Rosenberg KM, Maurer AH, Denenberg BS, Warner HF, Rubin RN, Malmud LS, Comerota A.* High-dose, brief intravenous streptokinase early in acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1982; 104:939-945
- 36) *Terrosu P, Ibba GV, Contini GM, Franceschino V.* Angiographic features of the coronary arteries during intracoronary thrombolysis. *Br Heart J* 1984; 52:154-163
- 37) *Timmis GC, Gangadharan V, Hauser AM, Ramos RG, Westveer DC, Gordon S.* Intracoronary streptokinase in clinical practice. *Am Heart J* 1982; 104:925-938
- 38) *Weinstein J.* Treatment of myocardial infarction with intracoronary streptokinase: efficacy and safety data from 209 United States cases in the Hoechst-Roussel registry. *Am Heart J* 1982; 104:894-898
- 39) *Baigent C, Collins R, Appleby P, Parish S, Sleight P, Peto R.* ISIS-2: 10 year survival among patients with suspected acute myocardial infarction in randomised comparison of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither. The ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *Bmj* 1998; 316:1337-43
- 40) Randomized trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *J Am Coll Cardiol* 1988; 12:3A-13A
- 41) Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *Lancet* 1988; 2:349-360
- 42) *Boissel JP.* [The ISIS-2 study (International Study of Infarction Survival)]. *Rev Prat* 1988; 38:1285-88
- 43) *Fresco C, Franzosi MG, Maggioni AP, Tognoni G.* The GISSI-2 trial: premises, results, epidemiological (and other) implications. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico. *Clin Cardiol* 1990; 13:VIII32-36
- 44) GISSI-2: a factorial randomised trial of alteplase versus streptokinase and heparin versus no heparin among 12,490 patients with acute myocardial infarction. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico. *Lancet* 1990; 336:65-71
- 45) *Hennekens CH.* Thrombolytic therapy: pre- and post-GISSI-2, ISIS-3, and GUSTO-1. *Clin Cardiol* 1994; 17:115-17
- 46) *Stary HC.* Macrophages, macrophage foam cells, and eccentric intimal thickening in the coronary arteries of young children. *Atherosclerosis* 1987; 64:91-108
- 47) *Rosenfeld ME, Tsukada T, Gown AM, Ross R.* Fatty streak initiation in Watanabe Heritable Hyperlipemic and comparably hypercholesterolemic fat-fed rabbits. *Arteriosclerosis* 1987; 7:9-23
- 48) *Masuda J, Ross R.* Atherogenesis during low level hypercholesterolemia in the nonhuman primate. II. Fatty streak conversion to fibrous plaque. *Arteriosclerosis* 1990; 10:178-187
- 49) *Masuda J, Ross R.* Atherogenesis during low level hypercholesterolemia in the nonhuman primate. I. Fatty streak formation. *Arteriosclerosis* 1990; 10:164-177
- 50) *Joris I, Zand T, Nunnari JJ, Krolkowski FJ, Majno G.* Studies on the pathoge-

- nesis of atherosclerosis. I. Adhesion and emigration of mononuclear cells in the aorta of hypercholesterolemic rats. *Am J Pathol* 1983; 113:341-358
- 51) *Gerrity RG*. The role of the monocyte in atherogenesis: II. Migration of foam cells from atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1981; 103:191-200
- 52) *Gerrity RG*. The role of the monocyte in atherogenesis: I. Transition of blood-borne monocytes into foam cells in fatty lesions. *Am J Pathol* 1981; 103:181-190
- 53) *Faggiotto A, Ross R, Harker L*. Studies of hypercholesterolemia in the nonhuman primate. I. Changes that lead to fatty streak formation. *Arteriosclerosis* 1984; 4:323-340
- 54) *Kruth HS*. Sequestration of aggregated low-density lipoproteins by macrophages. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13:483-488
- 55) *Skalen K, Gustafsson M, Rydberg EK, Hulten LM, Wiklund O, Innerarity TL, Boren J*. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature* 2002; 417:750-754
- 56) *Clinton SK, Underwood R, Hayes L, Sherman ML, Kufe DW, Libby P*. Macrophage colony-stimulating factor gene expression in vascular cells and in experimental and human atherosclerosis. *Am J Pathol* 1992; 140:301-316
- 57) *Libby P, Li H*. Vascular cell adhesion molecule-1 and smooth muscle cell activation during atherogenesis. *J Clin Invest* 1993; 92:538-539
- 58) *Libby P, Theroux P*. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 2005; 111:3481-88
- 59) *Annex BH, Denning SM, Channon KM, Sketch MH, Jr., Stack RS, Morrissey JH, Peters KG*. Differential expression of tissue factor protein in directional atherectomy specimens from patients with stable and unstable coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91:619-622
- 60) *Geng YJ, Wu Q, Muszynski M, Hansson GK, Libby P*. Apoptosis of vascular smooth muscle cells induced by in vitro stimulation with interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-1 beta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:19-27
- 61) *Peoples GE, Blotnick S, Takahashi K, Freeman MR, Klagsbrun M, Eberlein TJ*. T lymphocytes that infiltrate tumors and atherosclerotic plaques produce heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and basic fibroblast growth factor: a potential pathologic role. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:6547-51
- 62) *Newby AC*. Molecular and cell biology of native coronary and vein-graft atherosclerosis: regulation of plaque stability and vessel-wall remodelling by growth factors and cell-extracellular matrix interactions. *Coron Artery Dis* 1997; 8:213-224
- 63) *Ross R*. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362:801-809
- 64) *Thyberg J*. Differentiated properties and proliferation of arterial smooth muscle cells in culture. *Int Rev Cytol* 1996; 169:183-265
- 65) *Ross R*. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-126
- 66) *Hansson GK, Libby P, Schonbeck U, Yan ZQ*. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res* 2002; 91:281-291
- 67) *Packard RR, Libby P*. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin Chem* 2008; 54:24-38
- 68) *De Caterina R, Massaro M, Libby P*. Endothelial functions and dysfunctions. In: *De Caterina R, Libby P, eds. Endothelial Dysfunctions in Vascular Disease*. New York: Blackwell-Futura 2007; 3-25
- 69) *De Caterina R*. Inflammation and early events in atherogenesis. *Cardiologia* 1999; 44 Suppl 1:109-115
- 70) *De Caterina R, Zampolli A, Lazzarini G, Libby P*. Endothelial activation and the initiation of atherosclerosis. In: *De Caterina R, Libby P, eds. Endothelial Dy-*

- sfunctions in Vascular Disease. New York: Blackwell-Futura 2007; 26-35
- 71) *De Caterina R, Zampolli A, Del Turco S, Libby P.* Mechanisms of plaque progression and complications. In: De Caterina R, Libby P, eds. Endothelial Dysfunction in Vascular Disease. New York: Blackwell-Futura 2007; 36-54
 - 72) *Ku DN, Giddens DP, Zarins CK, Glagov S.* Pulsatile flow and atherosclerosis in the human carotid bifurcation. Positive correlation between plaque location and low oscillating shear stress. *Arteriosclerosis* 1985; 5:293-302
 - 73) *Gimbrone MA, Jr., Nagel T, Topper JN.* Biomechanical activation: an emerging paradigm in endothelial adhesion biology. *J Clin Invest* 1997; 99:1809-13
 - 74) *Davies PF.* Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev* 1995; 75:519-560
 - 75) *Ando J, Tsuboi H, Korenaga R, Takada Y, Toyama-Sorimachi N, Miyasaka M, Kamiya A.* Shear stress inhibits adhesion of cultured mouse endothelial cells to lymphocytes by downregulating VCAM-1 expression. *Am J Physiol* 1994; 267:C 679-687
 - 76) *De Caterina R, Libby P, Peng HB, Thannickal VJ, Rajavashisth TB, Gimbrone MA, Jr., Shin WS, Liao JK.* Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 1995; 96:60-68
 - 77) *Khan BV, Harrison DG, Olbrych MT, Alexander RW, Medford RM.* Nitric oxide regulates vascular cell adhesion molecule 1 gene expression and redox-sensitive transcriptional events in human vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:9114-19
 - 78) *Bochner BS, Luscinskas FW, Gimbrone MA, Jr., Newman W, Sterbinsky SA, Darse-Anthony CP, Klunk D, Schleimer RP.* Adhesion of human basophils, eosinophils, and neutrophils to interleukin 1-activated human vascular endothelial cells: contributions of endothelial cell adhesion molecules. *J Exp Med* 1991; 173:1553-57
 - 79) *Cybulsky MI, Fries JW, Williams AJ, Sultan P, Davis VM, Gimbrone MA, Jr., Collins T.* Alternative splicing of human VCAM-1 in activated vascular endothelium. *Am J Pathol* 1991; 138:815-820
 - 80) *Cybulsky MI, Fries JW, Williams AJ, Sultan P, Eddy R, Byers M, Shows T, Gimbrone MA, Jr., Collins T.* Gene structure, chromosomal location, and basis for alternative mRNA splicing of the human VCAM1 gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:7859-63
 - 81) *Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF.* Decreased lesion formation in CCR2^{-/-} mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature* 1998; 394:894-897
 - 82) *Collins T, Cybulsky MI.* NF-kappa β : pivotal mediator or innocent bystander in atherogenesis? *J Clin Invest* 2001; 107:255-264
 - 83) *Cybulsky MI, Iiyama K, Li H, Zhu S, Chen M, Iiyama M, Davis V, Gutierrez-Ramos JC, Connelly PW, Milstone DS.* A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001; 107:1255-62
 - 84) *Jongstra-Bilen J, Haidari M, Zhu SN, Chen M, Guha D, Cybulsky MI.* Low-grade chronic inflammation in regions of the normal mouse arterial intima predisposed to atherosclerosis. *J Exp Med* 2006; 203:2073-83
 - 85) *Nagel T, Resnick N, Atkinson WJ, Dewey CF Jr, Gimbrone MA Jr.* Shear stress selectively upregulates intercellular adhesion molecule-1 expression in cultured human vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1994; 94:885-891
 - 86) *Resnick N, Collins T, Atkinson W, Bonthron DT, Dewey CF Jr, Gimbrone MA Jr.* Platelet-derived growth factor B chain promoter contains a cis-acting fluid shear-stress-responsive element. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:7908
 - 87) *Resnick N, Collins T, Atkinson W, Bonthron DT, Dewey CF Jr, Gimbrone MA Jr.* Platelet-derived growth factor B chain promoter contains a cis-acting fluid shear-

- stress-responsive element. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:4591-95
- 88) *Shih DM, Gu L, Hama S, Xia YR, Navab M, Fogelman AM, Lusis AJ*. Genetic-dietary regulation of serum paraoxonase expression and its role in atherogenesis in a mouse model. *J Clin Invest* 1996; 97:1630-39
 - 89) *Libby P*. Role of inflammation in atherosclerosis associated with rheumatoid arthritis. *Am J Med* 2008; 121:S21-31
 - 90) *Collins T*. Endothelial Nuclear Factor-kB and the initiation of the atherosclerotic lesion. *Lab Invest* 1993; 68:499-508
 - 91) *Brand K, Page S, Rogler G, Bartsch A, Brandl R, Knuechel R, Page M, Kaltschmidt C, Baeuerle PA, Neumeier D*. Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion. *J Clin Invest* 1996; 97:1715-22
 - 92) *Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS, Gotto AM, Jr*. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med* 2001; 344:1959-65
 - 93) *Ridker PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe CH, Pfeffer MA, Braunwald E*. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy. *N Engl J Med* 2005; 352:20-28
 - 94) *Koenig W, Lowel H, Baumert J, Meisinger C*. C-reactive protein modulates risk prediction based on the Framingham Score: implications for future risk assessment: results from a large cohort study in southern Germany. *Circulation* 2004; 109:1349-53
 - 95) *Zacho J, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, Grande P, Sillesen H, Nordestgaard BG*. Genetically elevated C-reactive protein and ischemic vascular disease. *N Engl J Med* 2008; 359:1897-08
 - 96) *Calabro P, Willerson JT, Yeh ET*. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation* 2003; 108:1930-32
 - 97) *Jabs WJ, Theissing E, Nitschke M, Bechtel JF, Duchrow M, Mohamed S, Jahrbeck B, Sievers HH, Steinhoff J, Bartels C*. Local generation of C-reactive protein in diseased coronary artery venous bypass grafts and normal vascular tissue. *Circulation* 2003; 108:1428-31
 - 98) *Devaraj S, Xu DY, Jialal I*. C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation* 2003; 107:398-404
 - 99) *Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET*. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000; 102:2165-68
 - 100) *Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J*. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103:1194-97
 - 101) *Futterman LG, Lemberg L*. High-sensitivity C-reactive protein is the most effective prognostic measurement of acute coronary events. *Am J Crit Care* 2002; 11:482-486
 - 102) *Lee WL, Lee WJ, Chen YT, Liu TJ, Liang KW, Ting CT, Huey-Herng Sheu W*. The presence of metabolic syndrome is independently associated with elevated serum CD40 ligand and disease severity in patients with symptomatic coronary artery disease. *Metabolism* 2006; 55:1029-34
 - 103) *Tayebjee MH, Lip GY, Tan KT, Patel JV, Hughes EA, MacFadyen RJ*. Plasma matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-2, and CD40 ligand levels in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005; 96:339-345
 - 104) *Schonbeck U, Libby P*. CD40 signaling and plaque instability. *Circ Res* 2001; 89:1092-1103
 - 105) *Okamoto Y, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Libby P*. Adiponectin: a key adipocytokine in metabolic syndrome. *Clin Sci (Lond)* 2006; 110:267-278

- 106) Patel DA, Srinivasan SR, Xu JH, Chen W, Berenson GS. Adiponectin and its correlates of cardiovascular risk in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Metabolism* 2006; 55:1551-57
- 107) Dullaart RP, de Vries R, van Tol A, Sluiter WJ. Lower plasma adiponectin is a marker of increased intima-media thickness associated with type 2 diabetes mellitus and with male gender. *Eur J Endocrinol* 2007; 156:387-394
- 108) Otsuka F, Sugiyama S, Kojima S, Maruyoshi H, Funahashi T, Matsui K, Sakamoto T, Yoshimura M, Kimura K, Umemura S, Ogawa H. Plasma adiponectin levels are associated with coronary lesion complexity in men with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48:1155-62
- 109) Laughlin GA, Barrett-Connor E, May S, Langenberg C. Association of adiponectin with coronary heart disease and mortality: the Rancho Bernardo study. *Am J Epidemiol* 2007; 165:164-174
- 110) Wannamethee SG, Whincup PH, Lennon L, Sattar N. Circulating adiponectin levels and mortality in elderly men with and without cardiovascular disease and heart failure. *Arch Intern Med* 2007; 167:1510-17
- 111) Skurk T, Kolb H, Muller-Scholze S, Rohrig K, Hauner H, Herder C. The proatherogenic cytokine interleukin-18 is secreted by human adipocytes. *Eur J Endocrinol* 2005; 152:863-868
- 112) Yasmin, McEniery CM, Wallace S, Dakham Z, Pulsalkar P, Maki-Petaja K, Ashby MJ, Cockcroft JR, Wilkinson IB. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:372
- 113) Inokubo Y, Hanada H, Ishizaka H, Fukushi T, Kamada T, Okumura K. Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are increased in the coronary circulation in patients with acute coronary syndrome. *Am Heart J* 2001; 141:211-217
- 114) Giesen PL, Rauch U, Bohrmann B, Kling D, Roque M, Fallon JT, Badimon JJ, Himber J, Riederer MA, Nemerson Y. Blood-borne tissue factor: another view of thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96:2311-15
- 115) Mallat Z, Benamer H, Hugel B, Benessiano J, Steg PG, Freyssinet JM, Tedgui A. Elevated levels of shed membrane microparticles with procoagulant potential in the peripheral circulating blood of patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2000; 101:841-843
- 116) Mallat Z, Tedgui A. Apoptosis in the vasculature: mechanisms and functional importance. *Br J Pharmacol* 2000; 130:947-962
- 117) Mallat Z, Tedgui A. Current perspective on the role of apoptosis in atherothrombotic disease. *Circ Res* 2001; 88:998-1003
- 118) Clinical reality of coronary prevention guidelines: a comparison of EUROASPIRE I and II in nine countries. EUROASPIRE I and II Group. European Action on Secondary Prevention by Intervention to Reduce Events. *Lancet* 2001; 357:995-1001
- 119) Sever PS, Dahlof B, Poulter NR, Wedel H, Beevers G, Caulfield M, Collins R, Kjeldsen SE, Kristinsson A, McInnes GT, Mehlsen J, Nieminen M, O'Brien E, Ostergren J. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 361:1149-58
- 120) LaRosa JC, He J, Vupputuri S. Effect of statins on risk of coronary disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 1999; 282:2340-46
- 121) MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360:7-22

- 122) *Brown BG, Zhao XQ, Chait A, Fisher LD, Cheung MC, Morse JS, Dowdy AA, Marino EK, Bolson EL, Alaupovic P, Frohlich J, Albers JJ.* Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *N Engl J Med* 2001; 345:1583-92
- 123) *Aikawa M, Rabkin E, Okada Y, Voglic SJ, Clinton SK, Brinckerhoff CE, Sukhova GK, Libby P.* Lipid lowering by diet reduces matrix metalloproteinase activity and increases collagen content of rabbit atheroma: a potential mechanism of lesion stabilization. *Circulation* 1998; 97:2433-44
- 124) *Aikawa M, Voglic SJ, Sugiyama S, Rabkin E, Taubman MB, Fallon JT, Libby P.* Dietary lipid lowering reduces tissue factor expression in rabbit atheroma. *Circulation* 1999; 100:1215-22
- 125) *Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, Corti MC, Wacholder S, Ettinger WH, Jr., Heimovitz H, Cohen HJ, Wallace R.* Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med* 1999; 106:506-512
- 126) *Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N.* C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342:836-843
- 127) *Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E.* Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation* 2000; 101:2149-53
- 128) *Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH.* Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation* 2000; 101:1767-72
- 129) *Albert MA, Danielson E, Rifai N, Ridker PM.* Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *JAMA* 2001; 286:64-70
- 130) *Crea F, Monaco C, Lanza GA, Maggi E, Ginnetti F, Cianflone D, Niccoli G, Cook T, Bellomo G, Kjekshus J.* Inflammatory predictors of mortality in the Scandinavian Simvastatin Survival Study. *Clin Cardiol* 2002; 25:461-466
- 131) *Kinlay S, Timms T, Clark M, Karam C, Bilodeau T, Ridker PM, Rifai N, Carlson W, Lloyd-Jones DM, Johnstone M, Rubenstein J, Alexander S, Orav J, Stone PH.* Comparison of effect of intensive lipid lowering with atorvastatin to less intensive lowering with lovastatin on C-reactive protein in patients with stable angina pectoris and inducible myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 2002; 89:1205-07
- 132) *Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Brown BG, Ganz P, Vogel RA, Crowe T, Howard G, Cooper CJ, Brodie B, Grines CL, De Maria AN.* Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291:1071-80
- 133) *Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks FM, Moyer LA, Goldman S, Flaker GC, Braunwald E.* Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* 1998; 98:839-844
- 134) *Taylor AJ, Kent SM, Flaherty PJ, Coyle LC, Markwood TT, Vernalis MN.* ARBITER: Arterial Biology for the Investigation of the Treatment Effects of Reducing Cholesterol: a randomized trial comparing the effects of atorvastatin and pravastatin on carotid intima medial thickness. *Circulation* 2002; 106:2055-60
- 135) *van de Ree MA, Huisman MV, Princen HM, Meinders AE, Kluft C.* Strong decrease of high sensitivity C-reactive protein with high-dose atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 2003; 166:129-135
- 136) *van Wissen S, Trip MD, Smilde TJ, de Graaf J, Stalenhoef AF, Kastelein JJ.* Differential hs-CRP reduction in patients with familial hypercholesterolemia treated with aggressive or conventional statin therapy. *Atherosclerosis* 2002; 165:361-366
- 137) *De Caterina R, Manes C.* Inflammation in early atherogenesis: impact of ACE

- inhibition. *Eur Heart J* 2003;A15-A24
- 138) *Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, Boysen G, Burell G, Cifkova R, Dallongeville J, De Backer G, Ebrahim S, Gjelsvik B, Herrmann-Lingen C, Hoes A, Humphries S, Knapton M, Perk J, Priori SG, Pyorala K, Reiner Z, Ruilope L, Sans-Menendez S, Scholte op Reimer W, Weissberg P, Wood D, Yarnell J, Zamorano JL, Walma E, Fitzgerald T, Cooney MT, Dudina A, Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Funck-Brentano C, Filippatos G, Hellemans I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Altiner A, Bonora E, Durrington PN, Fagard R, Giampaoli S, Hemingway H, Hakansson J, Kjeldsen SE, Larsen ML, Mancina G, Manolis AJ, Orth-Gomer K, Pedersen T, Rayner M, Ryden L, Sammut M, Schneiderman N, Stalenhoef AF, Tokgozoglul, Wiklund O, Zampelas A.* European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary. *Eur Heart J* 2007; 28:2375-14
- 139) *Mann DL, McMurray JJ, Packer M, Swedberg K, Borer JS, Colucci WS, Djian J, Drexler H, Feldman A, Kober L, Krum H, Liu P, Nieminen M, Tavazzi L, van Veldhuisen DJ, Waldenstrom A, Warren M, Westheim A, Zannad F, Fleming T.* Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation* 2004; 109:1594-1602
- 140) *Crossman DC, Morton AC, Gunn JP, Greenwood JP, Hall AS, Fox KA, Lucking AJ, Flather MD, Lees B, Foley CE.* Investigation of the effect of Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) on markers of inflammation in non-ST elevation acute coronary syndromes (The MRC-ILA-HEART Study). *Trials* 2008; 9:8
- 141) *Tardif JC, McMurray JJ, Klug E, Small R, Schumi J, Choi J, Cooper J, Scott R, Lewis EF, L'Allier PL, Pfeffer MA.* Effects of succinobucol (AGI-1067) after an acute coronary syndrome: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 371:1761-68
- 142) *Hillis LD.* Coronary artery bypass surgery: risks and benefits, realistic and unrealistic expectations. *J Investig Med* 1995; 43:17-27