

Ruolo delle citochine pro-infiammatorie nei meccanismi patogenetici dell'aterosclerosi coronarica

Michele Correale, Natale Daniele Brunetti, Matteo Di Biase

Dipartimento di Cardiologia, Università degli Studi, Foggia

Key words:

Coronary artery disease;
Cytokines;
Inflammation.

Investigation of the mechanisms of atherosclerosis has determined that inflammation plays a central role in the development, progression, and outcome of acute coronary syndrome. Although C-reactive protein will remain over time a useful marker, cytokines will continue to be studied in order to understand the mechanisms of acute coronary syndrome and cytokine balance. This short review summarizes the experimental and clinical evidence regarding the role of some cytokines in acute coronary syndrome (interleukin [IL]-8, IL-10, IL-18, IL-2, tumor necrosis factor- α , interferon- γ).

(G Ital Cardiol 2006; 7 (9): 594-603)

© 2006 CEPI Srl

Ricevuto il 20 febbraio 2006; nuova stesura il 5 maggio 2006; accettato il 5 maggio 2006.

Per la corrispondenza:

Dr. Michele Correale

Dipartimento
di Cardiologia
Università degli Studi
Ospedali Riuniti OO.RR.
Via L. Pinto
71100 Foggia
E-mail: opsfc@tin.it

Introduzione

Nonostante gli enormi progressi degli ultimi anni nella diagnosi e nel trattamento, le sindromi coronariche acute (SCA) continuano a rappresentare uno dei principali problemi di salute pubblica nel mondo industrializzato e nei paesi in via di sviluppo^{1,2}. Le SCA colpiscono pazienti in età lavorativa, nella loro fase maggiormente produttiva, e comportano conseguenze psicosociali ed economiche particolarmente deleterie.

Numerose e controverse sono le ipotesi formulate nel tentativo di identificare meccanismi responsabili di comparsa e progressione della malattia aterosclerotica. La presenza nella placca di elementi caratteristici dell'infiammazione con associata elevazione del titolo anticorpale per alcuni germi patogeni ha perfino contribuito a far ipotizzare una genesi infettiva dell'aterosclerosi.

Al momento, comunque, la teoria più accreditata rimane quella infiammatoria di Russell Ross³, "the response to injury", che ipotizza nell'infiammazione il meccanismo mediante il quale i fattori di rischio cardiovascolare evocano una risposta riparativa da parte della parete vascolare, risposta che inizia con l'attivazione endoteliale, alterazione meramente funzionale, per poi progredire e stabilizzarsi con la formazione della placca aterosclerotica, una vera e propria alterazione morfologica. Questa teoria è supportata da dati sperimentali e dalla contemporanea elevazione, in caso di ma-

lattia aterosclerotica coronarica, di marcatori dell'infiammazione. Nei soggetti affetti da SCA, infatti, l'ischemia miocardica provoca l'incremento dei livelli plasmatici di alcuni marcatori flogistici, tra cui anche alcune citochine infiammatorie (interleucina [IL]-1, IL-6, fattore di necrosi tumorale [TNF]- α), con dimostrate implicazioni sulla prognosi a breve e medio termine. In questa breve rassegna, partendo dalla definizione di SCA e di placca aterosclerotica, si riassumono le evidenze che cercano di spiegare il ruolo dell'infiammazione nell'aterosclerosi, e in modo particolare il ruolo delle citochine pro-infiammatorie nelle SCA, considerando i risultati più importanti delle ricerche su citochine non ancora ben studiate in questo sottogruppo di pazienti (IL-8, IL-10, IL-18, IL-2, TNF- α , interferone [IFN]- γ).

Sindrome coronarica acuta

Per SCA si intende un ampio spettro di situazioni cliniche che vanno dall'angina instabile (AI) all'infarto non transmurale (o infarto non Q), all'infarto transmurale (o infarto Q, così definito per la comparsa alla registrazione elettrocardiografica di onde Q in sede di necrosi).

Le SCA vengono classificate in base alla presentazione elettrocardiografica in SCA con sopraslivellamento del tratto ST e SCA senza sopraslivellamento del tratto ST⁴.

Le SCA con sopraslivellamento del tratto ST sono caratterizzate, in genere, da una occlusione acuta, generalmente per una trombosi su placca ateromasica, di una coronaria (infarto miocardico acuto [IMA] Q o, secondo la nuova classificazione, IMA con sopraslivellamento del tratto ST).

Le SCA senza sopraslivellamento del tratto ST possono essere caratterizzate da modificazioni elettrocardiografiche che consistono in sottoslivellamento del tratto ST e/o inversione dell'onda T o da ECG normali e comprendono l'AI e l'IMA non Q (o, secondo la nuova classificazione, IMA senza sopraslivellamento del tratto ST). La distinzione tra queste due condizioni cliniche è basata sull'assenza o presenza di innalzamento dei livelli plasmatici degli enzimi di necrosi miocardica che si verifica in genere a distanza di 6-8 h dall'episodio acuto. L'assenza di onda Q indica che, nel territorio interessato, la necrosi non ha coinvolto l'intero spessore muscolare della parete cardiaca, ma solo gli strati subendocardici, da cui la dizione di infarto subendocardico (peraltro non sempre corrispondente al quadro autoptico).

Queste situazioni cliniche presentano una patogenesi comune che è rappresentata dalla trombosi coronarica. Le differenti presentazioni cliniche dipendono dal fatto che l'occlusione coronarica sia completa, incompleta, intermittente o persistente.

Lesioni aterosclerotiche

L'aterosclerosi è un processo che colpisce le pareti dei vasi sanguigni determinando la formazione di placche che possono ridurre progressivamente il diametro dei vasi fino ad ostruirlo. La parete dei vasi sanguigni è costituita da tre strati: l'intima, la media e l'avventizia. L'intima rappresenta lo strato più interno della parete del vaso ed è formata da cellule endoteliali immerse in una matrice extracellulare. La tonaca media è formata da cellule muscolari lisce, fibre collagene e fibre elastiche, immerse anch'esse nella matrice extracellulare. L'avventizia, infine, rappresenta lo strato più esterno ed è costituita da tessuto fibroelastico denso, vasi nutritizi e fibre nervose⁵.

La lesione principale, definita ateroma o placca fibrolipidica, è costituita da una placca localizzata e rilevata, situata nell'intima ed è formata da un cappuccio fibroso e da un centro lipidico. Il cappuccio fibroso è costituito da scarsi leucociti e da cellule muscolari lisce, migrate nell'intima dalla media, che secernono fibre collagene interstiziali. Il nucleo lipidico è costituito da aghi di colesterolo, detriti cellulari, cellule "schiumose" (cioè macrofagi con inclusi fagocitotici di colesterolo), fibrina, trombi in vario stadio di organizzazione e altre proteine plasmatiche^{5,6}.

Le placche aterosclerotiche iniziano a formarsi già all'età di 25 anni sotto forma di strie lipidiche, presentano inizialmente una distribuzione focale, successiva-

mente aumentano rapidamente di numero e dimensioni man mano che la malattia progredisce. Le placche si accrescono e invadono progressivamente il lume dell'arteria, estendendosi alla tonaca media sottostante.

Flogosi e aterogenesi

In vari modelli animali di aterosclerosi, i segni dell'infiammazione si riscontrano fianco a fianco con l'accumulo lipidico nella parete delle arterie. Per esempio, i leucociti, mediatori sia delle difese dell'ospite sia dell'infiammazione, sono localizzati nelle lesioni aterosclerotiche più precoci, non solo nei modelli animali da esperimento, ma anche nell'uomo. Le basi biologiche dell'infiammazione applicata all'aterosclerosi hanno fornito una nuova chiave di lettura dei meccanismi fisiopatologici, sottolineando il ruolo del reclutamento leucocitario⁷. In condizioni normali le cellule del sangue non aderiscono all'endotelio vascolare. Tuttavia, abbastanza precocemente dopo l'inizio di una dieta aterogena, le cellule endoteliali delle arterie cominciano ad esprimere sulla superficie molecole di adesione specifiche per varie classi di leucociti. In particolare la *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) che lega precisamente i tipi di leucociti trovati precocemente negli ateromi umani e sperimentali, cioè i monociti ed i linfociti T. Ratti geneticamente deficitari per l'espressione di VCAM-1 mostrano una riduzione dell'incidenza di malattia aterosclerotica⁸. Numerose evidenze sperimentali suggeriscono che la formazione degli ateromi avviene al livello dei punti di biforcazione delle arterie, dove il flusso è turbolento e quindi la parete è sottoposta ad un notevole stress meccanico⁹. L'assenza del normale flusso laminare e dello *shear stress* possono ridurre la produzione locale di ossido nitrico di origine endoteliale. Questa molecola vasodilatatrice ha anche proprietà anti-infiammatorie e può limitare l'espressione della VCAM-1¹⁰. Perciò, l'assenza del normale flusso laminare può far aumentare indirettamente la produzione di certe molecole di adesione cellulare (ad esempio, *intercellular adhesion molecule-1* [ICAM-1])¹¹. Lo stress di parete può anche promuovere la produzione da parte di cellule muscolari lisce di proteoglicani che possono legare e trattenere particelle lipoproteiche, facilitando la loro modificazione ossidativa e promuovendo così una risposta infiammatoria nei siti di formazione delle lesioni¹². Una volta adesi all'endotelio, i leucociti penetrano nell'intima. Sono state identificate le molecole responsabili della tras migrazione leucocitaria per chemotassi. Per esempio, la *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1) sembra essere responsabile della migrazione dei monociti nell'intima al livello dei siti di formazione delle lesioni^{13,14}. Una famiglia di proteine chemotattiche può richiamare i linfociti nell'intima¹⁵. Una volta raggiunta la parete del vaso, le cellule infiammatorie partecipano e perpetuano una risposta infiammatoria locale. I macrofagi esprimono dei recetto-

ri "scavenger" per lipoproteine modificate, che permettono loro di fagocitare lipidi e trasformarsi in cellule schiumose. In aggiunta alla MCP-1, fattori stimolanti colonie macrofagiche contribuiscono alla differenziazione dei monociti nelle cellule macrofagiche schiumose^{16,17}. Le cellule T ricevono segnali che permettono loro di elaborare citochine infiammatorie, come IFN- γ e linfotossine (TNF- β) che a loro volta possono stimolare macrofagi, cellule endoteliali e cellule muscolari lisce¹⁸. Poiché questo processo infiammatorio continua, i leucociti attivati e le cellule appartenenti alle pareti del vaso possono rilasciare mediatori fibrogenici, includendo una varietà di fattori di crescita che possono promuovere la replicazione di cellule muscolari lisce e contribuire all'elaborazione da parte di queste cellule di una densa matrice extracellulare caratteristica delle più avanzate lesioni aterosclerotiche¹. I processi infiammatori non solo promuovono l'iniziazione e l'evoluzione dell'ateroma, ma contribuiscono anche a sviluppare complicazioni trombotiche acute della placca aterosclerotica. Molti trombi coronarici che causano infarto miocardico crescono a seguito di un'alterazione strutturale della placca. I macrofagi attivati, presenti come abbondanti nell'ateroma, possono produrre enzimi proteolitici capaci di degradare il collagene, portando ad un assottigliamento del cappuccio fibroso, di per sé protettivo della placca, che così diventa debole e suscettibile alla rottura. L'IFN- γ prodotto dai linfociti T attivati nella placca può alterare la sintesi del collagene dovuta alle cellule muscolari lisce, limitando la loro capacità di rinnovare il collagene che rinforza la placca^{19,20}. I macrofagi producono anche fattore tissutale, il più importante fattore procoagulante e stimolo alla trombosi nella placca. I mediatori infiammatori regolano l'espressione del fattore tissutale sui macrofagi delle placche, fornendo un legame essenziale tra l'infiammazione e i processi trombotici²¹. A seguito della rottura della placca viene esposto il core lipidico che innesca una serie di eventi procoagulanti. IL CD40 ligand (o citochina CD154) si lega alle piastrine promuovendo ulteriormente lo stato infiammatorio e procoagulante²²⁻²⁵. Gli studi anatomici condotti su pazienti con SCA rivelano abbondanza di macrofagi e cellule T nella vicinanza del sito di rottura²⁶. Le cellule T non solo producono l'IFN- γ che inibisce la produzione di collagene da parte delle cellule muscolari lisce, ma stimolano anche i macrofagi a produrre le metalloproteinasi, che portano alla degradazione della matrice di collagene della placca²⁷. L'apoptosi è dimostrabilmente legata all'instabilità della placca²⁸, come comprovato dal riscontro di un incremento dell'apoptosi cellulare negli ateromi ottenuti da carotidi di pazienti affetti da angina instabile rispetto a quelli ottenuti dai pazienti con angina stabile (AS). Le cellule apoptotiche possono perpetuare l'infiammazione nella placca attraverso l'attivazione di geni pro-infiammatori mediata dal gene *fas*²⁸. La perdita apoptotica delle cellule muscolari lisce porta ad alterati processi riparativi del cappuccio fibroso.

Citochine

La difesa dell'organismo contro gli organismi estranei è mediata da una risposta immune naturale (o innata) e una risposta immune specifica (o acquisita); la fase effettrice di entrambi i tipi di risposta è in gran parte mediata da proteine ormonali, chiamate citochine²⁹. Queste rappresentano un gruppo eterogeneo di proteine solubili (molto frequentemente glicoproteine) che partecipano alla trasduzione del segnale intercellulare³⁰. Nell'immunità naturale queste sono prodotte per lo più da fagociti mononucleati, perciò anche dette monochine. Nell'immunità specifica vengono prodotte dai linfociti T attivati, perciò comunemente denominate linfocine. Le cellule T producono numerose citochine, la cui funzione primaria è quella di regolare la crescita e la differenziazione delle diverse sottopopolazioni linfocitarie. Altre citochine secrete dalle cellule T svolgono prevalentemente un'azione di attivazione e regolazione delle cellule infiammatorie, quali fagociti mononucleati, neutrofili ed eosinofili.

Sebbene le citochine siano una famiglia di proteine molto diverse tra loro, tutte queste molecole presentano caratteristiche comuni:

- vengono prodotte durante la fase effettrice sia dell'immunità naturale sia di quella specifica e servono a mediare e regolare le risposte immuni ed infiammatorie. Nell'immunità naturale, prodotti microbici quali il lipopolissaccaride endotossinico stimolano direttamente i fagociti mononucleati a secernere citochine; per contro le citochine di derivazione cellulare T sono prodotte soprattutto in risposta al riconoscimento specifico dell'antigene estraneo;
- la secrezione di citochine è un fenomeno di breve durata e autolimitato, la loro sintesi è avviata dalla trascrizione *de novo* dei relativi geni;
- numerose citochine vengono prodotte da molti tipi cellulari diversi;
- le citochine agiscono su numerosi tipi cellulari differenti: questa caratteristica è definita pleiotropismo;
- svolgono spesso numerosi effetti diversi su di una stessa cellula bersaglio;
- la loro attività è spesso ridondante: molte funzioni ritenute inizialmente esclusive di una citochina si sono poi dimostrate comuni a molte;
- le citochine influenzano spesso la sintesi di altre citochine in una cascata in cui una seconda, una terza possono mediare l'azione della prima;
- influenzano spesso l'attività delle altre citochine; la loro interazione può risultare in effetti differenti, effetto antagonista reciproco, effetti additivi e sinergismo;
- al pari di altri ormoni polipeptidici, iniziano la loro attività legandosi a specifici recettori presenti sulla superficie di cellule bersaglio, con possibile azione autocrina (la cellula bersaglio è la stessa che ha secreto la citochina), paracrina (azione su una cellula vicina) ed endocrina (azione su una cellula lontana);

- l'espressione di molti recettori per le citochine è regolata da segnali specifici, costituiti da altre citochine o dalla stessa, che legandosi al proprio recettore, genera circuiti di amplificazione o di inibizione;
- la maggior parte delle risposte cellulari alle citochine richiede la neosintesi di mRNA e proteine;
- per molte cellule bersaglio, le citochine si comportano come regolatori della divisione cellulare, ossia come fattori di crescita, anche se il loro ruolo primario resta la mediazione delle difese dell'ospite.

Funzioni delle citochine

Sulla base della funzione, le citochine possono essere suddivise in quattro gruppi²⁹:

- 1) mediatori dell'immunità naturale, prodotti dai fagociti mononucleati in risposta ad agenti infettivi (IFN- α , IFN- β , TNF, IL-1, IL-6, chemochine);
- 2) attivatori dell'attivazione, della crescita e della differenziazione linfocitaria, prodotti in conseguenza del riconoscimento antigenico da parte dei linfociti T (IL-2, IL-4, transforming growth factor- β);
- 3) regolatori dell'infiammazione immuno-mediata, che attivano cellule infiammatorie non specifiche evocate a seguito del riconoscimento antigenico specifico da parte dei linfociti T (IFN- γ , linfotossina, IL-10, IL-12);
- 4) sostanze ad azione stimolatrice sulla crescita e sulla differenziazione dei leucociti immaturi, derivati dai linfociti e da altre cellule non linfoidi (c-kit, IL-3, granulocyte macrophage colony-stimulating factor, IL-7, IL-9, IL-11).

Citochine e aterosclerosi

Gli stimoli responsabili degli incrementi degli indici di flogosi associati agli eventi coronarici non sono ancora ben certi. Essi possono derivare dalle lesioni aterosclerotiche stesse e riflettere sia l'estensione dell'aterosclerosi e sia l'infiammazione locale che predispone all'instabilità ed alla rottura di placca. È anche probabile che gli aumentati livelli sierici dei marker di flogosi possano derivare da un'infiammazione sistemica di basso grado, capace di esercitare un effetto proaterogeno e procoagulante. L'assenza di elevati valori della proteina C-reattiva in oltre il 30% dei pazienti con severa angina instabile e in oltre il 50% di quelli con IMA non preceduto da AI suggerisce una notevole eterogeneità del ruolo degli stimoli infiammatori nelle sindromi coronariche instabili. Inoltre, l'aumento delle citochine pro-infiammatorie in tali pazienti non è detto che rappresenti solo una "causa", ma potrebbe rappresentare un "effetto", dovuto al rilascio di differenti molecole provenienti da zone specifiche, come aree necrotiche, capaci di indurre una risposta infiammatoria, stimolando il fegato a produrre proteine della fase acuta.

Le SCA sono comunemente scatenate dalla rottura del cappuccio fibroso delle placche aterosclerotiche, che permette l'esposizione di materiale altamente trombogenico. La composizione cellulare delle placche vulnerabili è caratterizzata da infiltrati di linfociti T e macrofagi, entrambi attivati dalle lipoproteine a bassa densità (LDL) ossidate. Queste possono stimolare i monociti a produrre fattori pro-infiammatori e citochine. Queste ultime possono avere un'attività soppressiva, come esemplificato dall'IL-10, oppure un'attività stimolante, come mostrato dall'IL-8 e l'IL-12 che attivano i linfociti T, inducendo la produzione di IFN- γ ³¹, che a sua volta induce una locale espressione nelle placche di specifiche citochine come la proteina inducibile dall'IFN (IP)-10 e una monochina indotta dall'IFN- γ (Mig) e il loro recettore CXCR3¹⁵, amplificando il segnale originale e mobilizzando uno specifico sottogruppo di cellule³² verso il sito di sviluppo della placca o di rottura. Le citochine giocano un ruolo chiave nel promuovere e nel sopprimere risposte cellulari ed umorali verso tossine endoteliali come le LDL ossidate. Queste ultime non hanno solo un comportamento tossico, ma hanno un'azione pro-infiammatoria in quanto regolano positivamente la sintesi di cluster di chemochine e citochine, includendo fattori stimolanti, colonie macrofagiche, proteine chemoattrattanti, i monociti e TNF- α ^{8,33,34}.

Si ritiene che l'IL-12 derivata dai monociti/macrofagi e dalle cellule T helper 1 (Th1) sia un importante regolatore della risposta Th1 nei modelli di aterosclerosi animale³¹, favorendo la differenziazione delle cellule Th0 in cellule Th1, aumentando così la risposta Th1. Questa risposta è caratterizzata dalla produzione di IFN- γ da parte di linfociti attivati, che inibisce la sintesi del collagene, la proliferazione di cellule muscolari lisce vascolari e promuove l'apoptosi di cellule muscolari lisce³⁵⁻³⁷. Fernandes et al.³⁸ dimostrarono un'esaltata attività infiammatoria con predominanza della risposta di tipo Th1 nei pazienti con malattia coronaria, come dimostrato dagli elevati livelli di IL-12 e IFN- γ riscontrati nei pazienti con AI.

L'importanza dell'IL-12 nell'aterosclerosi è dimostrata anche in alcuni modelli sperimentali: Uyemura et al.³¹ riportarono la presenza del mRNA e della proteina dell'IL-12 nelle placche aterosclerotiche umane; mentre Lee et al.³⁵ dimostrarono che la somministrazione di IL-12 a ratti deficitari dell'apolipoproteina E poteva accelerare l'aterosclerosi nell'aorta. L'IL-18, originariamente identificata come un fattore inducente l'IFN- γ nelle cellule di Kupffer e nei macrofagi³⁹, sembra giocare un ruolo centrale nella cascata infiammatoria e nei processi dell'immunità naturale ed acquisita per la sua capacità di indurre da parte dei linfociti T e delle cellule "natural killer" la produzione di IFN- γ , citochina ritenuta capace di giocare un ruolo importante nella rottura della placca^{40,41}. Inoltre l'IL-18 ha effetti sinergici con IL-12 nel promuovere sia lo sviluppo di un tipo di risposta Th1⁴²⁻⁴⁴ sia la produzione di una grossa quantità di IFN- γ da parte delle cellule Th1, ed

inoltre, essa induce l'attivazione delle cellule Th2 senza l'IL-12^{39,45,46}.

Essa promuove anche la produzione di TNF- α , IL-1 β , *fas* ligand, IL-6, IL-8, metalloproteinasi e molecole di adesione. Gerdes et al.⁴⁷ hanno riportato che solo i macrofagi che avevano espresso l'IL-18 nella placca aterosclerotica, e l'IL-18 combinata con l'IL-12 inducevano l'espressione di IFN- γ nei macrofagi e nella cellule muscolari lisce. Un'aumentata espressione dell'IL-18 è stata ritrovata nelle placche aterosclerotiche umane⁴⁸ e grazie a modelli animali si è supportato il ruolo pro-aterogenico di questa citochina⁴⁹, così come il benefico effetto della sua inibizione (grazie ad una proteina capace di legarla, *IL-18 binding protein*) sulla progressione e sulla composizione della placca (attraverso la riduzione delle cellule infiammatorie, del contenuto lipidico e l'aumento delle cellule muscolari lisce e del collagene)⁵⁰.

L'IL-10 secreta da monociti/macrofagi attivati e linfociti⁵¹, mostra inoltre proprietà antinfiammatorie, incluse l'inibizione di fattori di trascrizione nucleare⁵², l'inibizione delle metallo-proteinasi⁵³, la riduzione dell'espressione del TNF- α ⁵⁴, della ciclossigenasi-2, l'inibizione dell'apoptosi di macrofagi e monociti^{55,56}, la soppressione della funzione macrofagica, l'inibizione della produzione di citochine pro-infiammatorie⁵⁷ e la promozione del cambiamento fenotipico dei linfociti nel fenotipo Th2⁵⁸. La sua espressione è stata rilevata entro le placche aterosclerotiche umane, ed alti livelli di espressione sono stati associati a significativa riduzione di morte cellulare ed espressione di nitrossido sintasi di tipo inducibile. Esperimenti sugli animali hanno dimostrato il ruolo protettivo della citochina; i ratti, infatti, deficitari di un gene per la trascrizione della suddetta citochina presentavano un'aumentata suscettibilità all'aterosclerosi ed inoltre la somministrazione dell'IL nei ratti deficitari diminuiva le dimensioni delle lesioni aterosclerotiche. Pinderski Oslund et al.⁵⁹ hanno documentato che ratti transgenici, che esprimevano l'IL-10 da 2 a 4 volte in più rispetto ai fenotipi "wild-type", presentavano un numero inferiore di lesioni aterosclerotiche. Yang et al.⁶⁰ hanno dimostrato che l'IL-10 endogena regola l'infiltrazione dei neutrofili, l'espressione di molecole di adesione intercellulari.

L'IL-6, generata da cellule endoteliali, stimola la produzione di proteine della fase acuta dando inizio alla reazione infiammatoria. Infatti, durante l'inizio della reazione di fase acuta, tale IL si lega ai recettori esposti sugli epatociti e promuove l'interazione tra proteine nucleari e specifiche sequenze regolatrici di geni per la sintesi della proteina C-reattiva. Essa, inoltre, gioca un importante ruolo nei processi ematologici, infiammatori, immunologici e metabolici. Viene anche definita l'"ormone del sistema immunologico" per il suo ruolo nella regolazione dei meccanismi immunologici di difesa⁶¹. Influenzando l'endotelio, questa citochina modula l'espressione di ICAM-1, VCAM-1 e selectina E, potenziando l'adesione dei leucociti all'endotelio ed

influenzando le altre cellule infiammatorie attraverso la chemiotassi. Aumenta inoltre la concentrazione del fibrinogeno, del fattore attivante il plasminogeno, dell'aggregabilità piastrinica (attraverso l'induzione della ciclossigenasi e della fosfolipasi A2), mentre determina la riduzione della vasodilatazione coronarica (in sinergia con l'IL-1 β e il TNF- α) ed il reclutamento di leucociti infiammatori⁶². Gli effetti biologici di questa IL dipendono dalla sua interazione con dei recettori di membrana IL-6R, localizzati sulla superficie di cellule linfoidi e non, o con la forma solubile di tale recettore (sIL-6R), determinata o da una degradazione enzimatica del domino esterno del recettore vero e proprio o da una sintesi *de novo*⁶³.

L'IL-8 è una citochina studiata molto recentemente soprattutto nei pazienti affetti da AI. Effetti ormai stabiliti includono la stimolazione della proteina C-reattiva, della proteina amiloide A, della molecola di adesione VCAM, così come l'inibizione degli inibitori delle metalloproteasi. L'IL-1 α e il TNF- α sono i mediatori delle risposte immunologiche. Migrano all'area di infiammazione o sono rilasciati localmente dall'endotelio vascolare. L'IL-1 α induce la sintesi ed il rilascio di IL-6 e IL-6R nel miocardio ischemico.

È stato dimostrato che l'IL-1 β gioca un ruolo nella destabilizzazione della placca. Essa viene prodotta da diversi tipi di cellule, principalmente dai macrofagi ed anche dalle cellule endoteliali, linfociti B e fibroblasti. Questa citochina stimola le cellule B e T e induce una reazione infiammatoria attraverso la formazione di prostaglandine ed enzimi degradanti come le collagenasi. Nelle placche ateromatose, inoltre, essa stimola la sintesi del DNA delle cellule muscolari lisce, causando proliferazione cellulare⁶³. L'IL-1 β attiva un'intera cascata di citochine. Nel miocardio ischemico stimola la sintesi e il rilascio di IL-6.

Il CD40 ligand mostra la facoltà, non solo di promuovere l'espressione di molecole di adesione come la VCAM-1, ma anche di attivare la caspasi-1 (coinvolta nei processi di maturazione delle citochine e nell'apoptosi), di promuovere l'espressione della stromelisin 3 (un enzima di degradazione del connettivo molto presente nel rimodellamento arterioso) e di indurre la produzione nei macrofagi di fattore tissutale. Il blocco sperimentale di questa citochina ha indotto l'arresto della progressione e un cambiamento strutturale dell'ateroma con una preponderanza di cellule muscolari lisce, collagene ed una riduzione di cellule infiammatorie, tutte caratteristiche trovate più spesso nelle placche che danno raramente complicanze⁶⁴.

Citochine e sindromi coronariche acute

È correntemente riconosciuto che l'aterosclerosi rappresenta una patologia immuno-mediata³. Una risposta infiammatoria periferica è stata documentata in associazione con l'AI e sembra riflettere sia l'attività in-

fiammatoria all'interno della placca sia la sua vulnerabilità, vale a dire la sua propensione alla rottura. La SCA risulta proprio dall'instabilizzazione e rottura della placca aterosclerotica. Quest'ultima avviene al livello del cappuccio fibroso, che va incontro ad un progressivo assottigliamento, come risultato dello sbilanciamento dei fattori pro-infiammatori rispetto agli anti-infiammatori. Da un lato, infatti, sono i macrofagi che producono enzimi di degradazione tissutale, ovvero metallo-proteinasi, in risposta alla stimolazione dei linfociti T, i quali invece possono direttamente produrre IFN- γ , che inibisce la sintesi di collagene. Dall'altro le cellule muscolari lisce presenti nelle placche controbilanciano i processi degradativi dei tessuti producendo collagene. Sia i macrofagi sia i linfociti inoltre secernono una serie di mediatori, tra cui le citochine, che, interagendo tra loro, amplificano e perpetuano il processo infiammatorio fino alla rottura della placca. Infatti i pazienti che manifestano una SCA hanno livelli sierici elevati di proteina C-reattiva e di citochine pro-infiammatorie, come IL-1, IL-6, IL-8⁶⁵⁻⁶⁹ e IL-18. L'antagonista del recettore dell'IL-1 e l'IL-6 sono associati con una prognosi peggiore in questi pazienti^{65,67,69}.

Valori elevati di IL-6 e di proteina C-reattiva sono stati più volte riscontrati nei pazienti affetti da AI o da IMA e la concentrazione di entrambi correla sia con l'intensità sia con la disseminazione della malattia, ma non con la localizzazione della placca che ostruisce l'arteria⁶³. Un aumento dei livelli di proteina C-reattiva e IL-6 può riflettere l'intensità della reazione infiammatoria nel vaso nei pazienti con angina instabile⁷⁰. L'aumento delle concentrazioni plasmatiche sia di questa IL sia del suo recettore è strettamente associato alla reazione infiammatoria e al danno miocardico nell'IMA. Sia l'IL-6 sia la proteina C-reattiva possono determinare suscettibilità alla rottura della placca. In alcuni studi, i livelli di IL-6 hanno mostrato un potere predittivo simile a quello della proteina C-reattiva, ma addirittura con una maggiore sensibilità⁷¹. Inoltre, i pazienti che avevano livelli di IL-6 permanentemente elevati dopo la dimissione dall'ospedale mostravano una peggiore prognosi anche nel follow-up⁶⁴.

È stato dimostrato per l'IL-8 un picco precoce nell'AI; questa citochina sembra essere implicata nell'instabilizzazione clinica di questi pazienti attraverso l'incremento dello stress ossidativo e dell'apoptosi all'interno della placca aterosclerotica⁷². Non si è però dimostrato che essa sia correlata alle dimensioni dell'IMA, né ad una ri-perfusione efficace, né alla terapia somministrata.

Zhou et al.⁷² hanno dimostrato che i livelli sierici di IL-12 sono elevati nei pazienti con IMA, suggerendo che l'IL-12 potrebbe essere coinvolta nella fisiopatologia delle SCA. In un recente studio gli autori hanno dimostrato come la concentrazione sierica di tale citochina era più elevata nel siero dei pazienti con AI e con AS, rispetto agli individui sani appartenenti alla popolazione di controllo⁷³.

Precedenti studi hanno dimostrato la presenza di elevati livelli dell'IL-18 nelle SCA con o senza necrosi miocardica⁷³⁻⁷⁵, che le concentrazioni plasmatiche di tale IL correlano con la severità della disfunzione miocardica (attraverso l'aumentata produzione di mediatori pro-infiammatori, come il TNF- α e l'ossido nitrico, implicati nella depressione della contrattilità miocardica e nella perdita dei cardiomiociti) e che rappresenta un forte predittore di morte cardiaca nei pazienti con AS e AI, indipendentemente dagli altri fattori di rischio e caratteristiche cliniche come la frazione di eiezione⁷⁶. L'associazione osservata con i futuri eventi cardiovascolari sembrava differente da quella osservata con altri elementi della fase acuta, come proteina C-reattiva ad alta sensibilità (hs-CRP), IL-6, o fibrinogeno, con i quali ha mostrato solo una debole correlazione. Inoltre il potere predittivo di questi altri parametri, a differenza di quello dell'IL-18, diminuiva quando i calcoli statistici venivano corretti per la frazione di eiezione⁷⁶. Nel sottogruppo di pazienti affetti da AI, i livelli di hs-CRP correlavano con i livelli di troponina I, invece i livelli di IL-18, non correlavano, suggerendo che l'elevazione di questa interleuchina non è una conseguenza di un danno da ri-perfusione⁷⁶.

Recenti studi hanno mostrato livelli sierici di IL-10 diminuiti nei pazienti con SCA^{73,77}, mentre elevati livelli sierici sono associati ad un significativo miglioramento della prognosi di tali pazienti e il valore predittivo era indipendente dai livelli di troponina, inoltre i ridotti livelli sierici di tale citochina non sembrano solo un marker di instabilità della placca, ma sono indicativi di una prognosi peggiore nei pazienti con SCA⁷⁸. Questi dati supportano ulteriormente il concetto che la bilancia tra citochine pro-infiammatorie ed anti-infiammatorie è il maggior determinante dell'outcome dei pazienti nelle SCA, come è dimostrato da un lavoro di Waehre et al.⁷⁹, che ha evidenziato in pazienti con AI un disequilibrio tra TNF- α e IL-10 con un risultante effetto netto finale pro-infiammatorio. Ancora a conferma dello squilibrio del balance citochinico è il lavoro di Yamashita et al.⁷³ che ha dimostrato che i livelli di hs-CRP erano significativamente correlati con le citochine pro-infiammatorie (IL-6, IL-12, IL-18), ma negativamente correlati con la citochina antinfiammatoria (IL-10) e che i livelli di IL-12 e di IL-18 (entrambe citochine pro-infiammatorie) erano positivamente correlati tra loro, ma negativamente correlati con IL-10, per cui i risultati hanno evidenziato uno stato dominante di tipo Th1 nei pazienti con AS ed AI.

La sintesi massiva di citochine infiammatorie può avere ripercussioni estremamente gravi sul quadro clinico immediato. Il rilascio massivo di TNF- α ha, infatti, effetti drammatici su funzione ventricolare sinistra, funzione vasodilatatoria e ulteriore attivazione infiammatoria in un circolo vizioso che può portare allo shock cardiogeno^{80,81}.

Recentemente gli autori hanno focalizzato la loro attenzione sull'antagonista del recettore dell'IL-1

(IL-1Ra), di cui è stato dimostrato un ruolo come marker diagnostico precoce in pazienti con IMA⁸²; in tali pazienti elevati valori della suddetta citochina misurati precocemente possono precedere il rilascio di enzimi di necrosi e possono correlare significativamente con l'estensione della necrosi miocardica ed essere predittivi di eventi intraospedalieri⁸³. Inoltre questa citochina si è dimostrata come marker prognostico sensibile in pazienti con SCA sottoposti ad angioplastica coronarica^{84,85}.

Contraddittori sono, invece, i risultati dell'IL-2 nei pazienti affetti da SCA. Mizia-Stec et al.⁸⁶ hanno dimostrato livelli plasmatici più elevati di tale citochina nei pazienti con IMA e AI rispetto ai pazienti con AS e ad un gruppo di controllo. Invece precedentemente il gruppo di Mazzone⁸⁷ aveva dimostrato un aumento dell'IL-2 sia nell'AS sia nell'AI rispetto al gruppo di controllo, mostrando come i pazienti con cardiopatia ischemica comunque dimostrassero elevati valori di IL-2 rispetto alla popolazione di controllo, indipendentemente dalla presentazione clinica. Simon et al.⁸⁸ hanno dimostrato che i livelli medi di tale IL sono più elevati nel gruppo dei pazienti con AS rispetto ai pazienti con AI. Tokac et al.⁸⁹ invece hanno evidenziato una graduale diminuzione dei livelli sierici della suddetta IL nei pazienti con AI e in quelli sottoposti ad angioplastica percutanea.

Farmaci che influenzano la concentrazione plasmatica delle citochine

Evidenze cliniche e sperimentali derivate da grossi trial clinici hanno stabilito un'azione anti-infiammatoria, oltre che di riduzione dei lipidi, degli inibitori delle HMG-CoA redattasi, le cosiddette "statine"⁹⁰. Le statine si sono dimostrate capaci di bloccare la prenilazione di molte proteine che sono coinvolte nella traduzione del segnale, nella contrattilità e nell'espressione genica. Queste proteine comprendono membri delle proteine *ras*, *Rho* e della proteina *G*. Una riduzione significativa degli eventi vascolari è stata notata indipendentemente dai livelli lipidici⁹¹. In uno studio su placche carotidee sintomatiche è stato dimostrato che la terapia statinica può influenzare la composizione della placca e diminuire l'apoptosi e l'attività delle metallo-proteinasi⁹². Inoltre, la terapia con statine è stata associata ad una riduzione dei livelli sierici della proteina C-reattiva⁹⁰. Contraddittori sono, invece, gli studi sugli effetti della somministrazione di statine sulle concentrazioni plasmatiche delle IL; in un lavoro del 2003⁹³, i livelli sierici di IL-8, a differenza di quelli di proteina C-reattiva e IL-6, non erano influenzati dalla terapia con cerivastatina, così come non sono state riscontrate sostanziali modificazioni a carico dell'IL-6 dopo trattamento precoce con pravastatina in pazienti con IMA⁹⁴. Anche nello studio MIRACL⁹⁵ non si è dimostrata una sostanziale riduzione dell'IL-6 dopo trattamento con atorvastatina, probabilmente, come sostengono gli autori, a

causa della grande variabilità diurna di tale IL e di una più breve emivita rispetto a quella della proteina C reattiva e della proteina amiloide.

Conclusioni

La determinazione in circolo dei marcatori di flogosi ha permesso una svolta nello studio delle SCA, permettendo di discriminare sottogruppi di pazienti a maggior rischio di eventi fatali e di nuovi eventi cardiovascolari. Si può così prevedere che la misurazione della concentrazione plasmatica delle citochine pro-infiammatorie nei pazienti suddetti assumerà nel futuro un'importanza clinica sempre maggiore, che permetterà di individuare terapie mirate per determinati sottogruppi di pazienti. Bisogna, allora, porsi nuovi obiettivi alla luce dei risultati delle più recenti ricerche cliniche e di laboratorio, per ottimizzare al meglio queste scoperte. D'altra parte, dal momento che un incremento dei livelli sierici di alcune citochine si può riscontrare anche in pazienti affetti da altre patologie sistemiche, senza che questi sviluppino mai una SCA, si auspicano nuovi studi di approfondimento sul nesso tra infiammazione e ischemia miocardica, per addivenire a nuovi modelli interpretativi della cardiopatia ischemica.

Riassunto

La scoperta che l'infiammazione è in relazione con le cause predisponenti e precipitanti della cardiopatia ischemica, ha stimolato lo studio dei marker infiammatori nei pazienti affetti da sindrome coronaria acuta. Anche se il marker clinicamente più utilizzato resterà per molti anni la proteina C-reattiva, le citochine sono destinate ad essere sempre più studiate per chiarire i diversi momenti fisiopatologici delle sindromi coronariche acute e per svelare il loro ruolo pro o anti-infiammatorio. In questa breve rassegna sono riassunti i risultati più importanti delle ricerche sul ruolo ed il comportamento di alcune citochine non ancora ben studiate in questo sottogruppo di pazienti (interleuchina [IL]-8, IL-10, IL-18, IL-2, fattore di necrosi tumorale- α , interferone- γ), le conseguenze certe e le prospettive future sul piano clinico e scientifico di queste scoperte.

Parole chiave: Cardiopatia ischemica; Citochine; Infiammazione.

Bibliografia

1. Chockalingam A, Balaguer-Vintro I. Impeding global pandemic of cardiovascular disease; challenges and opportunities for the prevention and control of cardiovascular diseases in developing countries and economies in transition. Barcellona: Prous Science, 1999.
2. American Heart Association. 1999 Heart and stroke statistical update. Dallas, TX: American Heart Association, 1998.
3. Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. N Engl J Med 1999; 340: 115-26.
4. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, et al. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial

- infarction: summary article. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 970-1062.
5. Cotran RS, Kumar V, Robbins M. Le basi patologiche delle malattie. V edizione. Padova: Piccin, 1994.
 6. Wayne AR, Schlant RC, Fuster V, O'Rourke RA, Roberts R, Sonnenblyk EH. Hurst - Il cuore. Arterie e vene. IX edizione. Milano: McGraw-Hill, 1999.
 7. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr, Libby P. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 197-204.
 8. Cybulsky MI, Iiyama K, Li H, et al. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001; 107: 1255-62.
 9. Topper JN, Cai J, Falb D, Gimbrone MA Jr. Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 10417-22.
 10. De Caterina R, Libby P, Peng HB, et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 1995; 96: 60-8.
 11. 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: 885-91.
 12. Lee RT, Yamamoto C, Feng Y, et al. Mechanical strain induces specific changes in the synthesis and organization of proteoglycans by vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 2001; 276: 13847-51.
 13. Gu L, Okada Y, Clinton SK, et al. Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Mol Cell* 1998; 2: 275-81.
 14. 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: 894-7.
 15. Mach F, Sauty A, Iarossi AS, et al. Differential expression of three T lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells. *J Clin Invest* 1999; 104: 1041-50.
 16. Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, Grigaux C, Tian J, Miyata M. Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 8264-8.
 17. Qiao JH, Tripathi J, Mishra NK, et al. Role of macrophage colony-stimulating factor in atherosclerosis: studies of osteopetrotic mice. *Am J Pathol* 1997; 150: 1687-99.
 18. Hansson G, Libby P: The role of the lymphocyte. In: Fuster V, Ross R, Topol E, eds *Atherosclerosis and coronary artery disease*. New York, NY: Lippincott-Raven, 1996: 557-68.
 19. Libby P, Geng YJ, Aikawa M, et al. Macrophages and atherosclerotic plaque stability. *Curr Opin Lipidol* 1996; 7: 330-5.
 20. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndrome. *Circulation* 2001; 104: 365-72.
 21. Libby P, Simon DI. Inflammation and thrombosis: the clot thickens. *Circulation* 2001; 103: 1718-20.
 22. Andre P, Nannizzi-Alaimo L, Prasad KS, Philips DR. Platelet-derived CD40L: the switch-hitting player of cardiovascular disease. *Circulation* 2002, 106: 896-9.
 23. Andre P, Prasad KS, Denis CV, et al. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin-dependent mechanism. *Nat Med* 2002, 8: 247-52.
 24. Aukrust P, Waehre T, Damas JK, Gullestad L, Solum NO. Inflammatory role of platelets in acute coronary syndromes. *Heart* 2001 86: 605-6.
 25. Schonbeck U, Libby P. CD40 signaling and plaque instability. *Circ Res* 2001; 89: 1092-103.
 26. Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, Weber D, Virmani R. Morphological predictors of arterial remodeling in coronary atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 297-303.
 27. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1135-43.
 28. Mallat Z, Tedgui A. Current perspective on the role of apoptosis in the atherothrombotic disease. *Circ Res* 2001; 88: 998-1003.
 29. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Immunologia cellulare e molecolare*. Padova: Piccin Editore, 1994.
 30. Kishimoto T, Taga T, Akira S. Cytokine signal transduction. *Cell* 1994, 76: 253-62.
 31. Uyemura K, Demer LL, Castle SC, et al. Cross-regulatory roles of interleukin (IL)-12 and IL-10 in atherosclerosis. *J Clin Invest* 1996; 97: 2130-8.
 32. Qin S, Rottman JB, Myers P, et al. The chemokine receptor CXCR3 and CCR5 mark subset of T cells associated with certain inflammatory reactions. *J Clin Invest* 1998; 101: 746-54.
 33. Hajjar DP, Haberland ME. Lipoprotein trafficking in vascular cells. Molecular Trojan horses and cellular saboteurs. *J Biol Chem* 1997; 272: 22975-8.
 34. Price DT, Loscalzo J. Cellular adhesion molecules and atherogenesis. *Am J Med* 1999; 107: 85-97.
 35. Lee TS, Yen HC, Pan CC, Chau LY. The role of interleukin 12 in the development of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 734-42.
 36. Amento EP, Ehsani N, Palmer H, Libby P. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 1223-30.
 37. 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.
 38. Fernandes JL, Mamoni RL, Orford JL, et al. Increased Th1 activity in patients with coronary artery disease. *Cytokine* 2004; 26: 131-7.
 39. Okamura H, Tsutsui H, Komatsu T, et al. Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. *Nature* 1995; 378: 88-91.
 40. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 2844-50.
 41. Gupta S, Pablo AM, Jiang X, Wang N, Tall AR, Schindler C. IFN-gamma potentiates atherosclerosis in ApoE knockout mice. *J Clin Invest* 1997; 99: 2752-61.
 42. Dinarello CA, Novick D, Puren AJ, et al. Overview of interleukin-18: more than an interferon-gamma inducing factor. *J Leukoc Biol* 1998; 63: 658-64.
 43. Dinarello CA. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine. *Eur Cytokine Netw* 2000; 11: 483-6.
 44. McInnes IB, Gracie JA, Leung BP, Wei XQ, Liew FY. Interleukin 18: a pleiotropic participant in chronic inflammation. *Immunol Today* 2000; 21: 312-5.
 45. Okamura H, Tsutsumi H, Kashiwamura S, Yoshimoto T, Nakanishi K. Interleukin-18: a novel cytokine that augments both innate and acquired immunity. *Adv Immunol* 1998; 70: 281-312.
 46. Takeda K, Tsutsui H, Yoshimoto T, et al. Defective NL cell

- activity and Th1 response in IL-18-deficient mice. *Immunity* 1998; 8: 383-90.
47. Gerdes N, Sukhova GK, Libby P, Reynolds RS, Young JL, Schonbeck U. Expression of interleukin (IL)-18 and functional IL-18 receptor on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for atherogenesis. *J Exp Med* 2002; 195: 245-57.
 48. Mallat Z, Corbaz A, Scazecz A, et al. Expression of interleukin-18 in human atherosclerotic plaques and relation to plaque instability. *Circulation* 2001; 104: 1598-603.
 49. Whitman SC, Ravisankar P, Daugherty A. Interleukin-18 enhances atherosclerosis in apolipoprotein E(-/-) mice through release of interferon-gamma. *Circ Res* 2002; 90: E34-E38.
 50. Mallat Z, Corbaz A, Scazecz A, et al. Interleukin-18/interleukin-18 binding protein signaling modulates atherosclerotic lesion development and stability. *Circ Res* 2001; 89: E41-E45.
 51. Mallat Z, Besnard S, Duriez M, et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ Res* 1999; 85: e17-e24.
 52. Wang P, Wu P, Siegel MI, Egan RW, Billah MM. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF Kappa B) activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. *J Biol Chem* 1995; 270: 9558-63.
 53. Lacraz S, Nicod LP, Chicheportiche R, Welgus HG, Dayer JM. IL-10 inhibits metalloproteinase and stimulates TIMP-1 production in human mononuclear phagocytes. *J Clin Invest* 1995; 96: 2304-10.
 54. Lindmark E, Tenno T, Chen J, Siegbahn A. IL-10 inhibits LPS-induced human monocyte tissue factor expression in whole blood. *Br J Haematol* 1998; 102: 597-604.
 55. Arai T, Hiromatsu K, Nishimura H, et al. Endogenous interleukin 10 prevents apoptosis in macrophages during Salmonella infection. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 213: 600-7.
 56. Geng Y, Shane RB, Berencsi K, et al. Chlamydia pneumoniae inhibits apoptosis in human peripheral blood mononuclear cells through induction of IL-10. *J Immunol* 2000; 164: 5522-9.
 57. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunctions: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 972-8.
 58. Pinderski LJ, Fishbein MP, Subbanagounder G, et al. Overexpression of interleukin-10 by activated T lymphocytes inhibits atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice by altering lymphocyte and macrophage phenotypes. *Circ Res* 2002; 90: 1064-71.
 59. Pinderski Oslund LJ, Hedrick CC, Olvera T, et al. Interleukin-10 blocks atherosclerosis events in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2847-53.
 60. Yang Z, Zingarelli B, Szabo C. Crucial role of endogenous interleukin-10 production in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 2000; 101: 1019-26.
 61. Hirano T. Interleukin-6 and its receptor: ten years later. *Int Rev Immunol* 1998; 16: 249-84.
 62. Woods A, Brull DJ, Humphries SE, Montgomery HE. Genetics of inflammation and risk of coronary artery disease: the central role of interleukin-6. *Eur Heart J* 2000; 21: 1574-83.
 63. Bossowska A, Kiersnowska-Rogowska B, Bossowski A, Galar B, Sowinski P. Cytokines in patients with ischaemic heart disease of myocardial infarction. *Kardiologia Pol* 2003; 59: 105-14.
 64. Pristipino C. Le citochine nella cardiopatia ischemica. Atti del corso di formazione. *Citochine* 2004, attualità nell'impiego clinico in area critica. Roma, 2005: 25-31.
 65. Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G, et al. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation* 1996; 94: 874-7.
 66. Manton A, de Winter RJ, Minnema MC, et al. Procoagulant and proinflammatory activity in acute coronary syndromes. *Cardiovasc Res* 1998; 40: 389-95.
 67. Biasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi A, et al. Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation* 1999; 99: 2079-84.
 68. Simon AD, Yazdani S, Wang W, Schwartz A, Rabbani LE. Circulating levels of IL-1beta, a prothrombotic cytokine, are elevated in unstable angina versus stable angina. *J Thromb Thrombolysis* 2000; 9: 217-22.
 69. Neumann FJ, Ott I, Gawaz M, et al. Cardiac release of cytokines and inflammatory responses in acute myocardial infarction. *Circulation* 1995; 92: 748-55.
 70. Rifai N, Joubran R, Yu H, Asmi M, Jouma M. Inflammatory markers in men with angiographically documented coronary heart disease. *Clin Chem* 1999; 45: 1967-73.
 71. Biasucci LM, Liuzzo G, Colizzi C, Rizzello V. Clinical use of C-reactive protein for the prognostic stratification of patients with ischemic heart disease. *Ital Heart J* 2001; 2: 164-71.
 72. Zhou RH, Shi Q, Gao HQ, Shen BJ. Changes in serum interleukin-8 and interleukin-12 levels in patients with ischemic heart disease in a Chinese population. *J Atheroscler Thromb* 2001; 8: 30-2.
 73. Yamashita H, Shimada K, Seki E, Mokuno H, Daida H. Concentrations of interleukins, interferon, and C-reactive protein in stable and unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 2003; 91: 133-6.
 74. Mallat Z, Henry P, Fressonnet R, et al. Increased plasma concentrations of interleukin-18 in acute coronary syndromes. *Heart* 2002; 88: 467-9.
 75. Seta Y, Kanda T, Tanaka T, et al. Interleukin-18 in acute myocardial infarction. *Heart* 2000; 84: 668.
 76. Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, for the AtheroGene Investigators. Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable angina and unstable angina. *Circulation* 2002; 106: 24-30.
 77. Smith DA, Irving SD, Sheldon J, Cole D, Kaski JC. Serum levels of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 are decreased in patients with unstable angina. *Circulation* 2001; 104: 746-9.
 78. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, for the CAPTURE Study Investigators. Serum level of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 107: 2109-14.
 79. Waehre T, Halvorsen B, Damas JK, et al. Inflammatory imbalance between IL-10 and TNFalpha in unstable angina potential plaque stabilizing effects of IL-10. *Eur J Clin Invest* 2002; 32: 803-10.
 80. Wan S, Yim AP. Cytokines in myocardial injury: impact on cardiac surgical approach. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999; 16 (Suppl 1): S107-S111.
 81. Herrera Garza E, Herrera Garza JL, Rodriguez Gonzales H, Trevino Trevino A, Ibarra Flores M, Torre Amione G. Importance of tumor necrosis factor-alpha in the pathogenesis of heart failure. *Rev Esp Cardiol* 2002; 55: 61-6.
 82. Patti G, D'Ambrosio A, Mega S, et al. Early interleukin-1 receptor antagonist elevation in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 35-8.
 83. Patti G, Mega S, Pasceri V, et al. Interleukin-1 receptor antagonist levels correlate with extent of myocardial loss in patients with acute myocardial infarction. *Clin Cardiol* 2005; 28: 193-6.
 84. Patti G, Di Sciascio G, D'Ambrosio A, Dicunzio G, Abbate A,

- Dobrina A. Prognostic value of interleukin-1 receptor antagonist in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2002; 89: 372-6.
85. Patti G, Di Sciascio G, D'Ambrosio A, Dicuonzo G, Abbate A, Dobrina A. Inflammatory markers and coronary interventions: a potentially useful follow-up modality after stenting. *Catheter Cardiovasc Interv* 2002; 56: 341-5.
86. Mizia-Steć K, Gasior Z, Zahorska-Markiewicz B, et al. Serum tumour necrosis factor-alpha, interleukin-2 and interleukin-10 activation in stable angina and acute coronary syndromes. *Coron Artery Dis* 2003; 14: 431-8.
87. Mazzone A, De Servi S, Vezzoli M, et al. Plasma levels of interleukin 2, 6, 10 and phenotypic characterization of circulating T lymphocytes in ischemic heart disease. *Atherosclerosis* 1999; 145: 369-74.
88. Simon AD, Yazdani S, Wang W, Schwartz A, Rabbani LE. Elevated plasma levels of interleukin-2 and soluble IL-2 receptor in ischemic heart disease. *Clin Cardiol* 2001; 24: 253-6.
89. Tokac M, Ozeren A, Aktan M, et al. The role of inflammation markers in triggering acute coronary events. *Heart Vessels* 2003; 18: 171-6.
90. Plenge JK, Hernandez TL, Weil KM, et al. Simvastatin lowers C-reactive protein within 14 days: an effect independent of low-density lipoprotein cholesterol reduction. *Circulation* 2002; 106: 1447-52.
91. Heart Protection Study Collaborative Group. 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.
92. Crisby M, Nordin-Fredriksson G, Shah PK, Yano J, Zhu J, Nilsson J. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization. *Circulation* 2001; 103: 926-33.
93. Ostadal P, Alan D, Hajek P, et al. The effect of early treatment by cerivastatin on the serum level of C-reactive protein, interleukin-6, and interleukin-8 in the patients with unstable angina and non-Q wave myocardial infarction. *Mol Cell Biochem* 2003; 246: 45-50.
94. Gonzalez M, Ruiz Ros JA, Perez-Paredes M, et al. Effect of the early administration of pravastatin on C-reactive protein and interleukin-6 levels in the acute phase of myocardial infarction with ST segment elevation. *Rev Esp Cardiol* 2004; 57: 916-23.
95. Kinlay S, Schwartz GG, Olsson AG, for the Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering Study Investigators. High-dose atorvastatin enhances the decline in inflammatory markers in patients with acute coronary syndromes in the MIRACL study. *Circulation* 2003; 108: 1560-6.