

Ruolo dei mediatori dell'infiammazione nella patogenesi dello scompenso cardiaco

Federica Vigliani Boglioni, Marco Metra, Massimo Locati*, Savina Nodari, Luca Bontempi, Maria Garbellini, Andrea Doni[§], Giuseppe Peri[§], Alberto Mantovani*[§]

*Cattedra di Cardiologia, *Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie, Sezione di Patologia Generale e Immunologia, Università degli Studi, Brescia, §Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri", Milano*

Key words:

C-reactive protein;
Heart failure;
Pathogenesis;
Pentraxin 3;
Proinflammatory cytokines.

A number of factors are involved in congestive heart failure pathogenesis. Among these, inflammatory mediators could have a crucial role.

Patients with congestive heart failure show increased plasma levels of "proinflammatory cytokines", in particular tumor necrosis factor- α and interleukin-6.

Clinical and experimental models have demonstrated that these cytokines induce left ventricular dysfunction, pulmonary edema, ventricular remodeling, skeletal muscle abnormalities, myocyte apoptosis and endothelial dysfunction, suggesting the possibility that increased plasma concentration of cytokines could not be just an epiphenomenon, but an effective pathogenetic mechanism of disease progression.

Additional inflammatory proteins involved in the acute phase response could play a part in the pathogenesis of heart failure.

Pentraxin 3 is a prototypical long pentraxin, structurally related, although with different functions, to C-reactive protein, is produced by immune system cells, fibroblasts and particularly by cardiac endothelial cells and myocytes, as demonstrated in murine and human models. Its synthesis is rapidly induced after exposition to bacterial lipopolysaccharide and proinflammatory cytokines, as interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α .

In heart diseases, pentraxin 3 could be involved in the acute local inflammatory response to myocardial injury (e.g. necrosis) and in heart failure pathogenetic mechanisms, but its exact role is not yet settled.

Defining the specific part played by these molecules in the pathogenesis of heart failure could lead to new therapeutic approaches in the treatment of cardiac insufficiency.

(Ital Heart J Suppl 2001; 2 (6): 628-633)

© 2001 CEPI Srl

Premio Giovani Ricercatori, SIC 2000.

Ricevuto il 10 gennaio 2001; accettato il 19 febbraio 2001.

Per la corrispondenza:

Dr.ssa Federica Vigliani Boglioni

Cattedra di Cardiologia
Università degli Studi
Spedali Civili
Piazzale Spedali Civili, 1
25123 Brescia

Introduzione

La sindrome dello scompenso cardiaco è stata interpretata secondo varie ipotesi fisiopatologiche. Considerata inizialmente un puro disordine emodinamico e successivamente il risultato di uno squilibrio del sistema neuroumorale, è stata più recentemente associata ad una "ipotesi infiammatoria"^{1,2}, dopo che numerose evidenze sia cliniche che sperimentali vi hanno riportato il coinvolgimento di citochine proinfiammatorie primarie.

Citochine infiammatorie ed insufficienza cardiaca

Le prime osservazioni che associavano mediatori solubili del sistema immune allo scompenso cardiaco sono rappresentate dal riscontro di elevati livelli plasmatici di una citochina proinfiammatoria primaria (fattore

di necrosi tumorale- α , TNF- α) nel plasma di pazienti affetti da insufficienza cardiaca³. Questa osservazione ha aperto la strada allo studio del ruolo dei mediatori dell'infiammazione nella patogenesi dello scompenso cardiaco. La maggior parte degli studi ha documentato un aumento dei livelli di TNF- α e di interleuchina (IL)-6³⁻¹⁷, mentre le concentrazioni delle altre citochine^{9,10,18} normalmente non sono significativamente modificate.

I livelli di TNF- α e di IL-6 sono aumentati soprattutto nei pazienti con sintomi più gravi, ed esiste una correlazione diretta tra le loro concentrazioni, la classe funzionale NYHA e, in particolare in alcuni studi, il grado di compromissione emodinamica⁵⁻¹⁷. In alcuni studi i livelli di TNF- α sono risultati predittivi, ad analisi sia univariate che multivariate, di decorso clinico peggiore, mentre dati tratti dallo studio SOLVD hanno mostrato una tendenza verso una maggior mortalità nei pazienti con livelli di TNF- α più elevati¹⁹.

Più recentemente in pazienti scompensati è stato inoltre dimostrato un significativo aumento dei recettori di tipo II del TNF- α , correlato sia con la severità dell'insufficienza cardiaca che con la prognosi dei pazienti. Questi recettori agiscono infatti da meccanismo di deposito circolante di TNF- α , in quanto sono in grado di neutralizzarne un eccessivo incremento, ma sono anche in grado di liberarlo progressivamente a lungo termine²⁰.

Una relazione di causa-effetto tra citochine proinfiammatorie e scompenso cardiaco non è ancora posta in modo definitivo, tuttavia numerosi autori ritengono che TNF- α e IL-6 contribuiscano in modo diretto ai sintomi clinici dello scompenso cardiaco ed alla sua progressione. A sostegno di tale posizione, in alcuni studi clinici questi mediatori sono stati associati allo sviluppo di disfunzione ventricolare sinistra²¹, edema polmonare²¹, cardiomiopatia¹⁴, riduzione del flusso ematico periferico²², ridotta dilatazione dei vasi periferici in risposta all'aumento del flusso sanguigno e aumento del catabolismo delle proteine nel muscolo scheletrico²³, che globalmente cooperano all'instaurarsi di intolleranza allo sforzo, il sintomo principale del paziente scompensato.

Ancora più suggestivi di un effetto diretto di questi mediatori sulla progressione dello scompenso cardiaco sono gli studi sperimentali, da cui emerge come TNF- α e IL-6 siano in grado di agire sia a livello delle cellule endoteliali^{24,25} sia dei fibroblasti²⁶ e dei miociti.

I principali fenomeni associati al rimodellamento miocardico, quali l'ipertrofia del miocita²⁷, l'apoptosi dei miociti e delle cellule endoteliali²⁸, il disaccoppiamento dei β -recettori dall'adenilato ciclasi²⁹, l'attivazione di geni fetali^{30,31}, la riduzione delle proteine regolatorie del calcio intracellulare³², e l'aumentata degradazione da parte delle metalloproteasi della matrice extracellulare³³, possono essere tutti causati dall'effetto di queste citochine sul cuore³¹. Queste molecole inoltre hanno effetti negativi diretti sulla concentrazione della nitrossido-sintetasi costitutiva delle cellule endoteliali, mentre stimolano la nitrossido-sintetasi inducibile³⁴ e ne alterano l'espressione bilanciata nel miocardio e nell'endotelio cardiaco. L'alterata produzione di nitrossido a livello cardiaco può poi causare una riduzione della contrattilità e indurre apoptosi cellulare.

Infine, vi è più di un punto di contatto tra ipotesi citochinica, stress ossidativo e scompenso cardiaco. I metaboliti ossidanti infatti, qualora inadeguatamente antagonizzati dagli antiossidanti, inducono disfunzione ed attivazione endoteliale³⁵, mediano lo stunning miocardico, inducono l'espressione di protoncogeni³⁶ e contribuiscono all'apoptosi³⁷. Citochine come TNF- α e IL-6 depletano le riserve intracellulari di antiossidanti, e stimolano la produzione cellulare di radicali dell'ossigeno³⁸, che mediante interazione con le chinasi attivate dallo stress³⁹ determinano modificazione dell'espressione genica e infiammazione⁴⁰.

Vi sono ancora molte incertezze riguardo all'origine ed agli stimoli necessari per incrementare la sintesi delle citochine proinfiammatorie nel cuore scompensato. Il fatto che la maggior parte delle citochine agisca in modo autocrino e paracrino suggerisce che la loro fonte principale possa essere il cuore stesso. Ciò è stato confermato dalla recente osservazione della presenza di TNF- α nel cuore umano scompensato ma non in quello sano¹⁵.

Dati recenti sulla produzione tessuto-specifica di TNF- α nei miociti di topi transgenici⁴¹, hanno confermato che l'iperespressione di TNF- α da parte dei miociti è sufficiente per determinare un fenotipo del tutto sovrapponibile a quello della cardiomiopatia dilatativa.

Lo stimolo preciso per l'aumento di sintesi di TNF- α deve ancora essere chiarito, ma si ritiene che possa essere indipendente dalle cause dello scompenso cardiaco³². Alcuni suggeriscono che l'aumento della prostaglandina E₂ che si osserva in condizioni di scompenso possa stimolare la produzione di TNF- α ⁴², altri che sia indotto dall'attivazione macrofagica determinata dall'ipossia locale⁴³, altri ancora ipotizzano una stimolazione delle cellule immunitarie ad opera di batteri e di tossine che vengono patologicamente assorbiti dai vasi della parete intestinale. Nello scompenso cardiaco congestizio si verifica infatti un'alterazione della funzione di barriera dell'intestino a causa dell'edema interstiziale causato dall'aumento della pressione nei vasi splanchnici^{44,45}.

Meno definito è il ruolo nell'insufficienza cardiaca di altre citochine quali IL-1 β , IL-2 e interferone- γ , le cui concentrazioni plasmatiche sono state valutate in vari studi clinici con risultati contraddittori^{9,10,18}. Si può tuttavia supporre che in virtù della loro azione autocrina e paracrina esse possano svolgere effetti importanti a livello locale, miocardico, pur essendo dosabili con difficoltà nel plasma.

Altri mediatori infiammatori

Oltre ai fattori infiammatori sopra descritti, altre molecole potrebbero partecipare direttamente alla risposta infiammatoria che si verifica nello scompenso cardiaco. Tra queste, la famiglia delle pentraxine, comprendenti la proteina C reattiva (PCR), la componente P serica dell'amiloide (SAP) e pentraxina 3 (PTX3).

Le pentraxine sono una famiglia di proteine strutturalmente correlate, comprendenti pentraxine corte (o "classiche": la PCR e la SAP), ed una serie di molecole da poco identificate che definiscono la famiglia delle pentraxine lunghe, tra cui la meglio caratterizzata dal punto di vista biologico e molecolare è PTX3. La loro biosintesi è indotta da vari prodotti dell'infiammazione e dai fattori di necrosi tissutale, tra cui IL-1 β e TNF- α . Tra le funzioni biologiche descritte di queste molecole, la capacità di interagire con elementi del sistema del complemento e con fagociti suggerisce un ruolo di queste proteine nei meccanismi di difesa naturale.

La PCR è il capostipite delle pentraxine classiche. Questa proteina di fase acuta viene sintetizzata nel fegato in risposta al danno tissutale, all'infezione o all'infiammazione⁴⁶. Quando lo stimolo cessa, ad esempio con una terapia antimicrobica efficace, la concentrazione precipita rapidamente⁴⁷. In ambito cardiologico, questo marcatore di flogosi è stato correlato a differenti condizioni cliniche, assumendo significato sia diagnostico che prognostico. Il dosaggio della PCR è correlato con l'estensione del danno da infarto miocardico^{48,49}, ed è stato dimostrato che pazienti con cardiopatia postinfarto con segni di scompenso cardiaco, in assenza di infezione sistemica e malattia infiammatoria, hanno delle concentrazioni seriche di PCR elevate^{50,51}. Più recentemente è stata proposta come marker di una trombolisi efficace e della riperfusione precoce nell'infarto cardiaco⁵², ed il suo dosaggio in pazienti con angina instabile è risultato predittivo dell'incidenza di eventi cardiaci⁵³.

PTX3 è il prototipo delle pentraxine lunghe, ed è costituita da un dominio N-terminale strutturalmente correlato alle pentraxine classiche, e da un dominio C-terminale unico. PTX3 è stata clonata come gene indotto in cellule endoteliali⁵⁴ da IL-1 β e da TNF- α in fibroblasti⁵⁵ e lega C1q⁵⁶, il primo componente della via classica di attivazione del complemento. PTX3 mostra quindi similitudini strutturali e funzionali con le pentraxine classiche PCR e SAP.

In modelli murini, l'esposizione ad uno stimolo infiammatorio standard, come il lipopolisaccaride batterico, induce espressione ad alte concentrazioni di PTX3 nel cuore, prevalentemente nelle cellule endoteliali⁵⁷. Queste osservazioni hanno suggerito che PTX3 potesse rappresentare un nuovo indicatore di attivazione endoteliale e che potesse essere coinvolta nelle cardiopatie umane.

In effetti, PTX3 è indotta in modelli di infarto del miocardio nei ratti, mentre nell'uomo è stato osservato un significativo incremento di PTX3 nei pazienti con infarto miocardico acuto⁵⁸, con raggiungimento delle concentrazioni plasmatiche massime attorno alle 24 ore. Ad ulteriore dimostrazione della relativa indipendenza del sistema della PTX3 da altre citochine, in questi pazienti non è stata osservata correlazione tra PTX3 e PCR. Sempre in questo studio è stata inoltre dimostrata la possibile sintesi di PTX3 da parte degli stessi miociti.

Il significato patogenetico di PTX3 non è ancora definito. Dati recenti suggeriscono che PTX3 sia coinvolta nel reclutamento leucocitario, rappresentando quindi un possibile meccanismo di amplificazione del danno tissutale in condizioni infiammatorie, quali l'infarto miocardico acuto. Nell'ambito della patologia cardiovascolare non si hanno, tuttavia, ancora dati sufficienti per avanzare ipotesi su un possibile ruolo di questa molecola nelle malattie cardiache, ed in particolare non è ancora definita la funzione che essa può avere nell'insufficienza cardiaca.

Possibilità terapeutiche

La definizione del ruolo di citochine proinfiammatorie nello scompenso cardiaco, in particolare di TNF- α , potrà portare all'applicazione di nuove strategie terapeutiche nel trattamento dei pazienti affetti da tale sindrome. Analogamente, in caso di risultati favorevoli dopo blocco del sistema delle citochine, gli studi farmacologici potrebbero dimostrare un ruolo patogenetico diretto di questi mediatori nell'insufficienza cardiaca, anziché il coinvolgimento quale semplice epifenomeno, come avvenuto per i sistemi renina-angiotensina-aldosterone e simpato-adrenergico.

TNF- α non è presente nel cuore umano in condizioni fisiologiche^{59,60}, ma viene prontamente indotto da stimoli adeguati ed altrettanto velocemente degradato con la rimozione dello stesso⁵⁹. Si può quindi pensare che strategie terapeutiche atte a bloccare la trascrizione dell'RNA codificante o a facilitarne la degradazione possano ridurre l'espressione osservata nel cuore scompensato.

Alcuni farmaci che agiscono aumentando le concentrazioni di AMP ciclico intracellulare (pentossifilina⁶¹, dobutamina⁶², adenosina⁶³, vesnarinone e amrinone^{62,64,65}) sono in grado di impedire l'accumulo di mRNA codificante TNF- α e/o di bloccarne la trascrizione. La modulazione della produzione di TNF- α tramite l'alterazione dei livelli di AMP ciclico può essere quindi una futura opzione terapeutica, ma restano ancora dubbi sul potenziale effetto proaritmico degli aumentati livelli di AMP ciclico che tali farmaci inducono.

La talidomide possiede un potente effetto di riduzione dei livelli di TNF- α mediato dall'aumentata degradazione dell'RNA codificante⁶⁶, ma ha lo svantaggio di avere anche un effetto sedativo e, soprattutto, una nota azione teratogena.

I corticosteroidi interferiscono con la sintesi di TNF- α agendo sia a livello trascrizionale che traduzionale⁶⁷, e Parrillo et al.⁶⁸ hanno osservato che pazienti trattati con prednisone (60 mg/die) mostravano, dopo 3 mesi, un significativo incremento della frazione di eiezione, più marcato nei pazienti affetti da cardiomiopatia dilatativa idiopatica.

Un altro modo per ridurre i livelli di TNF- α circolanti è quello di impedire il clivaggio del suo propeptide legato alla membrana cellulare che determina il rilascio del peptide biologicamente attivo. Tale evento proteolitico è mediato da una specifica metalloproteasi chiamata TACE (TNF- α converting enzyme), che può essere bloccata da inibitori specifici⁶⁹.

La strategia con migliori prospettive di impiego clinico si basa sull'utilizzo di una proteina di fusione costituita dal recettore solubile del TNF- α chimerizzato con la porzione Fc di IgG₁ umana. Questa molecola lega ed inattiva il TNF- α , e in studi preliminari⁷⁰ ha mostrato di ridurre sia in acuto sia a medio termine (2 settimane) i livelli circolanti, con un miglioramento dei

sintomi e dei test clinici. Studi controllati vs placebo sono attualmente in corso.

Alcuni trial, infine, hanno evidenziato un effetto "anticitochinico" inaspettato di alcuni farmaci. Secondo quanto osservato da Mohler et al.⁷¹, i pazienti dello studio PRAISE trattati con amlodipina, dopo 24 settimane di terapia avevano livelli plasmatici di IL-6 statisticamente più bassi, mentre Matsumori et al.^{72,73} hanno descritto gli effetti positivi di digitale e amiodarone sulla riduzione della produzione di citochine infiammatorie, aprendo così la strada a nuove applicazioni terapeutiche di tali molecole.

Conclusioni

Un'"ipotesi infiammatoria" nella patogenesi dello scompenso cardiaco è da considerarsi per ora ancora non completamente dimostrata. A favore di questa ipotesi sono l'osservazione di elevate concentrazioni plasmatiche di mediatori infiammatori nei pazienti con insufficienza cardiaca, la correlazione esistente con gli indici di severità dell'insufficienza cardiaca e studi sperimentali dimostranti lo sviluppo del fenotipo della cardiomiopatia dilatativa in animali transgenici con iperespressione di TNF- α . Solo la valutazione delle condizioni cliniche e/o degli indici di funzione miocardica dopo antagonismo diretto di questi mediatori infiammatori in studi clinici mirati dimostreranno definitivamente un loro eventuale ruolo diretto nella patogenesi dell'insufficienza cardiaca.

Riassunto

La sindrome dello scompenso cardiaco è stata interpretata secondo varie ipotesi fisiopatologiche e negli ultimi anni è stata proposta un'"ipotesi infiammatoria" poiché numerose evidenze cliniche e sperimentali hanno documentato il coinvolgimento di citochine proinfiammatorie primarie nella sua patogenesi.

La maggior parte degli studi ha attestato un aumento dei livelli di fattore di necrosi tumorale (TNF)- α e di interleuchina (IL)-6 nel plasma dei pazienti affetti da insufficienza cardiaca, mentre le concentrazioni delle altre citochine normalmente non sono significativamente modificate.

Numerosi autori ritengono che TNF- α e IL-6 contribuiscano in modo diretto ai sintomi clinici dello scompenso cardiaco ed alla sua progressione.

Riteniamo che altre molecole potrebbero partecipare direttamente alla risposta infiammatoria che si riscontra nello scompenso cardiaco. Tra queste, pentraxina 3 (PTX3), appartenente alla famiglia delle pentraxine, comprendente la proteina C reattiva e la componente P serica dell'amiloide. PTX3 è il prototipo delle pentraxine lunghe, la trascrizione del suo gene è indotta nelle cellule endoteliali da IL-1 β e nei fibroblasti da TNF- α .

In modelli murini, l'esposizione ad uno stimolo infiammatorio standard, come il lipopolisaccaride batterico, provoca l'espressione ad alte concentrazioni di PTX3 nel cuore, prevalentemente nelle cellule endoteliali. In effetti, PTX3 è indotta in modelli di infarto del miocardio nei ratti, mentre nell'uomo è stato osservato che si verifica un significativo incremento di PTX3 nel siero dopo infarto miocardico acuto e che la sintesi della proteina avviene principalmente nelle cellule muscolari miocardiche.

Il significato patogenetico di PTX3 non è ancora definito. Dati recenti suggeriscono che PTX3 sia coinvolta nel reclutamento leucocitario, rappresentando quindi un possibile meccanismo di amplificazione del danno tissutale in condizioni infiammatorie, quali l'infarto miocardico acuto.

La definizione del ruolo di citochine proinfiammatorie, in particolare di TNF- α , e di questa molecola nello scompenso cardiaco potrà portare all'applicazione di nuove strategie terapeutiche nel trattamento dei pazienti affetti da tale sindrome. Tuttavia, solo la valutazione delle condizioni cliniche e/o degli indici di funzione miocardica dopo antagonismo diretto di questi mediatori infiammatori in studi clinici mirati dimostreranno definitivamente un loro eventuale ruolo diretto nella patogenesi dell'insufficienza cardiaca.

Parole chiave: Citochine proinfiammatorie; Patogenesi; Pentraxina 3; Proteina C reattiva; Scompenso cardiaco.

Bibliografia

1. Dei Cas L, Metra M. L'insufficienza cardiaca. Milano: Editrice Masson, 1995.
2. Dei Cas L, Metra M, Visioli O, Leier CV. Dalla disfunzione ventricolare all'insufficienza cardiaca conclamata: il momento dell'intervento. *Cardiologia* 1992; 37 (Suppl 1 al n 12): 309-18.
3. Levine B, Kalman J, Mayer L, et al. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 1990; 223: 236-41.
4. De Keulanaer GD, Brutsaert DL. Pathogenesis of heart failure: changing conceptual paradigms. *Acta Cardiol* 1998; 53: 131-41.
5. Seta Y, Shan K, Boskurt B, Oral H, Mann DL. Basic mechanisms in heart failure: the cytokines hypothesis. *J Card Fail* 1996; 2: 243-9.
6. Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict S, Benedict C, Mann D. TNF- α levels are elevated in SOLVD patients but do not correlate with circulating neurohormones. (abstr) *Circulation* 1994; 90 (Suppl I): I-380.
7. McMurray J, Abdullah I, Dargie HJ, Shapiro D. Increased concentration of TNF- α in cachectic patients with severe chronic heart failure. *Br Heart J* 1991; 66: 356-8.
8. Han J, Peeper-Woodford S, Drenning D. Circulating TNF- α and endothelium-derived relaxing factor in severe heart failure: effects of cardiac transplantation. (abstr) *Circulation* 1994; 90 (Suppl I): I-38.
9. Katz SD, Rao R, Berman JW, Swartz M, LeJemtel TH. Pathophysiological correlates of increased serum tumor necrosis factor in patients with congestive heart failure: re-

- lation to nitric oxide dependent vasodilation in the forearm circulation. *Circulation* 1994; 90: 12-6.
10. Matsumori A, Yamada T, Suzuki H, Matoba Y. Increased circulating cytokines in patients with myocarditis and cardiomyopathy. *Br Heart J* 1994; 72: 561-6.
 11. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, Bies RD. Expression and functional significance of tumor necrosis factor receptors in human myocardium. *Circulation* 1995; 92: 1487-93.
 12. Dutka DP, Elborn JS, Delamere F, Shale DJ. TNF- α in severe congestive cardiac failure. *Br Heart J* 1993; 70: 141-3.
 13. Wiederman CJ, Bempold H, Manfred H, Knap E. Increased levels of serum neopterin and decreased production of neutrophil superoxide anions in chronic heart failure with elevated levels of TNF- α . *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 1897-901.
 14. Hegewish S, Weh HJ, Hossfeld DK. TNF-induced cardiomyopathy. *Lancet* 1990; 2: 294-5.
 15. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J. Tumor necrosis factor and tumor necrosis receptors in the failing human heart. *Circulation* 1996; 93: 704-11.
 16. Habit FM, Springal DR, Davies GJ, Oakley CM. Tumor necrosis factor and inducible nitric oxide synthase in dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1996; 347: 1151-4.
 17. The SOLVD Investigators. Effects of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *N Engl J Med* 1991; 325: 293-302.
 18. Testa M, Yeh M, Lee P, et al. Circulating levels of cytokines and their endogenous modulators in patients with mild to severe congestive heart failure due to coronary artery disease or hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28: 964-71.
 19. Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, et al. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 1201-6.
 20. Ferrari R, Bachetti T, Confortini R, et al. Tumor necrosis factor soluble receptors in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation* 1995; 92: 1479-86.
 21. Millar AB, Singer M, Meager A, et al. Tumour necrosis factor in bronchopulmonary secretions of patients with adult respiratory distress syndrome. *Lancet* 1989; 2: 712-3.
 22. Anker SD, Volterrani M, Egerer K, et al. TNF- α as predictor of peak leg blood flow in chronic heart failure. *QJM* 1998; 91: 199-203.
 23. Flores EA, Bistran BR, Pomposelli JJ, Dinarella CA. Infusion of tumor necrosis factor/cachectin produces muscle catabolism in the rat: a synergistic effect with interleukin 1. *J Clin Invest* 1989; 83: 1614-22.
 24. Leibovich SJ, Polverini PJ, Shepard HM, Wiseman DM, Shively V, Nuseir N. Macrophage-induced angiogenesis is mediated by tumor necrosis factor alpha. *Nature* 1987; 329: 630-2.
 25. Frater-Schroeder M, Risau W, Halmann R, Gautschi P, Bohlen P. Tumor necrosis factor type alpha, a potent inhibitor of endothelial cell growth in vitro, is angiogenic in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 5277-81.
 26. Sugarman BJ, Aggarwall BB, Hass PE, Figari IS, Palladino MA, Shepard HM. Recombinant human tumor necrosis factor α : effects on proliferation of normal and transformed cells in vitro. *Science* 1985; 230: 943-5.
 27. Thaik CM, Calderone A, Takahashi N, Colucci WS. Interleukin 1 β modulates the growth and phenotype of neonatal rat cardiac myocytes. *J Clin Invest* 1995; 96: 1093-9.
 28. Pinsky DJ, Cai B, Yang X, Rodriguez C, Sciacca RR, Cannon PJ. The lethal effects of cytokine-induced nitric oxide on cardiac myocytes are blocked by nitric oxide synthase antagonism or transforming growth factor beta. *J Clin Invest* 1995; 95: 677-85.
 29. Chung MK, Gulick TS, Rotondo RE, Schreiner GF, Lange LG. Mechanism of cytokine inhibition of beta-adrenergic agonist stimulation of cyclic AMP in rat cardiac myocytes. Impairment of signal transduction. *Circ Res* 1990; 67: 753-63.
 30. Klefstrom J, Koskinen PJ, Saksela E, Jaattela M, Bravo R, Alitalo K. A subset of immediate early mRNAs induced by tumor necrosis factor-alpha during cellular cytotoxic and non-cytotoxic responses. *Int J Cancer* 1993; 55: 655-9.
 31. Packer M. Is tumor necrosis factor an important neurohormonal mechanism in chronic heart failure? *Circulation* 1995; 92: 1379-82.
 32. Reithmann C, Werdan K. Tumor necrosis factor alpha decreases inositol phosphate formation and phosphatidylinositol-bisphosphate (PIP₂) synthesis in rat cardiomyocytes. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1994; 349: 175-82.
 33. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinase and cardiovascular disease. *Circ Res* 1995; 77: 863-8.
 34. Haywood GA, Tsao PS, von der Leyen HE, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase in human heart failure. *Circulation* 1996; 93: 1087-94.
 35. De Keulanaer GW, Chappel DC, Ishizaka N, Nerem RN, Alexander RW, Griendling KK. Oscillatory and steady laminar stress differentially affect human endothelial redox state. Role of superoxide producing NADH oxidase. *Circ Res* 1998; 82: 1094-101.
 36. Rao GN, Berk BC. Active oxygen species stimulate vascular smooth muscle cell growth and proto-oncogene expression. *Circ Res* 1992; 70: 573-9.
 37. Stoian I, Oros A, Moldoveanu E. Apoptosis and free radicals. *Biochem Mol Med* 1996; 59: 93-7.
 38. De Keulanaer GW, Alexander RW, Ushio-Fukai M, Ishizaka N, Griendling KK. TNF- α activates a p22-phox based NADH oxidase in vascular smooth muscle. *Biochem J* 1998; 329: 653-7.
 39. Marui N, Offerman M, Swerlick R, Kunsch C. Vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1993; 92: 1866-74.
 40. Rao GN. Hydrogen peroxide induces complex formation of SHG-Grb2-SOS with receptor tyrosine kinase and activates Ras and extracellular signal-regulated protein kinases group of mitogen-activated protein kinases. *Oncogene* 1996; 13: 713-9.
 41. Bryant D, Becker L, Richardson J, Shelton J. Cardiac failure in transgenic mice with myocardial expression of TNF- α . *Circulation* 1998; 97: 1375-81.
 42. Renz H, Gong JH, Schmidt A, Nain M, Gems D. Release of tumor necrosis factor alpha from macrophages: enhancement and suppression are dose dependently regulated by prostaglandin E₂ and cyclic nucleotides. *J Immunol* 1988; 141: 2388-93.
 43. Munger MA, Johnson B, Amber IJ, Callahan KS, Gilbert EM. Circulating concentrations of proinflammatory cytokines in mild or moderate heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1996; 77: 723-7.
 44. Dzau VJ, Packer M, Lilly LS, Swartz SL, Hollemberg NK, Williams GH. Prostaglandins in severe congestive heart failure: relation to activation of renin-angiotensin system and hyponatremia. *N Engl J Med* 1984; 310: 347-52.
 45. Niebauer J, Volk HD, Kemp M, et al. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet* 1999; 353: 1838-42.

46. Pepys MB. C-reactive protein fifty years on. *Lancet* 1981; 1: 653-7.
47. Kushner J, Volanakis JE, Gewurz HC. C-reactive protein and the plasma protein response to tissue injury. *Ann N Y Acad Sci* 1982; 389: 239-43.
48. de Beer FC, Hind CRK, Fox KM, Maseri A, Pepys MB. Measurement of serum C-reactive protein concentration in myocardial infarction and ischaemia. *Br Heart J* 1982; 47: 239-43.
49. Pietila K, Harmoinen A, Poyonen L. C-reactive protein in subendocardial and transmural myocardial infarcts. *Clin Chem* 1986; 32: 1596-7.
50. Pye M, Rae AP, Cobbe SM. Study of serum C-reactive protein concentration in cardiac failure. *Br Heart J* 1990; 63: 228-30.
51. Beranek JT. C-reactive protein and complement in myocardial infarction and in postinfarction heart failure. *Eur Heart J* 1997; 18: 1834-7.
52. Pietila K, Harmoinen A, Poyonen L. Intravenous streptokinase treatment and serum C-reactive protein in patients with acute myocardial infarction. *Br Heart J* 1988; 58: 225-9.
53. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1997; 331: 417-24.
54. Breviario F, d'Aniello EM, Golay J, et al. Interleukin-1-inducible genes in endothelial cells. Cloning of a new gene related to C-reactive protein and serum amyloid P component. *J Biol Chem* 1992; 267: 22190-7.
55. Lee GW, Lee TH, Vilcek J. TSG-14, a tumor necrosis factor and IL-1 inducible protein is a novel member of the pentraxin family of acute phase proteins. *J Immunol* 1993; 150: 1804-12.
56. Inrona M, Alles VV, Castellano M, et al. Cloning of mouse ptx3, a new member of the pentraxin gene family expressed at extrahepatic sites. *Blood* 1996; 87: 1862-72.
57. Bottazzi B, Vouret-Craviari V, Bastone A, et al. Multimer formation and ligand recognition by the long pentraxin PTX 3. Similarities and differences with the short pentraxins C-reactive protein and serum amyloid P component. *J Biol Chem* 1997; 272: 32817-23.
58. Peri G, Inrona M, Corradi D, et al. PTX3, a prototypical long pentraxin, is an early indicator of acute myocardial infarction in humans. *Circulation* 2000; 102: 636-41.
59. Kapadia S, Lee JR, Torre-Amione J, et al. Tumor necrosis factor gene and protein expression in adult feline myocardium after endotoxin administration. *J Clin Invest* 1995; 96: 1042-52.
60. Kapadia S, Oral H, Lee J, Nakano M, Taffet GE, Mann DL. Hemodynamic regulation of tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium. *Circ Res* 1997; 81: 187-95.
61. Sliwa K, Skudicky D, Candy G, Wisenbaugh T, Sareli P. Randomised investigation of effects of pentoxifylline on left ventricular performance in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1998; 351: 1091-3.
62. Sindhvani R, Yuen J, Hirsch H, et al. Reversal of low flow state attenuates immune activation in severe decompensated congestive heart failure. (abstr) *Circulation* 1993; 88: I-255.
63. Wagner DR, McTiernan CF, Sanders VJ, Feldman AM. Adenosine inhibits lipopolysaccharide induced secretion of tumor necrosis factor α in the failing human heart. *Circulation* 1998; 97: 521-4.
64. Sasayama S, Matsumori A. Vesnarinone: a potential cytokine inhibitor. *J Card Fail* 1996; 2: 251-8.
65. Milanio RV, Mehra MR, Endres S, et al. The clinical relevance of circulating tumor necrosis factor α in an acute decompensated chronic heart failure without cachexia. *Chest* 1996; 110: 992-7.
66. Moreira AL, Sampaio EP, Zmuidzinas A, et al. Thalidomide exerts inhibitory action on tumor necrosis factor α by enhancing messenger RNA degradation. *J Exp Med* 1993; 177: 1675-80.
67. Remick DG, Strieter RM, Lynch JP III, Nguyen D, Eskandari M, Kunkel SL. In vivo dynamics of murine tumor necrosis factor α gene expression. Kinetics of dexamethasone-induced suppression. *Lab Invest* 1989; 60: 766-71.
68. Parrillo JE, Cunnion RE, Epstein SE, et al. A prospective randomised controlled trial of prednisone for dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1989; 321: 1061-8.
69. Mohler KM, Sleath PR, Fitzner JN, et al. Protection against lethal dose of endotoxin by an inhibitor of tumor necrosis factor processing. *Nature* 1994; 370: 218-20.
70. Deswall A, Seta Y, Blosch CM, Mann DL. A phase I trial of tumor necrosis factor receptor (p75) fusion protein (TNFR:Fc) in patients with advanced heart failure. (abstr) *Circulation* 1997; 96: I-323.
71. Mohler ER, Sorensen C, Ghali JK, et al. Role of cytokines in the mechanism of action of amlodipine: the PRAISE Heart Failure Trial. Prospective Randomized Amlodipine Survival Evaluation. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30: 35-41.
72. Matsumori A, Ono K, Nishio R, et al. Modulation of cytokines production and protection against lethal endotoxemia by the cardiac glycoside ouabain. *Circulation* 1997; 96: 1501-6.
73. Matsumori A, Ono K, Nishio R, Nose Y, Sasayama S. Amiodarone inhibits production of TNF- α by human mononuclear cells: a possible mechanism of its effect in heart failure. *Circulation* 1997; 96: 1386-9.