

LE INFEZIONI BATTERICHE COME CAUSA DELL'INFARTO DEL MIOCARDIO. UN'IPOTESI CHE SI RIPROPONE? INFEZIONI E INFARTO

F. Muscente, R. De Caterina

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

Alla fine degli anni '90 era assunzione prevalente che, semmai le infezioni batteriche avessero un ruolo nell'aterotrombosi, *Chlamydia Pneumoniae* era sicuramente il principale patogeno candidato a un ruolo eziopatogenetico. Pertanto la somministrazione in prevenzione secondaria di macrolidi o chinolonici, i principali antibiotici ad attività anti-*Chlamydia*, avrebbe dovuto tradursi in una riduzione degli eventi ed in un miglioramento degli esiti cardiovascolari. I risultati di otto piccoli studi pilota furono tuttavia inconclusivi presi singolarmente e con risultati globalmente controversi. In realtà, essi mancavano di potenza statistica sufficiente, e il regime di trattamento antimicrobico era da considerarsi comunque troppo breve¹. Quattro studi clinici di più ampie dimensioni, il Weekly Intervention with Zithromax for Atherosclerosis and Related Disorder (WIZARD)², il Randomised Clarithromycin for patients with stable Coronary heart disease (CLARICOR)³, l'Azithromycin and Coronary Events Study (ACES)⁴ e il Pravastatin on Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 22 (PROVE-IT-TIMI 22)⁵, furono disegnati per fornire risposte definitive, superando le suddette limitazioni di disegno. I risultati furono nel complesso ampiamente negativi: in nessuno di essi la somministrazione in prevenzione secondaria di terapia antibiotica si traduceva in una riduzione degli eventi acuti cardiovascolari quali morte e infarto miocardico (tab. I). Ciò veniva anche avvalorato dai risultati di tre meta-analisi di trial prospettici randomizzati controllati con placebo relativi alla somministrazione di terapia antimicrobica in prevenzione secondaria in pazienti con Sindrome Coronarica Acuta (SCA) o cardiopatia ischemica stabile. La prima di esse, che includeva 9 trial e un totale di 12.032 pazienti, di cui più di 7.000 affetti da SCA, non dimostrava alcuna efficacia della terapia con macrolidi relativamente alla riduzione della mortalità totale, degli eventi coronarici e dell'endpoint composito di infarto miocardico o angina⁶. Nella seconda, Andraws et al. includevano 11 trial e 19.217 pazienti coronaropatici, di cui

Tabella I - Studi clinici controllati con terapia antibiotica nella cardiopatia ischemica.

Cardiomiopatia ischemica stabile						
Studio	Anno	Popolazione	Regime di trattamento antibiotico	Misure di outcome	Follow-up	Risultati
ACADEMIC	2000	302 pazienti con CAD e titolo anticorpale anti CPN >1:16	Azitromicina 500 mg/die per 3 giorni poi 500 mg/settimana per 3 mesi o placebo	Morte cardiovascolare, arresto cardiaco resuscitato, IM non fatale, ictus, angina instabile, rivascolarizzazione non coronarica non pianificata	2 anni	Negativi
WIZARD	2003	7.747 pazienti con storia di IM da più di 6 settimane e titolo anticorpale anti CPN >1:16	Azitromicina 600 mg/die per 3 giorni poi 600 mg/settimana per 11 settimane o placebo	Morte per ogni causa, re-infarto non fatale, rivascolarizzazione coronarica	14 mesi	Negativi
ACES	2005	4.012 pazienti con cardiopatia ischemica stabile	Azitromicina 600 mg/die o placebo per 1 anno	Endpoint composito di morte da ogni causa, re-infarto non fatale, rivascolarizz. coronarica o ospedalizzazione per angina instabile	3.9 anni	Negativi
CLARICOR	2005	4.373 pazienti con storia di IM pregresso (da più di 3 mesi) o angina pectoris	Claritromicina 500 mg/die per 2 settimane o placebo	Endpoint composito di mortalità da tutte le cause, IM o angina pectoris instabile	3 anni	Negativi (aumento della mortalità nel braccio terapia antibiotica)
Sindromi coronariche acute						
Studio	Anno	Popolazione	Regime di trattamento antibiotico	Misure di outcome	Follow-up	Risultati
ROXIS	1999	202 pazienti con angina instabile	Roxitromicina 150 mg x2/die per 30 giorni o placebo	Morte cardiovascolare, IM e ischemia grave ricorrente	6 mesi	Sia positivi che negativi
CLARIFY	2001	148 pazienti con SCA-NSTE	Claritromicina 500 mg/die per 85 giorni o placebo	Endpoint composito di morte, IM o angina instabile Tutti gli eventi cardiovascolari	3 mesi 18 mesi	Negativi Positivi (RR=0.49, p=0.03)

Tabella I (continua) - Studi clinici controllati con terapia antibiotica nella cardiopatia ischemica.

Sindromi coronariche acute						
<i>Studio</i>	<i>Anno</i>	<i>Popolazione</i>	<i>Regime di trattamento antibiotico</i>	<i>Misure di outcome</i>	<i>Follow-up</i>	<i>Risultati</i>
STAMINA	2002	325 pazienti con IM acuto o angina instabile	Azitromicina 500 mg/die o amoxicillina 500 mg x 2/die, entrambi più metronidazolo 400 mg x 2/die e omeprazolo 20 mg x 2/die per una settimana o placebo	Riospedalizzazione per IM non fatale, fatale o angina instabile o IM fatale	12 mesi	Positivi (RR=0.61)
ANTIBIO	2003	872 pazienti con IM	Roxitromicina 300 mg/die per 6 settimane o placebo	Mortalità totale	12 mesi	Negativi
AZACS	2003	1.439 pazienti con IM acuto o angina instabile	Azitromicina 500 mg/die per un giorno seguita da 250 mg/die per 4 giorni o placebo	Endpoint composito di morte, IM ricorrente o ischemia ricorrente che necessitassero di rivascolarizzazione	6 mesi	Negativi
PROVE IT	2005	4.162 pazienti con SCA nei precedenti 10 giorni	Gatifloxacina 400 mg/die per 2 settimane seguita da 400 mg/die per 10 giorni al mese per 2 anni o placebo	Endpoint composito di morte da tutte le cause, IM, angina instabile documentata che richiedesse riospedalizzazione, rivascolarizzazione e ictus	2 anni	Negativi, altri
Altro						
<i>Studio</i>	<i>Anno</i>	<i>Popolazione</i>	<i>Regime di trattamento antibiotico</i>	<i>Misure di outcome</i>	<i>Follow-up</i>	<i>Risultati</i>
ISAR-3	2001	1.010 pazienti con CAD e/o SCA dopo successivo stenting coronarico	Roxitromicina 300 mg/die per 28 giorni o placebo	Frequenza di restenosi al follow-up angiografico	1 anno	Negativi (positivi nel sottogruppo con titolo anticorpale anti-Chlamydia >1:512)

Legenda: CAD: Coronary Artery Disease, malattia coronarica; IM: infarto miocardico; CPN: Chlamydia pneumoniae; SCA-NSTE: Sindrome Coronarica Acuta senza sopraslivellamento del tratto ST; SCA: Sindrome Coronarica Acuta; RR: Rischio Relativo.

più di 7.000 con SCA. Tra il gruppo terapia antimicrobica e quello di controllo non si evidenziava alcuna differenza significativa, né relativamente all'incidenza di morte per tutte le cause e infarto miocardico, né relativamente all'endpoint composto di infarto miocardico e angina instabile ⁷. A deludere ulteriormente le aspettative, infine, la più ampia e recente meta-analisi con 17 trial e 25.271 pazienti con coronaropatia documentata dimostrava paradossalmente un piccolo, ma significativo aumento del rischio relativo di morte nel gruppo terapia antibiotica rispetto al gruppo placebo ⁸. Nel commentare i risultati dello studio PROVE-IT-TIMI 22 nella Highlight Session del Congresso della European Society of Cardiology (ESC) del 2004, uno di noi (RDC) ebbe a dire dello studio "A nail in the coffin of antibiotic strategies to reduce events following a myocardial infarction OR a beautiful hypothesis destroyed by an ugly fact".

Quest'ampia serie di risultati negativi ha di fatto fortemente screditato l'ipotesi infettiva. Infatti, il mancato beneficio della terapia con antibiotici in prevenzione secondaria ha portato i più a dedurre non solo che *C. Pneumoniae* non avesse alcun ruolo eziopatogenetico nella malattia vascolare aterosclerotica, ma ancor più globalmente a confutare la validità stessa dell'ipotesi secondo cui qualunque infezione con qualunque patogeno potesse essere implicata nella fisiopatologia dei fenomeni di induzione, progressione e instabilizzazione delle lesioni coronariche. Ma il fallimento del trattamento antibiotico anti-*Chlamydia* è una condizione sufficiente a confutare totalmente l'ipotesi suddetta? O meglio, i grandi trial con terapia antimicrobica sono realmente appropriati per verificare l'ipotesi di un legame tra infezione batterica e malattia (atero-trombotici) coronarica? In questo capitolo cercheremo di dare una risposta pratica alla luce anche delle numerose evidenze sierio-epidemiologiche che sostengono l'associazione positiva tra i batteri e la cardiopatia ischemica acuta e cronica, e di dare una risposta plausibile alla domanda del titolo.

Il rischio atero-trombotico in corso di patologia infettiva: il razionale fisiopatologico

Secondo la teoria della "risposta al danno", il substrato fisiopatologico dei fenomeni atero-trombotici è rappresentato dalla presenza di un milieu flogistico cronico ⁹. In questo contesto le infezioni batteriche, attraverso meccanismi multipli, possono esserne ragionevole causa o concausa.

Meccanismi diretti e infezione persistente

I batteri possono contribuire direttamente ai processi flogistici locali attraverso l'invasione della parete del vaso ¹⁰. Caratteristicamente, molti dei patogeni che negli studi sierio-epidemiologici si sono dimostrati essere associati allo sviluppo di lesioni aterosclerotiche danno luogo a infezioni persistenti: il micro-organismo viene internalizzato nelle cellule dell'ospite, in una nicchia privilegiata che ne facilita tra l'altro l'evasione delle difese immunitarie. In tal senso, tali patogeni possono non solo replicarsi e disseminarsi, ma anche entrare in uno stato di latenza, durante il quale non si replicano, hanno bassa attività metabolica, non sono coltivabili, e mostrano proprietà di antibiotico-resistenza ¹¹.

Meccanismi indiretti: lo stato pro-infiammatorio e pro-trombotico sistemico

Anche l'infezione di un sito "non vascolare" può contribuire – indirettamente – ai fenomeni atero-trombotici attraverso l'immissione sistemica di citochine e proteine di fase acuta¹⁰. Questo stato pro-infiammatorio sistemico, se da una parte va ad esacerbare il basso grado di flogosi cronica già presente nelle placche aterosclerotiche, dall'altra sembrerebbe essere associato a uno stato di ipercoagulabilità e di attivazione piastrinica sistemica, che favorirebbe pertanto i fenomeni trombotici¹². L'immissione sistemica di citochine pro-infiammatorie si associa infatti ad un'aumentata formazione di trombina sia attraverso l'espressione del fattore tissutale, sia attraverso la simultanea interferenza negativa con le vie di anticoagulazione fisiologiche, quali quelle della proteina C e della proteina S. Oltre a ciò, si osserva parallelamente un'inibizione della fibrinolisi, principalmente conseguenza degli aumentati livelli circolanti di inibitore dell'attivatore del plasminogeno (PAI)-1, il principale inibitore endogeno della fibrinolisi¹³. Poiché il favorire la progressione dell'aterosclerosi può richiedere anni, non è detto che un trattamento antibiotico relativamente breve debba condizionare gli esiti del processo.

Meccanismi immuno-mediati

In corso di patologia infettiva anche il sistema immunitario, sia nella sua componente dell'immunità innata che di quella adattiva, gioca un ruolo centrale nello sviluppo dell'aterosclerosi¹⁴. L'attivazione patogeno-mediata dei Toll-Like Receptors (TLR), i principali recettori cellulari dell'immunità innata, sembrerebbe favorire i fenomeni atero-trombotici attraverso la produzione di citochine pro-infiammatorie che, sebbene necessarie alla difesa dell'ospite, configurano così un classico esempio del fenomeno Janus (o fenomeno "della doppia faccia"), secondo cui un meccanismo fisiologico può, in determinate condizioni, diventare un meccanismo di malattia¹⁴. I patogeni determinerebbero una sovra-espressione di questi recettori nelle lesioni aterosclerotiche, la quale risulterebbe persistere anche dopo l'eradicazione del microrganismo. Il tessuto ateromasico si mostrerebbe dunque più "sensibile" sia a ligandi esogeni come i Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs), liberati dai batteri in siti lontani d'infezione, sia ai ligandi endogeni quali la Heat Shock Protein da 60 kDa (HSP 60), il dominio extracellulare A della fibronectina, e le Low Density Lipoproteins ossidate (LDLox). Un'iper-attivazione persistente di tali recettori sembra predisporre alla progressione delle lesioni, e molto probabilmente a un loro maggiore profilo di vulnerabilità¹⁵. Tuttavia, sebbene in modelli sperimentali su animale il trattamento con anticorpi anti-HSP e anti-LDLox si è dimostrato capace di attenuare la progressione dell'aterosclerosi, per la maggior parte dei patogeni associati alla malattia vascolare mancano ancora evidenze convincenti a favore dell'esistenza di questo meccanismo.

Oltre all'immunità innata, recentemente è stato evidenziato un ruolo della componente adattativa del sistema immunitario, con espansione clonale patogeno-indotta e antigene-specifica delle linee linfocitarie B e T. Nelle placche aterosclerotiche umane è stata infatti dimostrata un'attivazione della risposta T-cellulare, con conseguente espansione clonale mediata da diversi antigeni di origine batterica. I modelli sperimentali hanno poi evidenziato che l'attivazione antigene-guidata della risposta T-helper (Th)-1 è coinvolta nella progressio-

ne delle lesioni aterosclerotiche¹⁶, e che nelle placche instabili si osserva tipicamente attivazione e proliferazione clonale di cellule T effettrici¹⁷.

È stato dimostrato che anche risposte autoimmunitarie di cross-reattività tra self e non-self o fenomeni di “mimetismo molecolare” contribuiscono all’induzione dei fenomeni di aterotrombosi¹⁸. Nello specifico, Xu et al. hanno dimostrato che le HSP, proteine intracellulari altamente conservate, possono servire come bersaglio per questa risposta autoimmunitaria. Ci sono evidenze per cui la presenza e l’estensione della malattia coronarica sarebbero correlare con i titoli di anticorpi anti-HSP60 umana¹⁹. Inoltre, cellule endoteliali, macrofagiche e muscolari lisce di placche aterosclerotiche presentano una sovra-espressione superficiale di questa proteina²⁰. Oltre a ciò, è stato visto che le HSP batteriche inducono in vitro proliferazione di cellule muscolari lisce, attivando la via della p44/42 Mitogen-Activated Protein (MAP)-chinasi, e determinano quindi progressione della placca attraverso un meccanismo indipendente dall’autoimmunità.

I batteri ed il rischio atero-trombotico: le evidenze a sostegno

Numerose sono le specie batteriche per le quali è stata avanzata l’ipotesi di un’associazione positiva con lo sviluppo della patologia vascolare atero-trombotica (tab. II). Secondo il primo postulato di Koch, l’associazione del micro-organismo con la malattia – dimostrare la presenza batterica nel sito di malattia – è condizione necessaria – ancorché non sufficiente – per ipotizzare una relazione di causalità. Più specifico sarebbe inoltre l’isolamento di micro-organismo vitale dalla lesione, dimostrando così la presenza di un’infezione attiva. Eccezion fatta per *C. Pneumoniae* e alcuni parodontopatogeni come *Porphyromonas (P.) gingivalis*, per i restanti batteri le evidenze a sostegno di un’associazione positiva con la patologia aterosclerotica sono deboli, ed il meccanismo indiretto sembrerebbe esserne l’unica spiegazione patogenetica possibile²¹.

Chlamydia pneumoniae

C. pneumoniae, un gram-negativo intracellulare obbligato, è ad oggi l’unico patogeno isolato vitale da colture di lesioni aterosclerotiche. La maggior parte degli studi condotti su modelli sperimentali ha dimostrato un’accelerazione dello sviluppo delle lesioni in seguito ad infezione respiratoria con *C. pneumoniae*²². Inoltre, l’inoculazione di *C. pneumoniae* in modelli murini C57B1/6 o apoE^{-/-} si è dimostrata associata ad un aumento significativo delle concentrazioni plasmatiche di proteine di fase acuta e di citochine pro-infiammatorie²³. Esse nel complesso, oltre a favorire la progressione delle lesioni aterosclerotiche, si sono dimostrate associate ad una maggiore incidenza di emorragia intra-placca, con un conseguente significativo aumento del grado di instabilizzazione e di vulnerabilità delle lesioni²³.

Relativamente ai fenomeni immuno-mediati, è stato visto che l’inoculazione con *Chlamydia* in modelli murini apoE^{-/-} che fossero contemporaneamente anche mancanti (knockout) dei TLR-2 e -4 si associa ad una ridotta formazione di cellule schiumose²⁴, implicando dunque i TLR nel mediare l’aterogenicità da *Chlamydiae*. In modelli sperimentali su animale, anticorpi reattivi

vi alla HSP60 self sono stati riportati a seguito dell'inoculazione con *C. pneumoniae*²⁵, suggerendo fenomeni di mimetismo molecolare. Inoltre, da placche aterosclerotiche umane sono state isolate cellule T cross-reattive alla HSP60 umana e a quella batterica. Il complesso dei dati sperimentali, nonostante trial negativi con antibiotici efficaci contro *C. pneumoniae*, depongono ancora per la plausibilità di un ruolo di questo patogeno nella malattia cardiovascolare²⁶.

Parodontopatogeni

La placca gengivale che caratterizza la parodontopatia è colonizzata da un ampio numero di microrganismi, molti dei quali correlati allo sviluppo di lesioni aterosclerotiche. La forza dell'associazione risulta tuttavia estremamente diversa per ciascuno di essi²⁷.

Sebbene nelle placche aterosclerotiche l'immuno-istochimica e la reazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction, PCR) abbiano evidenziato la presenza di diversi parodontopatogeni (tab. II), per nessuno di essi, ad oggi, c'è stata dimostrazione di infezione attiva²⁸. Numerose sono tuttavia le evidenze a sostegno di un contributo indiretto di parodontopatogeni all'eziopatogenesi dei fenomeni atero-trombotici²⁹. Studi sperimentali hanno infatti dimostrato che in pazienti affetti da parodontite e malattia cardiovascolare si osserva un aumento significativo delle concentrazioni plasmatiche di vari mediatori infiammatori e di proteine di fase acuta, quali Proteina C-Reattiva (PCR), amiloide sierica A (SAA) e alfa-1 antitripsina. Nello specifico, i livelli di PCR in pazienti affetti da malattia cardiovascolare o parodontite isolatamente e di quelli affetti da malattia cardiovascolare e parodontite in contemporanea sono risultati rispettivamente due volte e tre volte più elevati rispetto a quelli di

Tabella II - Evidenze attuali a sostegno di un'associazione positiva tra i diversi batteri e la malattia vascolare aterosclerotica.

<i>Microrganismi per i quali è stata evidenziata un'associazione con la malattia cardiovascolare</i>	<i>Dimostrazione nella placca</i>	<i>Dimostrazione nella parete di vasi non aterosclerotici</i>	<i>Isolamento di patogeno vitale della placca</i>	<i>Aumento dei livelli circolanti di biomarcatori proinfiammatori</i>	<i>Effetti pro-aterosclerotici su modelli animali</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	X		X	X	X
Batteri periodontali					
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	X		No	X	X
<i>Porphyromonas nigrescens</i>	X		No		
<i>Treponema denticola</i>	X				
<i>Campilobacter Rectus</i>	X				
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	X				X
<i>Prevotella Intermedia</i>	X		No		
<i>Tannerella forsythia</i>	X				
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	X				
<i>Streptococcus sanguis</i>	X				
<i>Streptococcus mutans</i>	X				
<i>Helicobacter pylori</i>	X			X	X
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	X	X			
<i>Enterobacter hormaechei</i>	X		X		
<i>Borrelia burgdoferi</i>					

soggetti sani. Inoltre, un trattamento standard della patologia per 12 mesi si è dimostrato in grado di ridurre i livelli circolanti di numerosi biomarcatori infiammatori quali aptoglobina e interferone-gamma (IFN- γ).

In studi sperimentali condotti su modelli murini apoE^{-/-} e apoE^{-/+} l'inoculazione sistemica di *P. gingivalis* risultava essere associata ad aumentate concentrazioni plasmatiche di interleuchina (IL)-6 e SAA quando gli animali non erano pretrattati con doxiciclina o metronidazolo³⁰. Parallelamente, l'infezione con *P. gingivalis* di topi apoE^{-/-}, apoE^{-/+}, e apoE^{+/+} sottoposti a diete iperlipidiche aterogene si associava ad un aumentato numero di cellule schiumose all'interno della placca e ad aumentate concentrazioni di mediatori infiammatori³¹; una pre-immunizzazione con *P. gingivalis* uccisi inibiva invece la progressione delle lesioni³¹. Come per *C. pneumoniae*, anche *P. gingivalis* accelera lo sviluppo delle lesioni attraverso l'attivazione dei TLR-2 e attraverso i fenomeni di cross-reattività tra l'HSP60 microbica e quella self.

Helicobacter pylori

A differenza dei patogeni sopra menzionati, le evidenze a sostegno di un'associazione positiva di *Helicobacter pylori* con la malattia cardiovascolare risultano deboli e spesso contraddittorie. A tutt'oggi non ci sono dati relativi all'isolamento di patogeno vitale da placche aterosclerotiche, per quanto tracce del microrganismo siano state evidenziate all'interno delle lesioni³². Contraddittorie sono anche le evidenze relative alla capacità del patogeno di indurre uno stato pro-infiammatorio sistemico, sia sull'uomo che in modelli sperimentali di aterosclerosi (topi C57Bl/6, LDL-RE^{-/-}, or apo EE^{-/+} x LDLR-E^{-/+}). A tal proposito, tuttavia, in alcuni studi la terapia eradicante si è dimostrata in grado di ridurre le concentrazioni plasmatiche dei biomarcatori di flogosi, di inibire la progressione delle lesioni aterosclerotiche in coronaropatici rivascularizzati, e di ridurre l'incidenza di eventi coronarici secondari³². Inoltre, un regime di trattamento combinato per *C. pneumoniae* e *H. pylori* ha dimostrato una riduzione significativa delle concentrazioni plasmatiche di PCR e un miglioramento della sopravvivenza libera da eventi³³.

La flora microbica intestinale

La flora microbica intestinale comprende circa un trilione di microrganismi commensali non patogeni. Di recente è stato riportato un legame tra il metabolismo dei fosfolipidi alimentari operato dai suddetti microrganismi e il rischio di malattia cardiovascolare aterosclerotica. Nello specifico, tre metaboliti della fosfatidilcolina, quali colina, trimetilamina N-ossido (TMAO), e betaina, sono stati identificati e dimostrati correlare con un aumentato rischio cardiovascolare. Studi condotti su modelli murini hanno confermato il ruolo pro-aterogeno della colina assunta con la dieta e della TMAO prodotta dalla sua metabolizzazione da parte della flora microbica intestinale. Questi prodotti si sono dimostrati in grado di aumentare l'accumulo di colesterolo all'interno dei macrofagi e quindi la formazione e il numero di cellule schiumose. Nei suddetti modelli sperimentali, l'eradicazione della microflora intestinale inibiva la progressione della patologia aterosclerotica associata all'assunzione alimentare di colina³⁴. Inoltre, la produzione di endotossina da parte della flora microbica intestinale può indurre una situazione di endotossinemia di basso

grado, che può, attraverso l'attivazione di vie dell'infiammazione, legare la flora batterica intestinale, modificabile con approcci dietetici, con il rischio a lungo termine di sviluppare malattia cardiovascolare o diabete di tipo 2³⁵. In particolare, una dieta ricca di grassi, somministrata acutamente o cronicamente, si correla con una drammatica elevazione dei livelli di endotossina, suggerendo che l'endotossinemia è modulabile con approcci dietetici³⁵.

L'“Infection burden” come nuovo fattore di rischio

Di recente, i ricercatori hanno introdotto il concetto di “pathogen burden” o “infection burden”, ipotizzando che l'associazione positiva tra patologia infettiva e malattia vascolare atero-trombotica non andrebbe ricercata in alcun patogeno considerato isolatamente. In accordo con questo modello, infatti, al milieu pro-infiammatorio che caratterizza lo sviluppo delle lesioni aterosclerotiche contribuirebbero gli effetti continui e cumulativi di un carico infettivo polimicrobico globale, non solo batterico, ma anche virale^{36,37}. Impiegando l'angiografia per documentare la presenza o l'assenza di coronaropatia, il gruppo di Epstein ha dimostrato un'associazione positiva tra l'aumentato carico infettivo globale ed il rischio di coronaropatia anche dopo aggiustamento per altri fattori di rischio³⁸. Parallelamente, a sostegno di ciò, in un altro studio si dimostrava un'associazione tra il carico patogeno (“pathogen burden”) e la gravità della disfunzione endoteliale a livello coronarico. Per di più, alcuni dati recenti sembrerebbero evidenziare che la componente batterica e quella virale del pathogen burden possano differire per ciò che riguarda la loro capacità di influenzare le diverse fasi fisiopatologiche, e quindi cliniche, della malattia vascolare aterosclerotica. Infatti, in due studi prospettici su pazienti coronaropatici, il pathogen burden si è dimostrato predittivo di infarto miocardico acuto e morte. Questo endpoint, che da un punto di vista fisiopatologico riflette principalmente l'instabilizzazione e la rottura di placca, è lo stesso valutato in tutti i trial con antibiotici. È di grande rilevanza notare che in entrambi questi studi la sieropositività per *C. pneumoniae* non correlava in maniera significativa con esso^{36,39}. Particolarmente interessanti a tal proposito sono parsi i risultati dello studio di Rupprecht et al., che dimostrava un'associazione positiva tra la componente virale del pathogen burden e l'incidenza di infarto miocardico e morte, mentre nessuna correlazione si dimostrava tra la frequenza di tale endpoint e la componente batterica dello stesso pathogen burden³⁹. In un'analisi successiva, inoltre, questi stessi sperimentatori da una parte dimostravano che il carico infettivo batterico globale correlava positivamente con la gravità e l'estensione anatomica della malattia coronarica, mentre dall'altra riconfermavano la mancata associazione tra essa e l'incidenza di eventi acuti⁴⁰.

I limiti dei trial con antibiotici nella verifica dell'ipotesi

Si può dunque ancora ipotizzare che le infezioni batteriche siano causa di infarto miocardico? Alla luce delle suddette acquisizioni fisiopatologiche e sperimentali possiamo di certo avanzare alcune importanti criticità relativamente all'adeguatezza dei trial con terapia antimicrobica nella verifica dell'i-

potesi infettiva. Innanzitutto, dato che *C. pneumoniae* non si è dimostrato essere un forte predittore d'instabilizzazione e rottura di placca, è altamente probabile che la scelta dello stesso endpoint nei trial con antibiotici sia stata inadeguata per verificare l'efficacia del trattamento in termini di protezione cardiovascolare. Considerando poi che *C. pneumoniae* dà luogo a infezioni persistenti, è verosimile che la terapia antimicrobica sia di per sé scarsamente efficace, perché il microorganismo, per la sua bassa attività metabolica, sarebbe di suo poco sensibile ad essa o antibiotico-resistente. In considerazione poi dell'elevata probabilità d'infezione polimicrobica e del riconosciuto ruolo del pathogen burden, è importante sottolineare che non è affatto appropriato da un punto di vista concettuale pensare che un singolo batterio sia isolatamente fattore di rischio per eventi atero-trombotici. In quest'ottica, pertanto, una sperimentazione volta a dimostrare che l'eradicazione di un singolo patogeno migliori gli esiti cardiovascolari è destinata a fallire, e non tanto perché l'infezione non contribuisca alla malattia, ma semplicemente perché i patogeni non eradicati correlano anch'essi con un rischio residuo di atero-trombosi, diluendo pertanto l'effetto di un trattamento specifico.

Conclusioni

Da quanto detto, ad oggi si può continuare a supporre che le infezioni in senso lato rappresentino un substrato ragionevole di aumentato rischio atero-trombotico. L'infection burden come ipotesi patogenetica è senza dubbio fisiopatologicamente più consistente di quella che considera ciascun batterio isolatamente come causa di malattia. Tuttavia, da un punto di vista speculativo, esso stesso andrebbe ancora adeguatamente standardizzato e meglio definito in termini di composizione quali- e quantitativa. Per di più, allo stato attuale, i dati sembrerebbero suggerire che virus e batteri contribuiscano di concerto all'induzione e alla progressione di malattia, ma che la componente virale – più di quella batterica – predisporrebbe alla rottura di placca. La complessità delle interazioni tra i diversi patogeni e la variabilità della risposta dell'ospite alle infezioni appaiono dunque notevoli e al momento attuale ancora ampiamente inesplorate. Ad oggi appare dunque opportuno insistere ancora sull'ipotesi infettiva, comprendendone i meccanismi molecolari prima di disegnare nuovi ampi trial che esplorino l'impatto clinico dell'infection burden e delle sue componenti sul rischio cardiovascolare.

BIBLIOGRAFIA

- 1) *Grayston JT*. Antibiotic treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. *Circulation* 2003; 107:1228-30
- 2) *O'Connor CM, Dunne MW, Pfeffer MA, Muhlestein JB, Yao L, Gupta S, Benner RJ, Fisher MR, Cook TD*. Azithromycin for the secondary prevention of coronary heart disease events: the WIZARD study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003; 290:1459-66
- 3) *Jespersen CM, Als-Nielsen B, Damgaard M, Hansen JF, Hansen S, Helo OH, Hildebrandt P, Hilden J, Jensen GB, Kastrup J, Kolmos HJ, Kjoller E, Lind I, Niel-*

- sen H, Petersen L, Gluud C.* Randomised placebo controlled multicentre trial to assess short term clarithromycin for patients with stable coronary heart disease: CLARICOR trial. *BMJ* 2006; 332:22-7
- 4) *Grayston JT, Kronmal RA, Jackson LA, Parisi AF, Muhlestein JB, Cohen JD, Rogers WJ, Crouse JR, Borrowdale SL, Schron E, Knirsch C.* Azithromycin for the secondary prevention of coronary events. *N Engl J Med* 2005; 352:1637-45
 - 5) *Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Grayston JT, Muhlestein B, Giugliano RP, Cairns R, Skene AM.* Antibiotic treatment of Chlamydia pneumoniae after acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2005; 352:1646-54
 - 6) *Etmninan M, Carleton B, Delaney JA, Padwal R.* Macrolide therapy for Chlamydia pneumoniae in the secondary prevention of coronary artery disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmacotherapy* 2004; 24:338-43
 - 7) *Andravs R, Berger JS, Brown DL.* Effects of antibiotic therapy on outcomes of patients with coronary artery disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 2005; 293:2641-7
 - 8) *Gluud C, Als-Nielsen B, Damgaard M, Fischer Hansen J, Hansen S, Helo OH, Hildebrandt P, Hilden J, Jensen GB, Kastrup J, Kolmos HJ, Kjoller E, Lind I, Nielsen H, Petersen L, Jespersen CM.* Clarithromycin for 2 weeks for stable coronary heart disease: 6-year follow-up of the CLARICOR randomized trial and updated meta-analysis of antibiotics for coronary heart disease. *Cardiology* 2008; 111:280-7
 - 9) *Libby P.* Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutr Rev* 2007; 65:S140-6
 - 10) *Epstein SE, Zhu J, Najafi AH, Burnett MS.* Insights into the role of infection in atherogenesis and in plaque rupture. *Circulation* 2009; 119:3133-41
 - 11) *Kozarov E.* Bacterial invasion of vascular cell types: vascular infectology and atherogenesis. *Future Cardiol* 2012; 8:123-38
 - 12) *Levi M, van der Poll T, Schultz M.* Infection and inflammation as risk factors for thrombosis and atherosclerosis. *Semin Thromb Hemost* 2012; 38:506-14
 - 13) *Levi M, van der Poll T, Schultz M.* New insights into pathways that determine the link between infection and thrombosis. *Neth J Med* 2012; 70:114-20
 - 14) *Hansson GK, Libby P, Schonbeck U, Yan ZQ.* Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res* 2002; 91:281-91
 - 15) *Stassen FR, Vainas T, Bruggeman CA.* Infection and atherosclerosis. An alternative view on an outdated hypothesis. *Pharmacol Rep* 2008; 60:85-92
 - 16) *Buono C, Binder CJ, Stavrakis G, Witztum JL, Glimcher LH, Lichtman AH.* T-bet deficiency reduces atherosclerosis and alters plaque antigen-specific immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:1596-601
 - 17) *De Palma R, Del Galdo F, Abbate G, Chiariello M, Calabro R, Forte L, Cimmino G, Papa MF, Russo MG, Ambrosio G, Giombolini C, Tritto I, Notaristefano S, Berrino L, Rossi F, Golino P.* Patients with acute coronary syndrome show oligoclonal T-cell recruitment within unstable plaque: evidence for a local, intracoronary immunologic mechanism. *Circulation* 2006; 113:640-6
 - 18) *Oldstone MB.* Molecular mimicry, microbial infection, and autoimmune disease: evolution of the concept. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005; 296:1-17
 - 19) *Zhu J, Quyyumi AA, Rott D, Csako G, Wu H, Halcox J, Epstein SE.* Antibodies to human heat-shock protein 60 are associated with the presence and severity of coronary artery disease: evidence for an autoimmune component of atherogenesis. *Circulation* 2001; 103:1071-5
 - 20) *Xu Q, Wick G.* The role of heat shock proteins in protection and pathophysiology of the arterial wall. *Mol Med Today* 1996; 2:372-9
 - 21) *Rosenfeld ME, Campbell LA.* Pathogens and atherosclerosis: update on the potential contribution of multiple infectious organisms to the pathogenesis of atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2011; 106:858-67

- 22) *Kalayoglu MV, Byrne GI*. Induction of macrophage foam cell formation by *Chlamydia pneumoniae*. *J Infect Dis* 1998; 177:725-9
- 23) *Campbell LA, Yaraei K, Van Lenten B, Chait A, Blessing E, Kuo CC, Nosaka T, Ricks J, Rosenfeld ME*. The acute phase reactant response to respiratory infection with *Chlamydia pneumoniae*: implications for the pathogenesis of atherosclerosis. *Microbes Infect* 2010; 12:598-606
- 24) *Naiki Y, Sorrentino R, Wong MH, Michelsen KS, Shimada K, Chen S, Yilmaz A, Slepkin A, Schroder NW, Crother TR, Bulut Y, Doherty TM, Bradley M, Shaposhnik Z, Peterson EM, Tontonož P, Shah PK, Arditi M*. TLR/MyD88 and liver X receptor alpha signaling pathways reciprocally control *Chlamydia pneumoniae*-induced acceleration of atherosclerosis. *J Immunol* 2008; 181:7176-85
- 25) *Erkkila L, Laitinen K, Haasio K, Tiitola T, Jauhainen M, Lehr HA, Aalto-Setälä K, Saikku P, Leinonen M*. Heat shock protein 60 autoimmunity and early lipid lesions in cholesterol-fed C57BL/6J mice during *Chlamydia pneumoniae* infection. *Atherosclerosis* 2004; 177:321-8
- 26) *Kalayoglu MV, Libby P, Byrne GI*. *Chlamydia pneumoniae* as an emerging risk factor in cardiovascular disease. *JAMA* 2002; 288:2724-31
- 27) *Trevisan M, Dorn J*. The relationship between periodontal disease (pd) and cardiovascular disease (cvd). *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2010; 2:e2010030
- 28) *Fiehn NE, Larsen T, Christiansen N, Holmstrup P, Schroeder TV*. Identification of periodontal pathogens in atherosclerotic vessels. *J Periodontol* 2005; 76:731-6
- 29) *Teles R, Wang CY*. Mechanisms involved in the association between periodontal diseases and cardiovascular disease. *Oral Dis* 2011; 17:450-61
- 30) *Lalla E, Lamster IB, Hofmann MA, Bucciarelli L, Jerud AP, Tucker S, Lu Y, Papanicolaou PN, Schmidt AM*. Oral infection with a periodontal pathogen accelerates early atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:1405-11
- 31) *Champagne C, Yoshinari N, Oetjen JA, Riche EL, Beck JD, Offenbacher S*. Gender differences in systemic inflammation and atheroma formation following *Porphyromonas gingivalis* infection in heterozygous apolipoprotein E-deficient mice. *J Periodontol* 2009; 44:569-77
- 32) *Adiloglu AK, Ocal A, Can R, Duver H, Yavuz T, Aridogan BC*. Detection of *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* DNA in human coronary arteries and evaluation of the results with serologic evidence of inflammation. *Saudi Med J* 2005; 26:1068-74
- 33) *Stone AF, Mendall MA, Kaski JC, Edger TM, Risley P, Poloniecki J, Camm AJ, Northfield TC*. Effect of treatment for *Chlamydia pneumoniae* and *Helicobacter pylori* on markers of inflammation and cardiac events in patients with acute coronary syndromes: South Thames Trial of Antibiotics in Myocardial Infarction and Unstable Angina (STAMINA). *Circulation* 2002; 106:1219-23
- 34) *Wang Z*. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 2011; 472:57-63
- 35) *Piya MK, Harte AL, McTernan PG*. Metabolic endotoxaemia: is it more than just a gut feeling? *Current opinion in lipidology* 2013; 24:78-85
- 36) *Zhu J, Nieto FJ, Horne BD, Anderson JL, Muhlestein JB, Epstein SE*. Prospective study of pathogen burden and risk of myocardial infarction or death. *Circulation* 2001; 103:45-51
- 37) *Tufano A, Di Capua M, Coppola A, Conca P, Cimino E, Cerbone AM, Di Minno G*. The infectious burden in atherothrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2012; 38:515-23
- 38) *Zhu J, Quyyumi AA, Norman JE, Csako G, Waclawiw MA, Shearer GM, Epstein SE*. Effects of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C-reactive protein levels. *Am J Cardiol* 2000; 85:140-6
- 39) *Rupprecht HJ, Blankenberg S, Bickel C, Rippin G, Hafner G, Prellwitz W, Sch-*

- lumberger W, Meyer J.* Impact of viral and bacterial infectious burden on long-term prognosis in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104:25-31
- 40) *Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Blankenberg S, Bickel C, Kopp H, Rippin G, Victor A, Hafner G, Schlumberger W, Meyer J.* Impact of infectious burden on extent and long-term prognosis of atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105:15-21