



Faculté de médecine

Année 2017/2018

N°

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

Amal AIDOU

Née le 16 Février 1989 à Souama (Algérie)

TITRE

Grippe et syndrome coronarien aigu :

Analyse d'une association clinique et effets potentiels de la vaccination antigrippale.

Pistes biologiques et possibles mécanismes en jeu. Revue de la littérature.

Présentée et soutenue publiquement le **24 Octobre 2018** devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Bertrand FOUGERE, Gériatrie, Faculté de Médecine – Tours

Membres du Jury :

Professeur Théodora BEJAN-ANGOULVANT, Pharmacologie clinique, Faculté de Médecine – Tours

Professeur Catherine GAUDY-GRAFFIN, Bactériologie-virologie, Hygiène hospitalière, Faculté de Médecine – Tours

Professeur Philippe ROINGEARD, Biologie cellulaire, Faculté de Médecine – Tours

Professeur Thierry CONSTANS, Gériatrie, Professeur Honoraire, PH, Faculté de Médecine – Tours

Directeur de thèse : Docteur Cédric DE LA PORTE DES VAUX, Médecine Générale – Ligueil

UNIVERSITE DE TOURS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Pr Henri MARRET

ASSESEURS

Pr Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*

Pr Mathias BUCHLER, *Relations internationales*

Pr Hubert LARDY, *Moyens – relations avec l'Université*

Pr Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale*

Pr François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*

Pr Patrick VOURC'H, *Recherche*

RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

Mme Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Pr Emile ARON (†) – 1962-1966

Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962

Pr Georges DESBUQUOIS (†) – 1966-1972

Pr Andr  GOUAZE – 1972-1994

Pr Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004

Pr Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Pr Daniel ALISON

Pr Philippe ARBEILLE

Pr Catherine BARTHELEMY

Pr Christian BONNARD

Pr Philippe BOUGNOUX

Pr Alain CHANTEPIE

Pr Pierre COSNAY

Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL

Pr Lo c DE LA LANDE DE CALAN

Pr Alain GOUDEAU

Pr No l HUTEN

Pr Olivier LE FLOCH

Pr Yvon LEBRANCHU

Pr Elisabeth LECA

Pr Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ

Pr Gérard LORETTE

Pr Roland QUENTIN

Pr Alain ROBIER

Pr Elie SALIBA

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – P. BARDOS – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – P. BONNET – M. BROCHIER – P. BURDIN – L. CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – C. COUET – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUAZE – J.L. GUILMOT – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – J. LAUGIER – P. LECOMTE – E. LEMARIE – G. LEROY – Y. LHUINTE – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAIN – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – J.C. ROLLAND – D. ROYERE – A. SAINDELLE – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – D. SIRINELLI – B. TOUMIEUX – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian.....	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BALLON Nicolas.....	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle.....	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora	Pharmacologie clinique
BERNARD Anne	Cardiologie
BERNARD Louis	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle	Biologie cellulaire
BLASCO Hélène.....	Biochimie et biologie moléculaire
BODY Gilles	Gynécologie et obstétrique
BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
BRILHAULT Jean.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck.....	Urologie
BUCHLER Matthias.....	Néphrologie
CALAIS Gilles	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent.....	Psychiatrie d'adultes
CHANDENIER Jacques.....	Parasitologie, mycologie
COLOMBAT Philippe.....	Hématologie, transfusion
CORCIA Philippe.....	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et imagerie médicale
DE TOFFOL Bertrand	Neurologie
DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique
DESOUBEAUX Guillaume.....	Parasitologie et mycologie
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DIOT Patrice.....	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri.....	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
DUMONT Pascal	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan	Réanimation
FAUCHIER Laurent	Cardiologie
FAVARD Luc.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUGERE Bertrand	Gériatrie
FOUQUET Bernard.....	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & cytologie pathologiques
GAUDY-GRAFFIN Catherine.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOGA Dominique.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GRUEL Yves.....	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice.....	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUYETANT Serge	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel.....	Hématologie, transfusion
HAILLOT Olivier.....	Urologie
HALIMI Jean-Michel.....	Thérapeutique
HANKARD Régis.....	Pédiatrie
HERAULT Olivier	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe.....	Biologie cellulaire
LABARTHE François	Pédiatrie
LAFFON Marc	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert.....	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd.....	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique.....	Bactériologie-virologie
LAURE Boris.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry.....	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel.....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie

MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel	Dermatologie-vénérologie
MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	Gynécologie-obstétrique
PAGES Jean-Christophe	Biochimie et biologie moléculaire
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Dominique	Réanimation médicale, médecine d'urgence
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	Ophthalmologie
PLANTIER Laurent	Physiologie
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénérologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VAILLANT Loïc	Dermato-vénérologie
VELUT Stéphane	Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

LEBEAU Jean-Pierre

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien	Soins palliatifs
POTIER Alain	Médecine Générale
ROBERT Jean	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

BAKHOS David	Physiologie
BARBIER Louise	Chirurgie digestive
BERHOUE Julien	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BERTRAND Philippe	Biostat., informatique médical et technologies de communication
BRUNAUT Paul	Psychiatrie d'adultes, addictologie
CAILLE Agnès	Biostat., informatique médical et technologies de communication
CLEMENTY Nicolas	Cardiologie
DOMELIER Anne-Sophie	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane	Biophysique et médecine nucléaire
FAVRAIS Géraldine	Pédiatrie
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie	Anatomie et cytologie pathologiques
GATAULT Philippe	Néphrologie
GOUILLEUX Valérie	Immunologie
GUILLON Antoine	Réanimation
GUILLON-GRAMMATICO Leslie	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
HOARAU Cyrille	Immunologie
IVANES Fabrice	Physiologie
LE GUELLEC Chantal	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
MOREL Baptiste	Radiologie pédiatrique
PIVER Éric	Biochimie et biologie moléculaire

REROLLE Camille.....Médecine légale
ROUMY JérômeBiophysique et médecine nucléaire
SAUTENET BénédicteNéphrologie
TERNANT David.....Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
ZEMMOURA IlyessNeurochirurgie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia.....Neurosciences
BOREL Stéphanie.....Orthophonie
DIBAO-DINA ClarisseMédecine Générale
MONJAUZE CécileSciences du langage - orthophonie
PATIENT Romuald.....Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET CécileMédecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

RUIZ Christophe.....Médecine Générale
SAMKO Boris.....Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

BOUAKAZ AyacheDirecteur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
CHALON SylvieDirecteur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
COURTY YvesChargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
DE ROCQUIGNY HuguesChargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
ESCOFFRE Jean-MichelChargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
GILOT Philippe.....Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GUILLEUX FabriceDirecteur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7001
GOMOT Marie.....Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
HEUZE-VOURCH Nathalie.....Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
KORKMAZ Brice.....Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER FrédéricChargé de Recherche INSERM - UMR INSERM 1253
LE PAPE AlainDirecteur de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
MAZURIER Frédéric.....Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
MEUNIER Jean-ChristopheChargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
PAGET ChristopheChargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
RAOUL WilliamChargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
SI TAHAR MustaphaDirecteur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
WARDAK Claire.....Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE ClaireOrthophoniste
GOUIN Jean-Marie.....Praticien Hospitalier
PERRIER DanièleOrthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie

LALA EmmanuellePraticien Hospitalier
MAJZOUB Samuel.....Praticien Hospitalier

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE Béatrice.....Praticien Hospitalier

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Bertrand FOUGERE.

Vous avez accepté sans hésiter de présider le jury de cette thèse. Veuillez recevoir l'expression de ma sincère reconnaissance et l'assurance de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Thierry CONSTANS.

Je suis profondément honorée que vous ayez accepté de juger mon travail. Vous avez été présent dans mes premiers pas et avez contribué pour grande part à façonner mon parcours. Je vous remercie, tout particulièrement, de m'avoir transmis votre passion de la Gériatrie. Ce fut un réel plaisir et une expérience enrichissante de travailler à vos côtés.

A Madame le Professeur Théodora BEJAN-ANGOULVANT.

Je vous remercie de l'intérêt que vous avez porté à mon sujet et d'avoir accepté de juger ce travail. Soyez assuré de ma sincère gratitude.

A Madame le Professeur Catherine GAUDY-GRAFFIN.

Je vous témoigne toute ma gratitude d'avoir accepté d'être membre de mon jury. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Philippe ROINGEARD.

Vous me faites l'honneur d'apporter votre expérience à la critique de ce travail en siégeant dans le jury de cette thèse. Je vous prie de bien vouloir accepter ma respectueuse considération.

A Monsieur le Docteur Cédric DE LA PORTE DES VAUX, mon directeur de thèse.

Vous avez accepté de me soutenir et de m'accompagner tout au long de ce travail. Je vous remercie pour votre patience et vos conseils. Cela a été un plaisir de travailler avec vous. Nous avons découvert ensemble et appris à dépasser les difficultés lors de ce travail de thèse. Merci pour le temps que vous m'avez consacré malgré votre emploi du temps très chargé. Recevez ma sincère gratitude.

Au Docteur PAUTRAT, qui nous a soutenu tout au long de ce projet de thèse et apporté ces conseils avisés

Au médecin et enseignants, qui m'ont accompagné dans ma formation et participé à être le médecin de je suis aujourd'hui

A ma courageuse relectrice, ma dou de toujours, il était essentiel que ces premières lignes te reviennent. Je te remercie de ton soutien sans faille, durant tout mon internat, ta présence dans les coups durs, nos nuits blanches, ton amour, ta présence.

A mes parents, pour vos sacrifices et votre soutien inconditionnel. Le chemin parcouru a été long et vous avez toujours été là dans les moments qui comptent pour moi. C'est grâce à vous si j'en suis là aujourd'hui. Pour la fierté que je retrouve dans vos regards, merci d'avoir cru en moi et de m'avoir poussé jusqu'au bout ! Et oui, vous n'aurez plus à hésiter sur mon année d'étude...

A ma famille. Merci de votre soutien durant toutes ces années d'études : ça y est, c'est fini ! Ce n'est plus la peine de me demander combien d'année il me reste encore à faire ! Merci d'avoir été là pour moi, pour vos encouragements, et votre patience ! Et comme le disait Djem', « call me doctor ...** »

Enfin, je te laisserai ces dernières lignes. A toi, Nony,

Qui partage déjà ma vie depuis neuf ans. Je ne pourrais jamais te remercier à la hauteur de ton engagement à mes côtés tout au long de ces années. Que ce soit pour cette thèse ou tous les autres moments difficiles, tu as toujours été là pour m'encourager, m'épauler, croire en moi. Tu as toujours été fière de moi. Cette réussite, c'est aussi la tienne. Je ne pourrais jamais te dire à quel point je suis chanceuse de t'avoir. Merci pour le bonheur que tu apportes dans ma vie.

ABREVIATIONS

AVC : accident vasculaire cérébral
BKB2R : récepteur de la bradykinine B2
CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
CMLV : les cellules musculaires lisses vasculaires
ECVM : événement cardio-vasculaire majeur
HA : hémagglutinine
IAM : ischémie aigue myocardique
IC95% : intervalle de confiance à 95%
ICA : insuffisance cardiaque aigue
ICAM-1 : intercellular adhesion molecule-1
IDM : infarctus du myocarde
IFN γ : interféron γ
IgG/M: immunoglobuline de type G/M
IL : interleukine
InVS : Institut de veille sanitaire
LDL : lipoprotéine de basse densité
LDL-ox : lipoprotéine de basse densité oxydée
Lymphocytes Trég : lymphocytes T CD4+ régulateurs
MDA-LDL : Malondialdehyde-modified low density lipoprotein
MCP-1 : Monocyte Chematactic Protein-1,
M-CSF : Monocyte Colony Stimulating Factor
MCV : maladies cardiovasculaire
MEC : matrice extra-cellulaire
NA : neuramidinase
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
RNP : complexe ribonucléoprotéique
ROS : espèce réactive oxygénée
SCA : syndrome coronarien aigu
TGF- β : Transforming Growth Factor- β
TNF α : tumor necrosis factor α
VCAM-1 : vascular cell adhesion molecule-1
VALT : vascular associated lymphoid tissue

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS.....	8
ABREVIATIONS	9
TABLE DES FIGURES.....	12
TABLEAUX.....	12
ANNEXES	12
RESUME	13
INTRODUCTION	14
PREAMBULE	15
1 . ATHEROSCLEROSE	17
1.1 RAPPEL ANATOMIQUE DU SYSTEME ARTERIEL.....	17
1.2 CLASSIFICATION DE L'ATHEROSCLEROSE	19
1.3 EVOLUTION DE L'ATHEROSCLEROSE	21
1.3.1 DE L'ATHEROGENESE A LA PLAQUE FIBRO-LIPIDIQUE	22
1.3.2 EVOLUTION DE LA PLAQUE JUSQU'A SA RUPTURE	26
1.4 THEORIE INFLAMMATOIRE ET ATHEROSCLEROSE	33
1.4.1 ACTEURS CELLULAIRES AU COURS DE L'INFLAMMATION.....	33
1.4.2 MODIFICATION DE L'ENVIRONNEMENT DES LESIONS	38
2 . HYPOTHESE INFECTIEUSE.....	41
2.1 HISTOIRE DE L'HYPOTHESE INFECTIEUSE	41
2.2 HYPOTHESE INFECTIEUSE : DU PLAUSIBLE AU PROBABLE	42
2.2.1 DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES.....	42
2.2.2 DONNEES ANATOMO-PATHOLOGIQUES.....	42
2.2.3 DONNEES EXPERIMENTALES	43
2.2.4 DONNEES THERAPEUTIQUES.....	43
3 . VIRUS GRIPPAL ET ATHEROSCLEROSE	45
3.1 IMPLICATION DU VIRUS INFLUENZA DANS L'ATHEROSCLEROSE	45
3.1.1 VIRUS DE LA GRIPPE : CARACTERISTIQUES ET REponse DE L'HOTE	45
3.1.2 ASSOCIATION TEMPORELLE ENTRE L'INFECTION GRIPPALE ET LE SCA	48
3.2 VACCIN ANTIGRIPPAL ET PREVENTION DE L'ATHEROSCLEROSE	50
3.2.1 VACCIN ANTI GRIPPAL	50
3.2.2 EFFET CARDIOPROTECTEUR DE LA VACCINATION ANTI GRIPPALE	52

MATERIELS & METHODES	56
4 . METHODOLOGIE	57
RESULTATS	58
5 . SELECTION DES ARTICLES	59
6 . POTENTIELS MECANISMES EN JEU	63
6.1 PREVENTION DE L'INFECTION GRIPPALE ET CES COMPLICATIONS	63
6.1.1 MECANISME DIRECT : EFFET DIRECT DU VIRUS GRIPPAL DANS LA PLAQUE	63
6.1.2 REACTION INFLAMMATOIRE SYSTEMIQUE	64
6.1.3 REACTION CROISEE AVEC LES COMPOSANTS DE LA PLAQUE	65
6.2 MODULATION DU PROCESSUS INFLAMMATOIRE DANS LA PLAQUE.....	67
6.3 RÔLE ATHÉRO-PROTECTEUR DES ANTICORPS VACCINAUX.	69
DISCUSSION	70
7.1 RESULTATS PRINCIPAUX	70
7.2 LIMITES DE L'ETUDE.....	75
7.3 PERSPECTIVES.....	75
CONCLUSION	78
ANNEXES	79
BIBLIOGRAPHIE	106

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1 : DISTRIBUTION DE LA MORTALITE MONDIALE PAR GROUPE DE PATHOLOGIE EN 2016.....	15
FIGURE 2 : STRUCTURE DE LA PAROI ARTERIELLE NORMALE DE MOYEN CALIBRE ET DE SES TROIS TUNIQUES.....	18
FIGURE 3 : SEQUENCE D'EVOLUTION DES LESIONS ATHEROSCLEROSES DE TYPE I A VI SELON LA CLASSIFICATION DE STARY.....	20
FIGURE 4 : INITIATION DE L'ATHEROGENESE DANS LA PAROI VASCULAIRE.....	23
FIGURE 5 : FORMATION DES CELLULES SPUMEUSES ET GENESE DE LA REACTION INFLAMMATOIRE.....	25
FIGURE 6 : EVOLUTION DE LA PLAQUE ATHEROSCLEREUSE EN PHENOTYPE STABLE OU VULNERABLE.....	28
FIGURE 7 : DEVELOPPEMENT DE L'ATHEROTHROMBOSE ET EVENEMENTS SECONDAIRE A LA RUPTURE DE PLAQUE.....	30
FIGURE 8 : DEVELOPPEMENT DE L'ATHEROSCLEROSE.....	32
FIGURE 9 : EFFET DES LYMPHOCYTES T SUR L'INFLAMMATION DE LA PLAQUE.....	35
FIGURE 10 : REPONSES DES LYMPHOCYTES B DANS L'ATHEROSCLEROSE.....	37
FIGURE 11 : ROLES DES CYTOKINES PRO-INFLAMMATOIRES AU COURS DU DEVELOPPEMENT DE L'ATHEROSCLEROSE.....	38
FIGURE 12 : EFFETS ANTI-ATHEROGENES DE L'INTERLEUKINE-10.....	39
FIGURE 13 : CYCLE DE VIE DU VIRUS GRIPPAL A.....	47
FIGURE 14 : DIAGRAMME DE FLUX (FLOW CHART SELON PRISMA).....	60
FIGURE 15 : MECANISMES POTENTIELS EXPLIQUANT L'EFFET ATHERO-PROTECTEUR DE LA VACCINATION ANTIGRIPPALE.....	62
FIGURE 16 : DECLENCHEMENT DU SYNDROME CORONARIEN AIGU PAR L'INFECTION GRIPPALE.....	66
FIGURE 17 : POSSIBLES MECANISMES CARDIOPROTECTEURS INDUIT PAR LA VACCINATION ANTI GRIPPAL.....	71

TABLEAUX

TABLEAU 1 : GENOME VIRAL A ET LES PROTEINES ENCODEES.....	46
TABLEAU 2 : CRITERES DE SELECTION DES ARTICLES.....	57
TABLEAU 3 : RESUME DES CARACTERISTIQUES DES QUATRE ETUDES INCLUES.....	61
TABLEAU 4 : EFFICACITE DES INTERVENTIONS CORONAIRES ET DU VACCIN ANTIGRIPPAL DANS LA PREVENTION DE L'INFARCTUS DU MYOCARDE.....	76

ANNEXES

ANNEXE I : ARTICLE 1.....	82
ANNEXE II : ARTICLE 2.....	89
ANNEXE III : ARTICLE 3.....	98
ANNEXE IV : ARTICLE 4.....	103

RESUME

Les causes de l'athérosclérose sont diverses et l'émergence récente de son mécanisme immuno-inflammatoire a mis au jour de nouvelles pistes étiopathogéniques. Les preuves s'accumulent quant à l'implication d'agents pathogènes dans ce processus, parmi lesquels le virus de la grippe. Un nombre croissant d'études épidémiologiques ont suggéré une association temporelle entre l'infection grippale et la survenue des syndromes coronariens aigus (SCA) faisant de ce virus, un potentiel acteur dans l'athérosclérose. Par la suite, de nouvelles preuves, basées sur des études observationnelles et des essais cliniques, ont suggéré que la vaccination anti grippale protègerait du SCA.

Sur ces bases, nous avons réalisé une revue de la littérature afin de résumer les différentes pistes biologiques pouvant expliquer cet effet athéroprotecteur porté par le vaccin antigrippal.

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées. Le vaccin peut indirectement prévenir l'infection et donc ces complications, mais également, orienter la réponse inflammatoire dans les plaques d'athérome vers un profil anti-inflammatoire et antithrombotique, contribuant ainsi à stabiliser ces lésions et éviter les complications athéro-thrombotiques. Une autre approche possible peut être le rôle protecteur porté par les anticorps induits par la vaccination, comme le suggère les bénéfices soutenus observés à distance de la saison grippale.

Bien qu'aucune relation causale ne puisse être établie, et que les études sur le sujet gardent des limites certaines, ces résultats mettent en avant les potentiels bienfaits de la vaccination et soutiennent les efforts visant à augmenter les taux de vaccinations dans les groupes à risque.

Mots clés : athérosclérose, syndrome coronarien aigu, grippe, vaccination, immunité.

INTRODUCTION

PREAMBULE

La maladie athéromateuse définit un ensemble de pathologies affectant le système vasculaire, parmi lesquelles les pathologies neurovasculaires, les atteintes coronariennes et les maladies artérielles périphériques.

Les maladies cardio-vasculaires (MCV) représentent la première cause de mortalité dans le monde. En 2016, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recense 17,5 millions de décès attribués aux MCV, soit 30% de l'ensemble des décès dans le monde. Ce rapport révèle deux principales pathologies au cœur de cette mortalité, la coronaropathie avec 7,5 millions de décès et l'accident vasculaire cérébral (AVC) responsable de 6,7 millions de décès (**Figure 1**) (1). De plus, une aggravation de ces chiffres est attendue, puisque l'OMS estime à 23,6 millions d'individus qui décéderont d'une maladie cardiovasculaire en 2030 témoignant du réel problème de santé publique que posent les MCV. A ces données de mortalité se mêle également une dimension économique relative aux coûts de prise en charges des MCV. En 2006, Leal et coll.(2), ont estimé ces dépenses à 169 milliards d'euros pour l'ensemble de l'Union Européenne, soit 62% des coûts de santé européens.

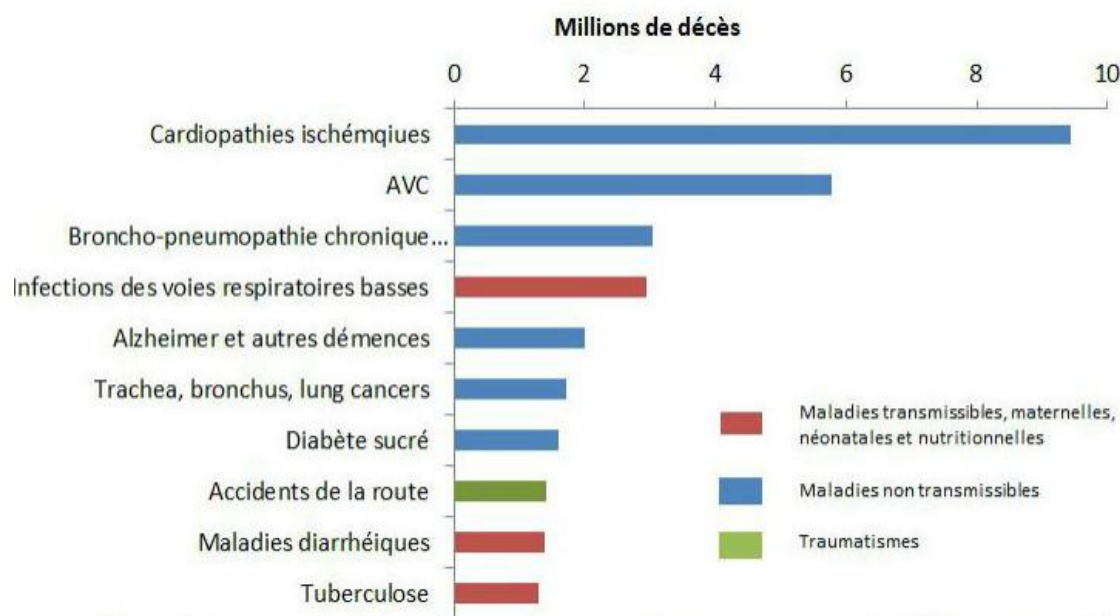


Figure 2 : Distribution de la mortalité mondiale par groupe de pathologie en 2016¹

Les données de mortalité sont représentées sous forme de diagramme bâton et se limitent aux 10 principales pathologies en cause.

¹ Source: Global Health Estimates 2016 : Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. Geneva, World Health Organization; 2018 ¹.

Par ailleurs, au-delà des MCV, les données de mortalité placent les infections respiratoires comme la 3^{ème} cause de décès dans le monde juste derrière les MCV (**Figure 1**). Parmi ces pathologies respiratoires se trouve l'infection grippale. En France, elle atteint chaque année plus de 2 millions de personnes. Lors de la saison grippale de 2016-2017, l'Institut de veille sanitaire (InVS) a recensé 41 000 passages aux urgences, comprenant 6 500 ayant donné lieu à une hospitalisation, 1 469 cas d'infection grippale sévères et enfin 21 200 décès (3). Ainsi, la grippe représente un vrai devoir et défi de santé publique.

Ces dix dernières années, deux constats émergents associent l'infection grippale à la morbi-mortalité cardiovasculaire. En effet, ajoutés aux facteurs de risque traditionnels des MCV (hypertension, tabagisme, diabète, dyslipidémie, obésité, sédentarité, âge, sexe, hérédité cardiaque) (4), les études épidémiologiques récentes avancent de nouvelles associations avec les agents infectieux, notamment dans le développement et la progression de l'athérosclérose.

Parmi les infections étudiées pour leur rôle dans la pathologie vasculaire, un premier constat décrit une association entre la grippe et les complications ischémiques coronariennes. Le scénario explicatif proposé suggère que l'infection grippale pourrait agir comme un stimulus inflammatoire, ou « déclencheur » à l'origine de la déstabilisation de la plaque athéromateuse vulnérable, sa rupture, la formation d'un thrombus aboutissant *in fine* à l'occlusion de l'artère coronaire.

Le second constat décrit une corrélation significative entre la vaccination antigrippale et la réduction des événements cardiovasculaires. Malgré les effets protecteurs supposés de la vaccination antigrippale, peu de données sont disponibles pour décrire les mécanismes sous-jacents. La compréhension des processus cellulaires putatifs représente un objectif de recherche ciblé par un nombre croissant d'études puisqu'il pourrait permettre de définir de nouvelles modalités thérapeutiques et préventives vis-à-vis des complications cardiovasculaires.

Ce travail se propose de décrire et évaluer les mécanismes cellulaires exposés dans la littérature pouvant lier la vaccination antigrippale et les complications de l'athérosclérose. L'objectif étant d'apporter une vision générale de l'effet athéroprotecteur supposé de la vaccination grippal afin de proposer des axes thérapeutiques potentiels.

1 . ATHEROSCLEROSE

L'athérosclérose se caractérise par des altérations focales des vaisseaux sanguins se traduisant par le développement progressif et au long cours de plaques athéromateuses d'abord asymptomatiques puis pouvant évoluer jusqu'à la sténose ou la survenue accidentelle de complications thrombotiques résultant d'évènement de rupture de plaque.

Dans ce chapitre, nous proposons une description approfondie de l'athérosclérose artérielle avec un rappel préalable sur la constitution histo-anatomique des vaisseaux, puis des processus physiopathologiques en jeu dans la constitution et la progression des lésions, en focalisant notre propos, dans un troisième temps, sur le processus inflammatoire.

1.1 RAPPEL ANATOMIQUE DU SYSTEME ARTERIEL

Sur le plan anatomo-histologique, les artères se composent de trois couches cellulaires formant le vaisseau : *l'intima*, *la média* puis *l'adventice* (**Figure 2**) (5).

L'intima, partie la plus interne de l'artère, en contact avec la lumière vasculaire, est constituée d'une monocouche de cellules endothéliales. Cette interface physiologique entre le sang circulant et la paroi artérielle forme l'endothélium vasculaire et joue un rôle essentiel dans l'homéostasie du vaisseau. Il participe à l'inhibition de la thrombose et au recrutement des cellules immunitaires, communique avec les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV) sous-jacentes en sécrétant des médiateurs vasoactifs régulant leur contraction et leur prolifération. Sous cette interface, se trouve la partie sous-endothéliale composée de la matrice extracellulaire (MEC). Celle-ci est essentiellement constituée de tissu conjonctif fibro-élastique et de quelques éléments cellulaires, les CMLV et les macrophages. Cet espace est la zone la plus sensible au déclenchement et au développement des lésions d'athérosclérose. *L'intima* est séparée de la *média* par la limitante élastique interne.

La média est la partie musculaire du vaisseau et se compose d'un ensemble cellulo-fibreux de CMLV et de fibres élastiques et de collagène synthétisées *in situ* par les CMLV. Cette organisation confère au vaisseau ses propriétés mécaniques, essentielles à l'ajustement du calibre vasculaire. *La média* est séparée de *l'adventice* par une limitante élastique externe, retrouvée uniquement dans les vaisseaux de gros calibre.

L'adventice est la tunique la plus externe. Elle est formée de fibroblastes et de tissu conjonctif qui confèrent à l'artère sa résistance à la rupture.

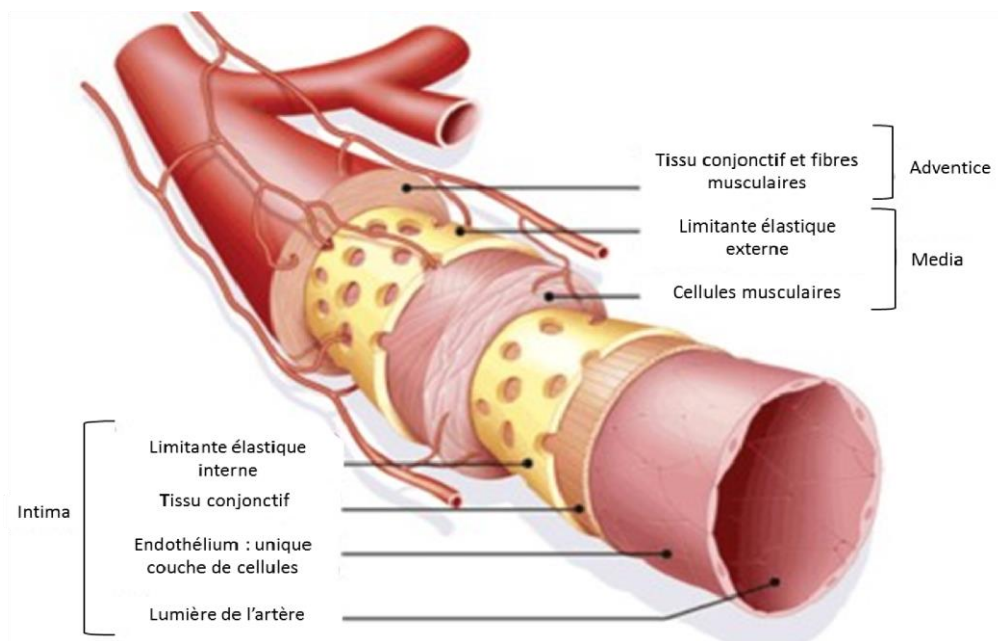


Figure 2 : Structure de la paroi artérielle normale de moyen calibre et de ses trois tuniques².

Représentation schématique illustrant le vaisseau et l'organisation histologique de ses feuillets : respectivement de la couche la plus interne vers la couche la plus externe : l'intima, la média et l'adventice.

Il existe trois différents types d'artères : (i) les artères élastiques (artères de gros calibres) composées principalement de fibres élastiques pour supporter les fortes variations de pression, (ii) les artères musculaires (telle que les coronaires) riches en CMLV leur conférant des propriétés contractiles importantes et, (iii) les artérioles, structure la plus simplifiée.

Seules les artères de gros et moyens calibres sont exposées au risque de formation de plaques d'athérome. De plus, certaines zones sont préférentiellement concernées notamment les zones de courbures et de bifurcation où la paroi est soumise à des contraintes mécaniques supérieures et des forces de cisaillement affectant l'intégrité vasculaire.

² Source: Sanofi-aventis France

1.2 CLASSIFICATION DE L'ATHEROSCLEROSE

L'athérosclérose a été définie en 1958 par l'OMS (6) comme « *une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibre, consistant en une accumulation focale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôts calcaires, le tout s'accompagnant de modifications de la media* ».

Cette définition propose une description de la particularité des lésions d'athérosclérose : leur siège intimal, leurs territoires préférentiels et enfin leur retentissement sur la *media*. Néanmoins cette appréciation caractérise davantage les lésions vasculaires évoluées (plaque fibro-lipidique non compliquée). Elle ne fait pas mention de la dimension temporelle de l'athérosclérose, à savoir les notions de lésion initiale, de progression, ni de ses complications. Il est aujourd'hui clairement établi que l'athérosclérose est une pathologie inflammatoire chronique, évolutive et dynamique, définie par différents stades qui seront détaillés dans les parties suivantes.

Une classification évolutive de la lésion d'athérosclérose a été proposée par l'« *American Heart Association* » et Stary *et al.* (7) en 1995, avec une division des événements pathologiques suivant un schéma séquentiel de 6 stades consécutifs de gravité croissante.

Cette classification a été modifiée, plus récemment, par Sakakura *et al.* (8) retenant une description anatomopathologique de l'athérosclérose en 3 stades évolutifs : la strie lipidique, la lésion fibro-lipidique et la lésion compliquée.

- **La strie lipidique** correspond au stade précoce et la plus fréquemment rencontrée des lésions dans les vaisseaux. Elle peut apparaître dès l'enfance et n'est pas associée à des manifestations cliniques. Les stries lipidiques résultent de l'accumulation de macrophages spumeux dans l'*intima* et se caractérisent par de légères saillies dans la lumière artérielle, visibles à l'œil nu. (Stade I à III dans la classification de Stary, **Figure 3**).
- **La lésion fibro-lipidique** est l'étape suivante de progression de la strie lipidique. De taille variable, elle fait saillie dans la lumière de l'artère. Des manifestations cliniques dues à l'obstruction vasculaire peuvent apparaître. Elle est constituée d'un noyau central lipidique entouré d'une enveloppe fibreuse. (Stade IV et V dans la classification de Stary, **Figure 3**).

- **La plaque compliquée** est le stade avancé de la maladie. La lésion fibro-lipidique progresse jusqu'à former la plaque compliquée habituellement rencontrée après 40 ans. Elle peut générer des manifestations cliniques « bruyantes » et potentiellement mortelles. L'évolution de la plaque induit des remaniements tels que l'hémorragie, la thrombose, l'ulcération ou les dépôts calcaires. La rupture de la plaque s'effectue généralement en regard des plaques instables.

(Stade VI dans la classification de Stary, **Figure 3**).

Nomenclature et type histologique	Stades et progression	Principal mécanisme de croissance	Date de début	Corrélation clinique
Type I : Lésion initiale Macrophages spumeux isolés		Croissance de la lésion par accumulation lipidique	Dès 10 ans	Asymptomatique
Type II : Strie lipidique Plusieurs couches de cellules spumeuses			Dès 30 ans	
Type III : Intermédiaire Type II et accumulation de lipides extracellulaires				
Type IV : Plaque d'athérome Formation d'un centre lipidique		Augmentation du collagène et des cellules musculaires lisses	Dès 40 ans	Asymptomatique ou symptomatique
Type V : Plaque fibro-lipidique Chape fibreuse +/- calcifications Cœur nécrotique				
Type VI : Lésion compliquée		Thrombose et hématome		

Figure 3 : Séquence d'évolution des lésions athérosclérotiques de type I à VI selon la classification de Stary³.

Cette classification découpe l'athérogénèse en 6 étapes, de la lésion initiale (I) à la lésion compliquée (VI) avec une précision des mécanismes de progression de la plaque, de l'âge minimum de sa constitution et de son caractère symptomatique ou non.

³ Figure adaptée d'après l'article de Stary et al., A Definition of Advanced Types of Atherosclerotic Lesions and a Histological Classification of Atherosclerosis. (1995)⁷

1.3 EVOLUTION DE L'ATHEROSCLEROSE

L'évolution de la plaque d'athérosclérose, ou athérogénèse, est un processus chronique, complexe, évoluant sur plusieurs dizaines d'années avec des périodes stables, ainsi que des épisodes aigus de déstabilisation.

Historiquement, la théorie lipidique a largement prédominé dans le modèle explicatif de l'athérogénèse. Le rôle des lipides est mis en évidence dès 1913 grâce aux travaux d'Anichkov et *al.* (9) qui évoquent, pour la première fois, l'hypothèse d'une accumulation progressive de lipides dans la paroi artérielle en utilisant un modèle lapin capable de développer des plaques d'athérosclérose lorsque soumis à un régime hyperlipidique. Dans les années 1970, la théorie inflammatoire émerge alors (10) et complète la théorie lipidique. Cette hypothèse définie par Ross et *al.*(10) comme une réponse à l'agression, « *response-to-injury* », tire son plus solide argument du fait que les plaques présentent les attributs classiques de l'inflammation chronique. L'inflammation représenterait un processus critique au cours des différents stades de l'athérogénèse : de l'initiation, la constitution de la plaque à sa progression et enfin à son instabilité responsable des complications aiguës telles que la rupture de plaque et les hémorragies (10).

Dans ce chapitre, seront abordés en deux volets les processus cellulaires et inflammatoires en jeu dans l'athérogénèse : la première partie se concentrera sur ces mécanismes de l'initiation de l'athérogénèse jusqu'à la constitution de la plaque fibro-lipidique, puis la seconde partie sera dédiée aux stades suivants de la plaque compliquée jusqu'à sa rupture et ses complications athéro-thrombotiques. Enfin, dans une troisième partie sera abordée le rôle central du processus inflammatoire dans la maladie athéromateuse.

1.3.1 DE L'ATHEROGENESE A LA PLAQUE FIBRO-LIPIDIQUE

1.3.1...1 INITIATION DE L'ATHEROGENESE

L'initiation de l'athérogénèse se manifeste par l'accumulation des lipoprotéines de basse densité (LDL) dans l'*intima* vasculaire. Cette infiltration passive de lipides est secondaire à une dysfonction endothéliale (11) consécutive à un stress hémodynamique (modifications focales de la pression vasculaire et des forces de cisaillement) (4) *et/ou* de l'influence de facteurs extrinsèques tels que la présence dans la circulation sanguine de LDL en quantité élevée ou modifiés, de radicaux libres causés par le tabagisme; de pathologies telles que l'hypertension et le diabète; d'altérations génétiques; de concentrations plasmatiques élevées en homocystéine ou encore de la présence de micro-organismes infectieux (10,12).

Cette dysfonction endothéliale engendre des réponses compensatoires modifiant les propriétés vasculaires normales avec, notamment l'activation de mécanismes inflammatoires locaux. Ce processus peut perdurer de façon chronique tant que les agents en causes ne sont pas supprimés ou neutralisés. La dysfonction endothéliale représente de ce fait un événement clé et précoce de l'athérogénèse.

L'endothélium dysfonctionnel acquiert une perméabilité aux LDL qui pénètrent alors jusque dans l'espace intimal vasculaires, au niveau de la MEC, où elles restent « retenues ». S'ensuit une étape essentielle de ce processus où les LDL piégées subissent une oxydation *in situ* au contact des cellules endothéliales, des CMLV ou encore des macrophages. L'accumulation et l'oxydation des LDL dans l'espace sous-endothélial favorisent, à leur tour, la dysfonction endothéliale (4,10,12) (**Figure 4 et 5**).

Cette réaction auto-entretenu sera à l'origine de l'initiation d'une réaction inflammatoire, caractérisée par le recrutement de monocytes et de lymphocytes T, dans la paroi artérielle qui va s'amplifier au fur et à mesure de l'évolution de la lésion vasculaire.

1.3.1...2 PROGRESSION DE L'ATHEROGENESE

La présence sous-endothéliale de LDL oxydés (LDL-ox) va initier la réaction inflammatoire qui aura pour conséquences la chimio-attraction des monocytes et des lymphocytes T. Les monocytes vont être à l'origine de la formation des cellules spumeuses tandis que les cellules lymphocytaires en association avec les macrophages vont être responsable de l'initiation et l'amplification du processus inflammatoire. Ces deux processus sont concomitants et nous nous proposons de les dissocier pour une meilleure compréhension (**Figure 4 et 5**).

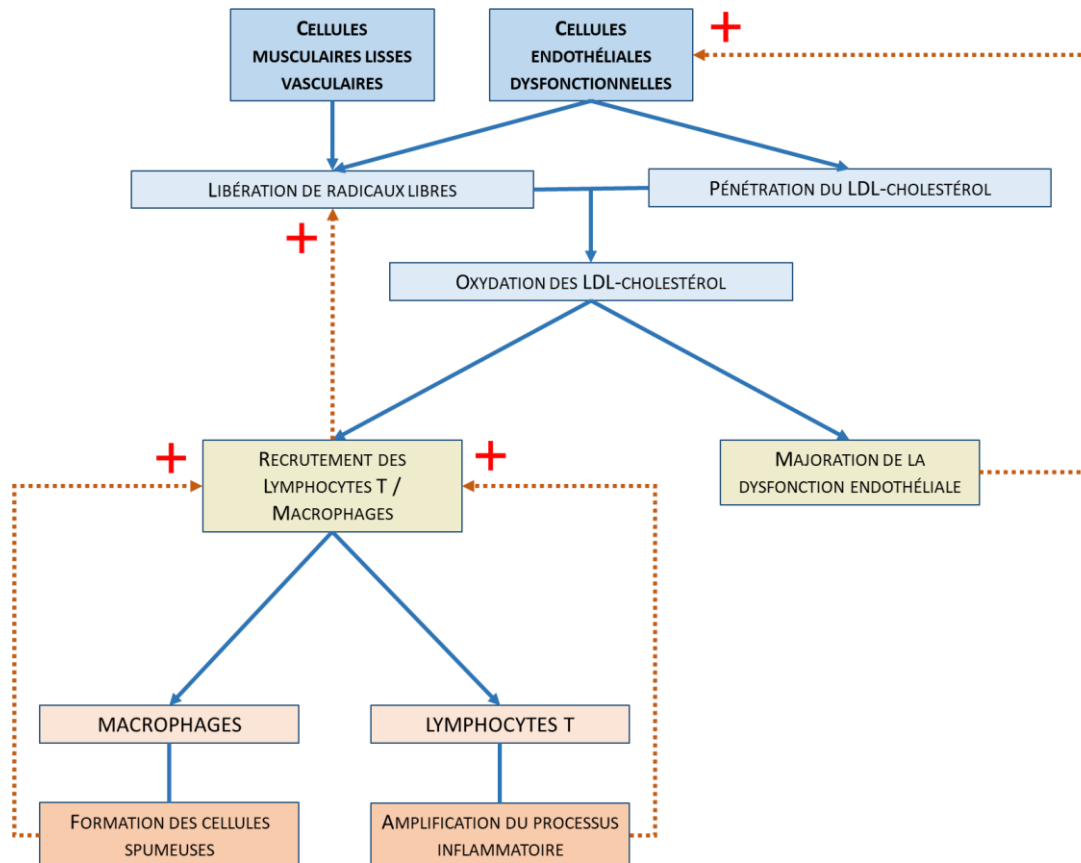


Figure 4 Initiation de l'athérogénèse dans la paroi vasculaire

La perméabilité endothéliale va entraîner une infiltration de LDL-cholestérol dans la paroi vasculaire. Le LDL va subir une modification oxydative résultant de l'interaction avec les cellules de la paroi (cellules endothéliales dysfonctionnelles et les CMLV). Cette oxydation induit le recrutement de cellules immunitaires, à savoir les macrophages et les lymphocytes T, responsable respectivement de la formation des cellules spumeuses de la plaque et de l'amplification du processus inflammatoire. Ils vont également contribuer à l'oxydation des LDL par la synthèse de radicaux libres et participer au recrutement de nouvelles cellules immunitaires. Le LDL oxydé va également altérer le fonctionnement endothélial. Ainsi cette première étape est responsable de l'auto-amplification du phénomène inflammatoire.

a) Formation des cellules spumeuses

L'accumulation anormale de LDL-ox dans l'intima vasculaire va stimuler les cellules endothéliales qui, en réponse, vont exprimer des molécules d'adhésion à leur surface (VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule) ou ICAM-1 (InterCellular Adhesion Molecule)). Ces molécules vont provoquer l'attraction, l'adhésion et la pénétration de monocytes circulant dans la paroi artérielle. Les monocytes infiltrés se différencient en macrophages, sous l'influence de divers facteurs (MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein-1) et M-CSF (Monocyte Colony Stimulating Factor)) mais également, à moindre degré, en cellules dendritiques (cellules présentatrices de l'antigène). Les macrophages internalisent les LDL-ox par l'intermédiaire des récepteurs scavengers dits « récepteurs éboueurs » non soumis à régulation. En conséquence, la quantité de LDL-ox accumulée à l'intérieur des macrophages dépasse la capacité de ces derniers à les dégrader. Ils se transforment alors en cellules chargées de lipides appelées « cellules spumeuses » et demeurent piégées dans l'intima. Ils participeront alors aux premières lésions athéromateuses, à savoir *la strie lipidique* (4,12–14).

b) Induction d'une réaction inflammatoire chronique

Elle correspond à une réponse exacerbée du système immunitaire local et met en jeu à la fois les macrophages et les lymphocytes T. Les macrophages, après avoir infiltrés la paroi endothéliale y produisent une variété de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF α (Tumor Necrosis Factor α), les interleukines (IL) IL-1 et IL-12, des chimiokines ainsi que des radicaux libres, les espèces réactives oxygénées (ROS). Parallèlement, les lymphocytes T recrutés vont être activés par les macrophages de la plaques mais également les cellules dendritiques. En réponse, ils vont également produire des médiateurs pro-inflammatoires, parmi lesquels principalement l'interféron γ (IFN γ) (15–17).

Ensemble, ces cytokines génèrent la réponse inflammatoire locale responsable du recrutement *in situ* d'autres monocytes et lymphocytes T. Ils vont également participer à l'oxydation des LDL dans l'espace intimal (10,12,15,18,19).

Ainsi, le LDL-ox représente très probablement l'agent de stimulation primaire de la réaction inflammatoire dans l'athérogénèse, alors que les cytokines pro-inflammatoires exprimées ensuite par les cellules recrutées interviennent comme des facteurs d'amplification et de pérennisation du processus inflammatoire, dont le rôle sera discuté par la suite.

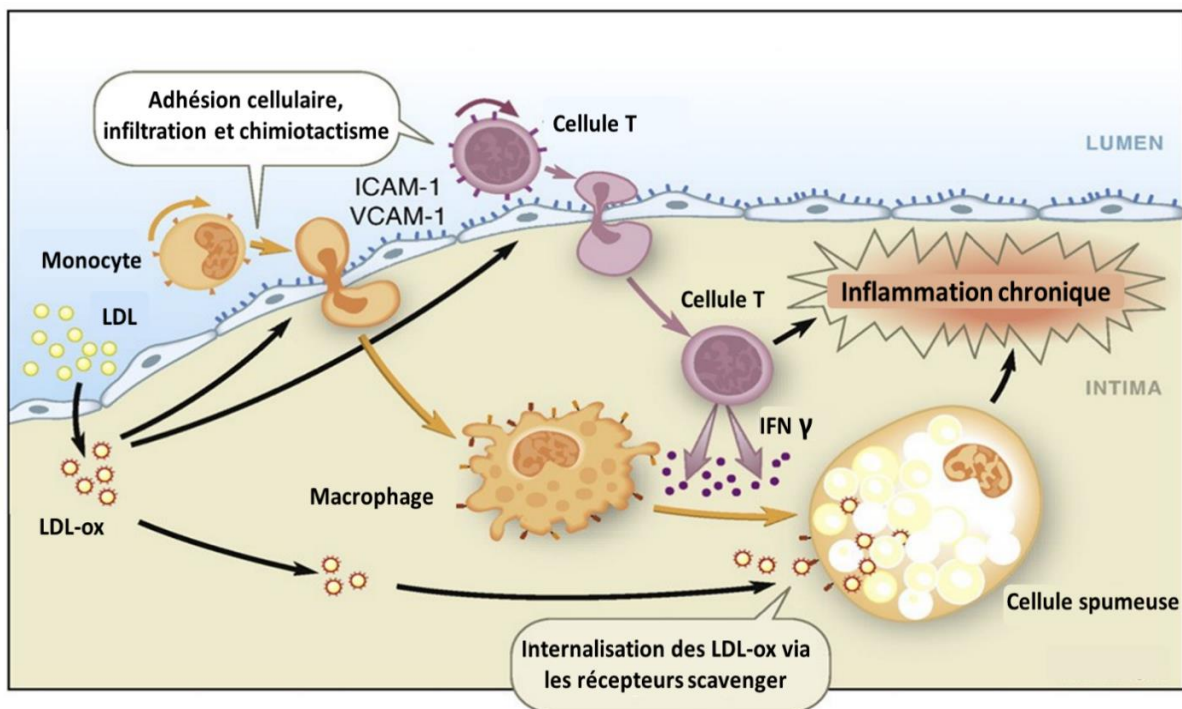


Figure 5 : Formation des cellules spumeuses et genèse de la réaction inflammatoire⁴

Les LDL infiltrent la paroi artérielle et subissent des modifications oxydatives. Les particules modifiées de LDL-ox induisent l'expression des molécules d'adhérence des monocytes (VCAM-1 et ICAM-1). Ceci va permettre la migration des monocytes dans la paroi vasculaire et leur différenciation en macrophages. Après avoir internalisé de grandes quantités de LDL-ox, les macrophages vont se transformer en cellules spumeuses. Parallèlement, les cellules T s'activent alors et produisent des médiateurs inflammatoires tels que l'IFN- γ , qui amplifie encore la réponse inflammatoire et contribue à l'athérogénèse.

1.3.1...3 DE LA STRIE LIPIDIQUE A LA LESION FIBRO-LIPIDIQUE

Les lipides de la plaque, d'abord intra-cellulaires, contenus dans les cellules spumeuses, s'accumulent par la suite dans le sous-endothélium, lorsque les capacités d'internalisation des macrophages sont dépassées. Ils se regroupent pour former des agrégats constituant la *strie lipidique* (4,8,20). Cette dernière n'évolue pas nécessairement vers la formation d'une plaque athéroscléreuse mais elle est le point de départ des lésions plus évoluées (20).

⁴ Figure adaptée d'après l'article de Andersson et *al.* Adaptive immunity and atherosclerosis. *Clin Immunol.* (2010) ¹⁶

Le processus par lequel la strie lipidique se transforme en lésion plus complexe ou « plaque » n'est pas encore clairement décrit. Toutefois, on peut aisément comprendre que le déséquilibre entre les processus inflammatoires et sa contrebalance, que nous détaillerons par la suite, est à l'origine de la progression de l'athérogénèse (14,18).

En effet, cette transition est initiée sous l'influence des LDL-ox, des différents facteurs chimiotactiques et facteurs de croissance produits par les macrophages et les lymphocytes T. Ils entraînent la migration des CMLV de la *média* des artères vers l'*intima* (8,20,21). Elles s'y multiplient, acquièrent un phénotype dédifférencié sécrétoire et produisent alors différents composants de la MEC notamment du collagène, de l'élastine et des protéoglycanes (8,14). Ensemble, ces éléments formeront la chape fibreuse. En réponse à cette charge lipidique et à la suite des stimuli inflammatoires, les CMLV peuvent également internaliser le LDL-ox pour acquérir un phénotype de cellules « spumeuses ». La chape encapsule progressivement et individualise le centre lipidique de la lumière artérielle.

Le centre athéromateux est le siège de phénomènes de morts cellulaires par apoptose ou nécrose. Elles impliquent l'ensemble des cellules de la plaque, parmi lesquelles les cellules spumeuses, aboutissant à la libération de leur contenu lipidique dans l'espace extracellulaire (7,8,10). La clairance inefficace de ces cellules apoptotiques par les cellules environnantes augmente l'accumulation des débris cellulaires et des lipides extracellulaires formant le noyau nécrotique. Ces modifications structurelles constituent la *plaque fibro-lipidique* (7,8,10).

1.3.2 ÉVOLUTION DE LA PLAQUE JUSQU'À SA RUPTURE

L'évolution de la plaque fibro-lipidique se fait sur de nombreuses années, selon 2 phénotypes (8,20–24) : une progression chronique aboutissant à la *sténose artérielle*, ou une évolution aiguë, par *érosion* ou *rupture* de la plaque athéromateuse. Ces deux processus font intervenir la notion de la composition de la plaque.

1.3.2...1 STENOSE ARTERIELLE

La paroi artérielle va connaître un remodelage à la suite de la formation de la strie lipidique puis de sa chape fibreuse. Elle va alors progressivement s'épaissir. Toutefois, l'augmentation de volume d'une plaque n'entraîne pas nécessairement d'effet proportionnel sur la lumière artérielle. Jusqu'à un stade avancé, le développement de la plaque dans la paroi vasculaire peut être compensé par une augmentation de taille du vaisseau ; ce phénomène a été défini sous le terme de *remodelage compensateur* (25). Une lumière artérielle de taille normale est donc tout à fait compatible avec l'existence de plaques athéroscléreuses très volumineuses. Néanmoins, lorsque le remodelage compensateur a atteint son maximum, toute augmentation de taille de la plaque retentit sur la lumière artérielle (8,25). Cette dernière va alors se rétrécir et sera responsable d'un déséquilibre entre les apports et la demande en oxygène se traduisant cliniquement par *l'angor stable*.

1.3.2...2 EROSION / RUPTURE DE LA PLAQUE FIBRO-LIPIDIQUE

Ce qui fait le danger d'une plaque n'est pas tant sa taille que les complications aiguës possibles. Ceci fait intervenir la notion de stabilité de la plaque (8,21,22). Il est actuellement considéré que les plaques stables, ayant le plus faible risque d'évolution vers un accident aigu, sont constituées d'un centre lipidique de petite taille entouré d'une chape fibreuse épaisse riche en CMLV et collagène. En revanche, les plaques instables, plus vulnérables et donc à plus haut risque de complications, comportent un centre lipidique volumineux (plus de 30 à 40 % du volume total de la plaque) entouré d'une chape fibreuse fine pauvre en CMLV et collagène (8,21,24) (**Figure 6**).

Les plaques vulnérables, particulièrement sensible à la rupture, peuvent être sources de complications thrombo-emboliques. Elles sont responsables de la morbi-mortalité imputable à l'athérosclérose (21,22). La progression des plaques vers un profil vulnérable va dépendre, d'une part, de facteurs « extrinsèques » telles les poussées hypertensives (8,22) mais principalement de ces facteurs intrinsèques, qui dépendent, comme nous l'avons évoqué, de la composition de la chape et du cœur lipidique. Plusieurs mécanismes pourraient intervenir dans la fragilisation de la plaque : un déséquilibre dans le modelage de la MEC, l'apoptose excessive des éléments cellulaires de la plaque et enfin les hémorragies intraplaques.

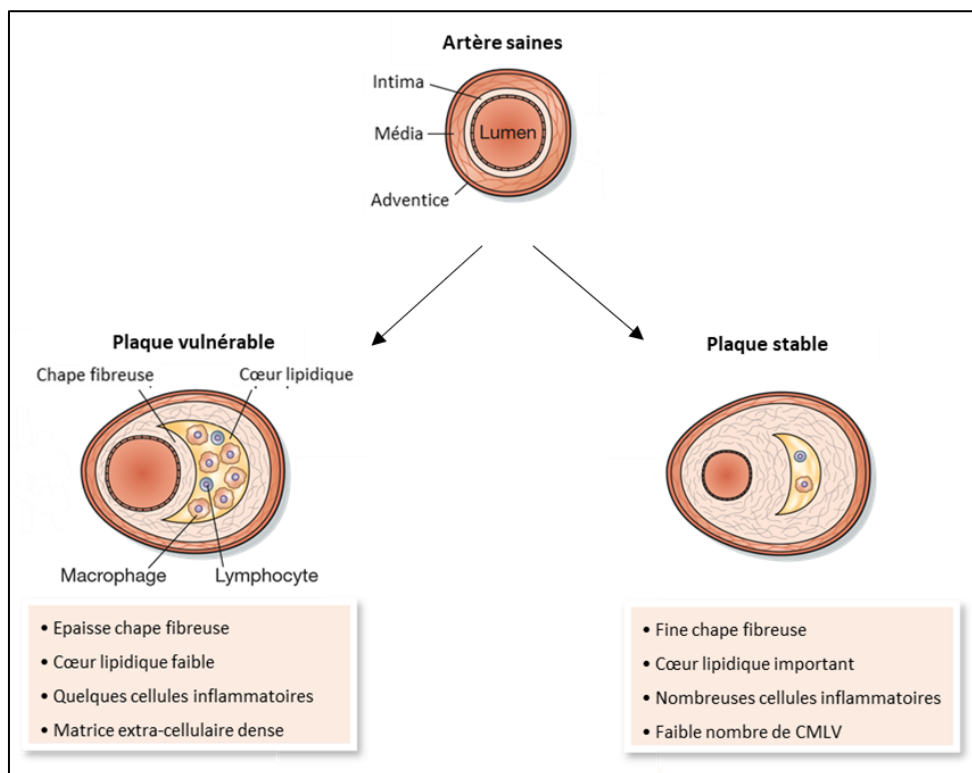


Figure 6 Evolution de la plaque athéroscléreuse en phénotype stable ou vulnérable.⁵

Les artères saines soumises à l'athérosclérose peuvent évoluer, dans leur phase avancée, vers deux phénotypes distincts : les plaques vulnérables, sensibles à la rupture et responsable des complications aiguës thrombo-emboliques observées au cours de la maladie athéromateuse, ou vers un profil plus stable contribuant à la sténose artérielle progressive et aux manifestations cliniques angineuses. Ces deux phénomènes sont caractérisés par la modulation de la chape fibreuse, des processus de mort cellulaire et la survenue d'hémorragie intra-plaque.

a) Dégradation et remodelage des composants de la MEC

Diverses cytokines semblent pouvoir réguler la production de la MEC par les CMLV. Au sein de la plaque athéroscléreuse, la dégradation de la MEC est sous le contrôle des métalloprotéinases ; elles sont sécrétées par de nombreuses cellules de la plaque mais essentiellement par les macrophages situés en périphérie du centre lipidique. L'activité des métalloprotéinases est en partie neutralisée par les inhibiteurs des métalloprotéinases ou TIMP ; il existe donc à l'intérieur de chaque plaque un équilibre complexe entre les métalloprotéinases et leurs inhibiteurs qui détermine l'activité protéolytique existante au sein de la lésion. Lorsque l'activité va dans le sens d'une protéolyse, il y a alors possibilité de fragilisation de la chape fibreuse (22,26).

⁵ Source adaptée d'après Libby, P et al. Stabilization of atherosclerotic plaques : New mechanisms and clinical targets. *Nat Med.* (2002) ²⁴

b) L'apoptose des cellules de la plaque

Même si cette apoptose est bénéfique aux stades précoces de l'athérosclérose, permettant l'élimination et la réduction des cellules au sein des lésions, elle s'avère néfaste au cours de l'évolution de la maladie en participant, dans les lésions avancées, à la constitution du centre nécrotique et l'amincissement de la chape fibreuse (21,22). Elle peut toucher les principaux types cellulaires présents : les cellules endothéliales participant à l'érosion de la plaque et la libération de facteurs pro-thrombotiques, les cellules musculaires lisses en amincissant la chape fibreuse et les macrophages contribuant au relargage d'éléments pro-inflammatoires (27,28).

c) La rupture de néo-vaisseaux à l'intérieur même de la plaque

Dans les plaques avancées, la néovascularisation, développée à partir de l'adventice, participe à l'exacerbation de la réponse inflammatoire en permettant le recrutement et l'infiltration de nouvelles cellules inflammatoires. Ces micro vaisseaux peuvent être à l'origine d'hémorragies intraplaques fragilisant la plaque (22).

Ainsi, la modulation de ces trois phénomènes dans la plaque fibro-lipidique va contribuer à orienter l'évolution de la plaque et être responsable de sa fragilisation. Ensemble, ils vont contribuer à la rupture de la plaque et de ces complications thrombo-emboliques.

1.3.2...3 CONSEQUENCES DE LA RUPTURE DE LA PLAQUE

La rupture met en contact le sang avec les éléments thrombogènes du noyau lipidique déclenchant la formation d'un caillot sanguin dans la lumière artérielle, définit sous le terme de *thrombose*. Trois scénarii sont alors possibles (22,29) (**Figure 7**) :

- 1) Une incorporation progressive du thrombus à la plaque athéromateuse va se produire. Cette modalité évolutive, la plus fréquente, aboutit à la reperméabilisation partielle du vaisseau, au prix d'une augmentation du volume de la plaque
- 2) Une obstruction partielle de la lumière artérielle par le thrombus exposant à un risque d'embolies dans le territoire d'aval
- 3) Une aggravation brutale de l'obstruction artérielle par un thrombus dit thrombus occlusif à l'origine de manifestation clinique aigue

Ainsi, il peut exister plusieurs traductions cliniques en fonction de la rapidité de constitution du thrombus, de son importance et enfin de sa localisation. Dans le cas d'une atteinte coronarienne, si l'occlusion artérielle est partielle, le myocarde reste partiellement vascularisé, mais de façon insuffisante. La plaque restera vulnérable, « fragile » avec un risque d'évolution secondaire. Cette situation clinique correspond à l'*angor instable*. D'autre part, si l'occlusion de la lumière vasculaire est complète, la perfusion myocardique du territoire en aval n'est plus permise entraînant une nécrose tissulaire, on parle alors d'*infarctus du myocarde* (IDM). Ces entités cliniques représentent les *syndromes coronaires aigus* (SCA).

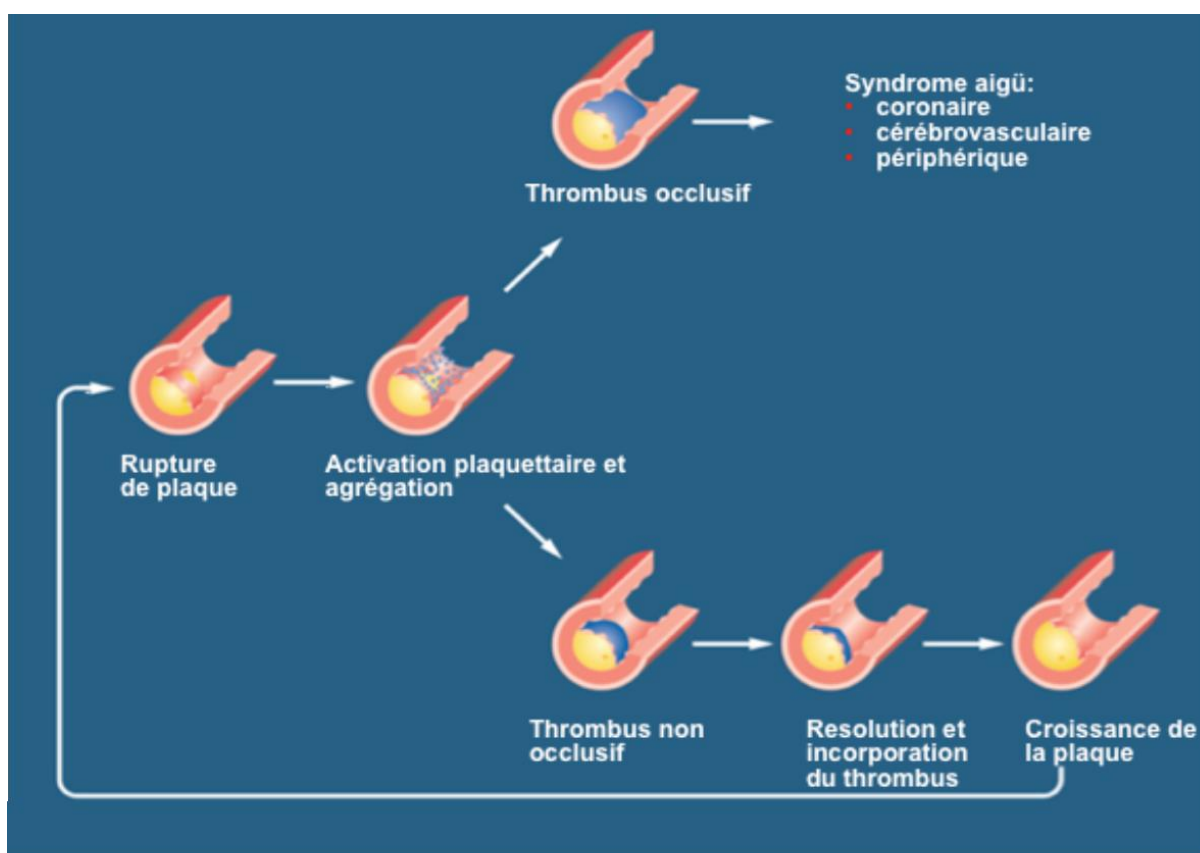


Figure 7 Développement de l'athérombose et événements secondaire à la rupture de plaque⁶

La rupture de la plaque vulnérable va exposer les éléments pro-thrombotiques aux facteurs de la coagulations présents dans la circulation. Ce contact va initier l'activation plaquettaire à l'origine de la formation d'un thrombus intra-vasculaire. Si ce thrombus conduit à l'occlusion complète de la lumière artérielle, il sera alors responsable d'une ischémie aiguë soit locale, soit dans un territoire en aval en cas de migration secondaire. Toutefois, en contexte d'occlusion incomplète, le thrombus sera progressivement incorporé à la paroi vasculaire et contribuera à la croissance de la plaque.

⁶ Figure adaptée d'après l'article de Drouet L. Atherothrombosis as a Systemic Disease. *Cerebrovasc Dis.* (2002) ²⁹.

En conclusion, on peut diviser schématiquement l'évolution de la plaque athéroscléreuse en différentes étapes (Figure 8) :

- **Initiation de l'athérogénèse**

1) Les cellules endothéliales dysfonctionnelles vont être perméables aux LDL et les laisser pénétrer au niveau de l'intima.

2) Le LDL ainsi accumulé dans le sous-endothélium va subir des modifications oxydatives par action des radicaux libres (ROS) secrétés par les cellules endothéliales, les CMLV et les macrophages.

- **Progression de l'athérogénèse**

3) Le LDL oxydé va, en retour, majorer l'altération fonctionnelle des cellules endothéliales qui vont, en réponse, solliciter le système immunitaire. S'ensuit ainsi la sécrétion de chimiokines (MCP-1, MCSF) et de molécules d'adhésion permettant aux cellules endothéliales de recruter les monocytes et lymphocytes T au niveau de l'intima.

- **Formation de la strie lipidique**

4) Pour neutraliser les LDL oxydés, les monocytes vont se différencier en macrophages et les internaliser. Lorsque leur capacité d'absorption sont dépassées, elles se transforment alors en cellules spumeuses. Parallèlement, ces cellules recrutées vont contribuer à orienter la plaque vers un profil inflammatoire. L'accumulation focale des lymphocytes T et des cellules spumeuses constitue la *strie lipidique*.

- **La plaque fibro-lipidique**

5) Pour contenir ce processus pathologique, les cellules de la paroi vont sécréter des médiateurs inflammatoires (cytokines et facteurs de croissance) responsable de la prolifération des cellules musculaires lisses et leur migration de la media vers l'intima.

6) Les CMLV acquièrent alors un phénotype sécrétoire et synthétise du collagène, des fibres élastiques et de protéoglycannes aboutissant à la formation de la *chape fibreuse*.

7) La plaque va accumuler du tissu conjonctif, des lipides, des CMLV et des cellules spumeuses. Parallèlement, les cellules de la plaque vont subir des phénomènes d'apoptose et de mort cellulaire, à l'origine du *cœur lipidique nécrotique*.

- **Rupture de la plaque et athéro-thrombose**

8) Enfin, le thrombus se développe lorsque l'endothélium est mis à nu ou lorsque la plaque s'est rompue exposant ainsi du matériel lipidique thrombogène au sang circulant.

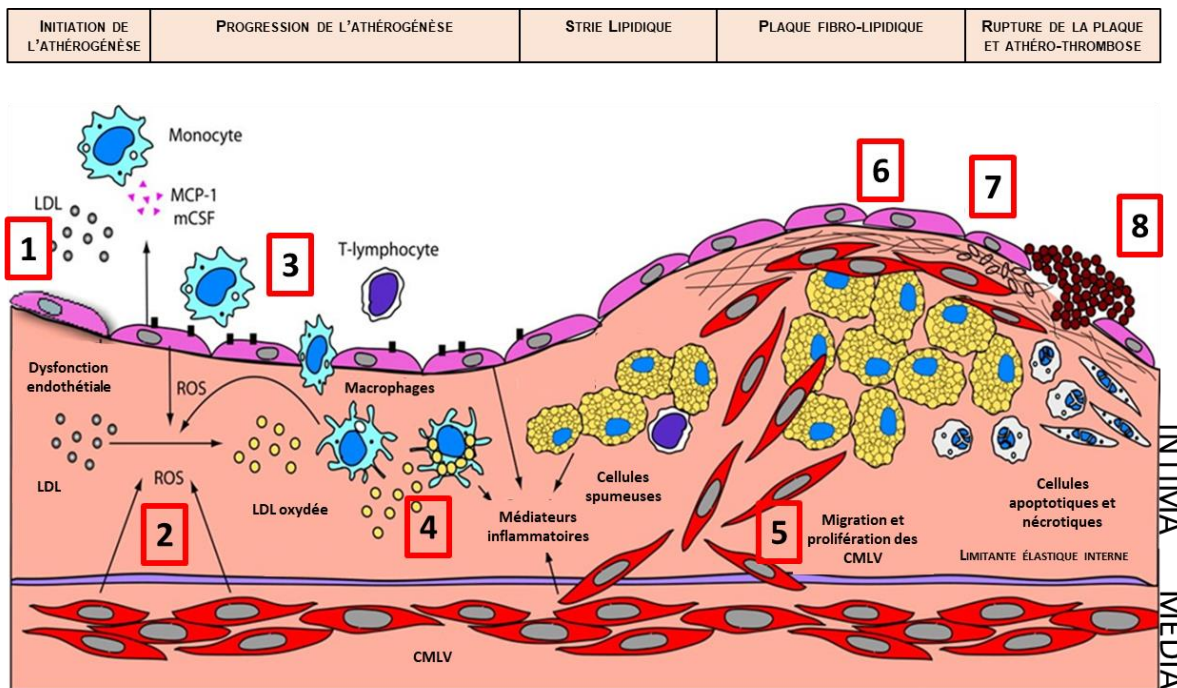


Figure 8 : Développement de l'athérosclérose⁷

Vue générale du processus athérosclérotique, différencié en 8 étapes séquentielles, de la dysfonction endothéliale, étape clé de l'initiation de l'athérogénèse, à la plaque avancée, fibro-lipidique et de ces possibles complications athéro-thrombotiques.

Ainsi, le processus athérosclérotique va aboutir à des modifications en profondeur de la paroi artérielle. Ces changements vont être soutenus par la mise en jeu de mécanisme inflammatoire tout au long de l'évolution de la plaque, contribuant à considérer l'athérosclérose comme une maladie inflammatoire chronique dont le processus est porté aussi bien par le système immunitaire innée (les macrophages) qu'adaptatif (les lymphocytes T).

Dans cette troisième partie, nous nous attacherons à mettre en exergue le rôle central du processus inflammatoire dans le développement de la maladie athéroscléreuse.

⁷ Figure adaptée d'après l'article de Madamanchi et al. Oxidative Stress and Vascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* (2005) ³⁰

1.4 THEORIE INFLAMMATOIRE ET ATHEROSCLEROSE

On peut donc considérer les lésions athéroscléreuses, de leur phase précoce à la plaque compliquée, comme une source continue « de signaux de dangers » qui normalement sont efficacement éliminées par le système immunitaire. Cependant, lorsque ces signaux sont trop intenses et/ou récurrents, ils produisent une réponse inflammatoire chronique non résolutive.

Nous nous proposons donc de focaliser notre propos sur les deux acteurs cellulaires primordiaux de cette inflammation, les macrophages et les lymphocytes T, puis de souligner leur implication dans la progression de l'athérosclérose. Dans un second temps, nous aborderons, les deux principaux phénomènes inflammatoires présents tout au long de la pathologie, à savoir la réponse cytokinique et le stress oxydatif.

1.4.1 ACTEURS CELLULAIRES AU COURS DE L'INFLAMMATION

1.4.1...1 IMMUNITE INNEE : ROLE DES MACROPHAGES

Cette immunité innée est le pilier central du développement de l'athérosclérose, puisque les plaques d'athérosclérose sont riches en macrophages, essentiellement aux stades précoces (28,31). Ils sondent l'environnement à la recherche de signaux de danger et ont la propriété de migrer dans les tissus en condition inflammatoire.

Les modifications oxydatives des lipides ainsi que la formation de débris cellulaires vont créer du « soi » modifié, immunogène, responsables de véritables boucles d'auto-amplification. Cela va promouvoir la sécrétion de cytokines et de produits oxygénés, allant vers une inflammation sans cesse augmentée par le recrutement de nouveaux monocytes dans l'intima, se différenciant secondairement en macrophages, puis en cellules spumeuses, synthétisant en réponse de nouvelles cytokines (32,33). D'autre part, dans les plaques d'athéromes avancées, l'élimination des débris cellulaires va saturer les récepteurs macrophagiques favorisant leur mort cellulaire et donc la formation de débris apoptotiques (26,28,34)

1.4.1...2 IMMUNITE ADAPTATIVE : LES LYMPHOCYTES T

La composante cellulaire des plaques comprend également un grand nombre de lymphocytes T, recrutés précocement et présents à tous les stades de la maladie (31). Les antigènes du soi « modifié » produits au sein de l'athérome vont être captés par les cellules dendritiques et les macrophages puis présentés aux lymphocytes T, entraînant leur activation puis leur prolifération (16,35).

L'analyse des sous-populations lymphocytaires T dans la plaque d'athérosclérose a révélé une certaine hétérogénéité. Toutefois, les lymphocytes T sont majoritairement représentés par les lymphocytes T CD4+ (33,36), ce qui nous a amené à orienter ce chapitre sur cette famille précise.

L'environnement en cytokines dans la plaque et les interactions avec les cellules dendritiques vont influencer la polarisation de ces lymphocytes T CD4+ en différents sous types (Th1, Th2, Th17, T régulateur) (16,36). Ceux-ci peuvent induire des réponses aussi bien pro-athérogènes (lymphocytes Th-1) ou athéro-protectrices (lymphocytes T régulateurs). La place des lymphocytes Th2 et Th17 reste encore à définir précisément (16,36).

Dans les lésions athéroscléreuses, les lymphocytes Th sont essentiellement de type Th1 et produisent l'IFN γ en grande quantité. Cette cytokine semble être responsable des effets majeurs de la voie Th1 et sont impliquées dans de nombreux mécanismes inflammatoires. Dans un premier temps, elle conduit à l'expression de molécules d'adhésions, à l'activation des macrophages et des cellules endothéliales et peut également stimuler la production de protéases et de molécules inflammatoires. D'autre part, elle peut inhiber la prolifération des CMLV, leur migration intima et la production de collagène (35–37). Ainsi, ils participent, à la fois, au recrutement des cellules immunitaires dans l'intima dans les phases précoces et à la fragilisation de la plaque avancée (**Figure 9**).

Contrairement aux lymphocytes de type Th1, la voie Th2 peut constituer un système de contre-régulation et être anti-athérogène en sécrétant IL-4, IL-5 ou IL-10. Ils stimulent également les lymphocytes B dont le rôle sera discuté plus par la suite. Cependant, ce rôle protecteur doit être nuancé car les données récentes mettent en avant une progression de l'athérosclérose suite à réponse Th2 médiée par la cytokine IL-4 (37).

La population T régulatrice (Treg) a été récemment impliquée dans la physiopathologie de l'athérosclérose. Elle pourrait orienter la réponse lymphocytaire Th1 vers un profil Th2 anti-inflammatoire (35,36). Leur action protectrice est généralement transmise soit par contact cellulaire ou indirectement par sécrétion de cytokines telles qu'IL-10 ou TGF- β (Transforming Growth Factor- β) (**Figure 9**). Leur déficience dans l'athérosclérose aboutit à un défaut de contre-régulation par la voie Th2 définie sous le terme de *dysfonction lymphocytaire* (35,36).

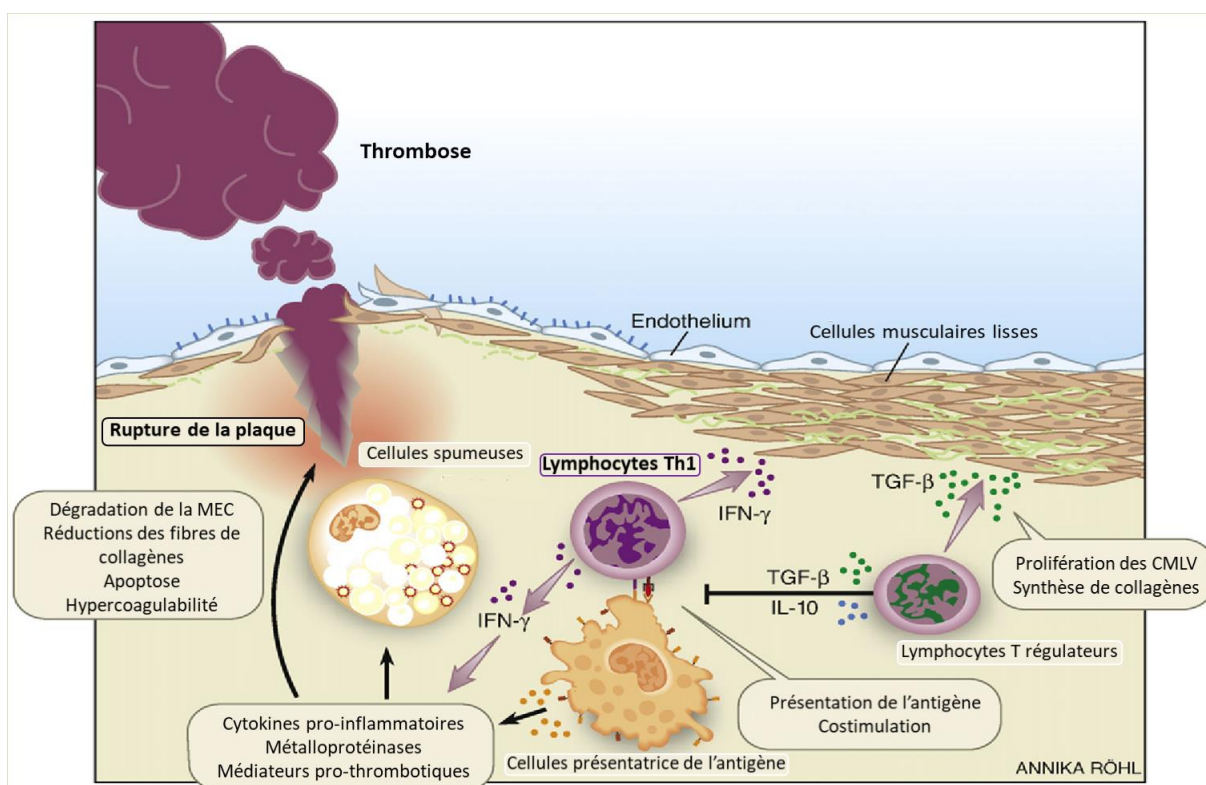


Figure 9 Effet des lymphocytes T sur l'inflammation de la plaque⁸

Les cellules présentant l'antigène dans la plaque d'athérosclérose déclencher une réponse à prédominance Th1 caractérisée par la sécrétion de l'IFN- γ . Les cytokines sécrétées par les lymphocytes T et les macrophages activés libèrent des protéases qui dégradent la matrice extracellulaire. Ces cellules peuvent également produire des facteurs pro thrombotiques qui précipitent directement la formation de thrombus sur le site de la rupture de la plaque. Les cellules T régulatrices modulent le processus athérogène en sécrétant des cytokines anti-inflammatoires.

⁸ Figure adaptée d'après l'article de Andersson et al. Adaptive immunity and atherosclerosis. *Clin Immunol.* (2010)¹⁶

1.4.1...3 PARTICIPATION DES LYMPHOCYTES B

La participation et le rôle des lymphocytes B au processus athérosclérotique n'a été développé que récemment et a permis de définir des sous populations différentes semblant avoir des effets adverses : les lymphocytes B1 participant à l'athéro-protection, et en miroir, les lymphocytes B2, pro-athérogéniques (35,36,38). Les cellules B ont été décelées dans l'intima et l'adventice des plaques d'athérosclérose s'organisant en petits follicules lymphoïdes, les VALT (Vascular Associated Lymphoid Tissue), entourés de lymphocytes T et des cellules dendritiques (39,40). Ces structures se forment en contexte inflammatoire chronique, lorsque le système immunitaire n'arrive plus à éliminer efficacement les antigènes locaux (39). Bien qu'ils soient présents à toutes les étapes, les lymphocytes B pourraient jouer un rôle plus marqué dans les lésions avancées (38).

Le rôle athéro-protecteur porté par les lymphocytes B1 est médié, d'une part, par la sécrétion d'immunoglobulines (Ig), qui sont majoritairement de type M (38). Ces anticorps naturels ciblent principalement les lipoprotéines oxydées ou les cellules apoptotiques, contribuant ainsi à leur clairance. L'interaction IgM-LDL-ox va inhiber l'internalisation des lipoprotéines par les macrophages et donc la formation de cellules spumeuses. Elle permettra également de prévenir l'effet cytotoxique du LDL-ox sur les cellules endothéliales (35,36). Outre cette réponse humorale, les lymphocytes B1 présentent une fonction sécrétoire par la production de cytokines anti-inflammatoires, tels qu'IL-10 (**Figure 10**).

Les cellules lymphocytaires B2 sont la principale population de cellules B dans la plaque. Ils répondent aux antigènes d'une manière dépendante des lymphocytes T, se différenciant secondairement en plasmocytes sécrétoire d'Ig de type G et en lymphocytes B « mémoire » (35,36). Ils interviennent dans l'athérosclérose en modulant l'activité des lymphocytes T régulateurs et induisant une déviation de la réponse immunitaire vers un profil Th1 (36). Celle-ci intervient soit par interaction directe avec les lymphocytes T naïfs ou soit en stimulant la maturation des cellules dendritiques qui, à leur tour, orienteront le profil lymphocytaire T(33,35,38) (**Figure 10**).

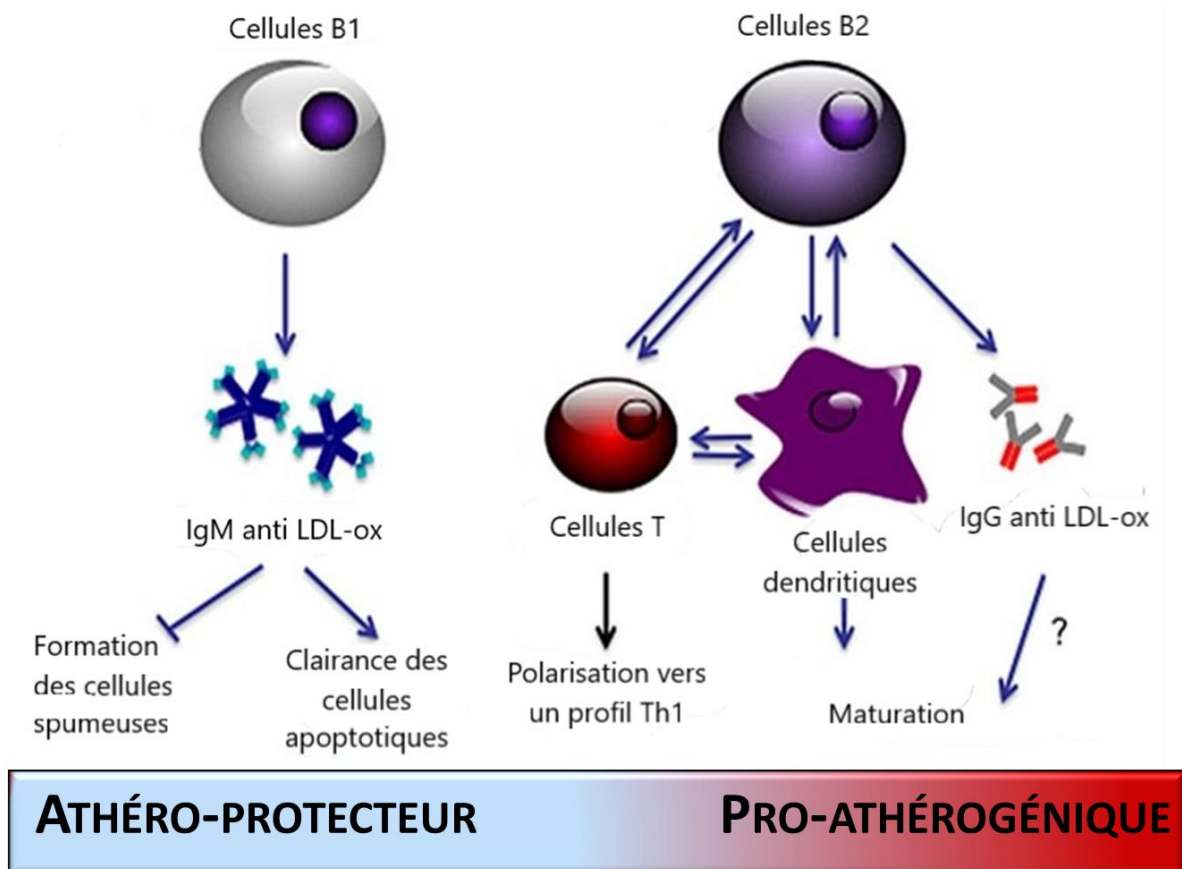


Figure 10 Réponses des lymphocytes B dans l'athérosclérose⁹

Deux populations lymphocytaires B ont été documentées dans l'athérosclérose, les lymphocytes B1 et B2. Les lymphocytes B1 sont athéro-protecteurs, principalement par la libération d'IgM anti-LDL oxydé qui vont permettre la neutralisation des effets délétères de cette lipoprotéine dans la plaque. Les cellules B2, quant à elles, favorisent l'athérosclérose en stimulant l'activation des cellules T et leur polarisation vers un phénotype Th1 soit par contact direct ou médiée par les cellules dendritiques matures. En outre, les lymphocytes B2 secrètent également des anticorps de type IgG anti-LDL-ox dont l'effet, qui n'est pas encore clairement décrit, semble néanmoins pro-athérogénique.

On comprend ainsi que les lésions athéroscléreuses sont un environnement constitué de cellules immunitaires multiples qui interagissent, par contact direct ou par l'intermédiaire d'une réponse cytokinique en orientant l'évolution de l'athérosclérose.

⁹ Figure adaptée d'après l'article de Ait-Ouffela et al. A. Adaptive (T and B Cells) Immunity and Control by Dendritic Cells in Atherosclerosis. *Circ Res.* (2014)³⁵

1.4.2 MODIFICATION DE L'ENVIRONNEMENT DES LESIONS

L'environnement cytokinique est donc essentiel pour définir l'orientation et le profil de la lésion athéroscléreuse. Un grand nombre de cytokines pro-inflammatoires sont secrétées et impliquées tout au long de l'athérosclérose. De façon synthétique, ces cytokines vont être responsables (**Figure 11**) :

(1) Dans la phase précoce de la maladie athéroscléreuse, elles vont être responsables du recrutement des cellules immunitaires, par amplification du phénomène d'activation endothélial et de l'adhésion des monocytes et lymphocytes T par surexpression de molécules d'adhérence sur les cellules endothéliales. Ces mécanismes sont également induits par les chimiokines qui vont « attirer » les cellules immunitaires sur le site inflammatoire (15,17).

(2) Dans la progression des lésions, ces médiateurs inflammatoires peuvent aboutir à la fragilisation de la plaque par recrutement et modulation de l'activité des CML qui vont être responsable de la dégradation de la MEC, par induction des processus apoptotiques et enfin en augmentant l'activité pro coagulante des cellules endothéliales (12,17) (**Figure 11**).

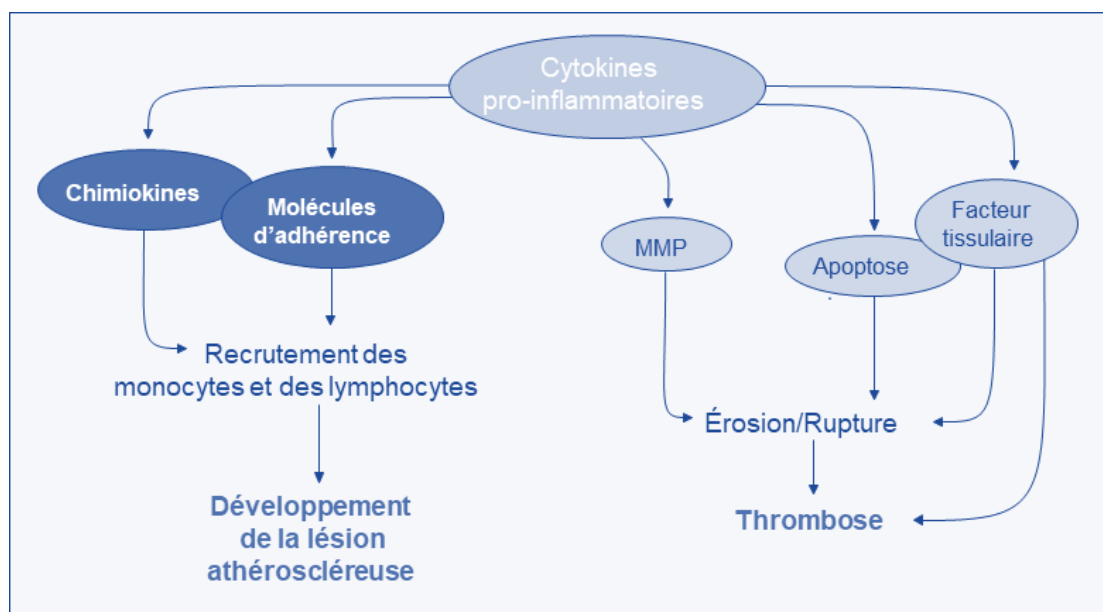


Figure 11 Rôles des cytokines pro-inflammatoires au cours du développement de l'athérosclérose¹⁰

Les cytokines pro-inflammatoires, secrétées par les cellules de la plaque, vont intervenir dans toutes les étapes de l'athérosclérose, de son initiation à la plaque vulnérable, participant à la fragilisation des lésions et de ce fait à la survenue de complications thrombo-emboliques

¹⁰ Figure extraite de l'article de Tedgui et al. Athérosclérose et inflammation. *Médecine/Sciences*. (2001) ¹⁵

Outre la réponse cytokinique, le stress oxydatif est un autre mécanisme jouant un rôle inflammatoire important dans la pathogénèse de l'athérosclérose (41,42). Si les cellules endothéliales sont les plus importantes actrices de ce phénomène, les macrophages de la plaque et en particulier les cellules spumeuses y jouent un rôle non négligeable (30). La sécrétion d'espèces réactives oxygénées (Ros) par les cellules spumeuses vont oxyder davantage l'environnement intimal ainsi que les LDL natifs, ce qui va promouvoir le recrutement de nouveaux monocytes et activer les macrophages résidents (18,43).

Ces réactions sont toutefois le résultat d'équilibres complexes : les cytokines pro inflammatoires sécrétées à la phase précoce ont pour but de neutraliser l'agression subie par la plaque. Ce mécanisme est contre-régulé pour contrôler la réaction inflammatoire et permettre sa résolution (15,17). Parmi les cytokines synthétisées par les macrophages et les lymphocytes T régulateurs (IL-4, IL-13, TGF β et IL-10), IL-10 est certainement un médiateur clé de cette modulation de l'inflammation (15,17). Il peut à la fois prévenir le développement des lésions en inhibant l'activation des cellules endothéliales et des macrophages, et contribuer à la stabilité de la plaque en inhibant les métalloprotéinases, les facteurs procoagulants et l'apoptose (15,17) (**Figure 12**).

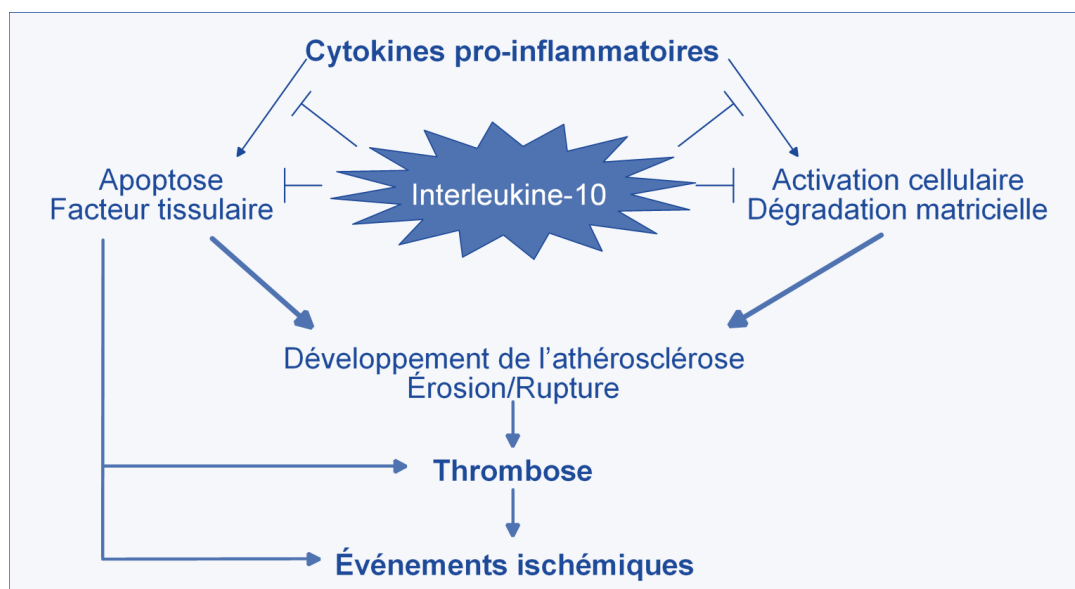


Figure 12 Effets anti-athérogènes de l'interleukine-10¹¹

L'interleukine IL-10, cytokine anti-inflammatoire, sécrétée par les cellules lymphocytaires Th2 et les macrophages, intervient dans les étapes clés de l'athérosclérose, notamment le processus de fragilisation des plaques fibro-lipidiques.

¹¹ Figure extraite de l'article de Tedgui et al. Athérosclérose et inflammation. *Médecine/Sciences*. (2001) ¹⁵

Dans l'athérosclérose, ce processus de régulation peut être efficace, stabilisant les lésions au stade précoce ou être dépassé comme dans les plaques avancées. En fonction de l'efficacité de la réponse anti-inflammatoire, la réaction inflammatoire prendra alors un tournant évolutif (17,44,45). Les effets de l'apoptose des macrophages en sont un exemple intéressant. Dans les stades précoces, l'apoptose des macrophages peut contribuer à la stabilisation voire la régression de la taille des lésions cellulaires (27,28). Toutefois, dans les lésions avancées, les macrophages sont dépassés et la clairance des débris apoptotiques est déficiente entraînant un effet pro inflammatoire (27,28).

En conclusion, la progression des lésions athéroscléreuses est le siège de modification environnementales, soutenues par un environnement cytokinique pro inflammatoire et pro-oxydant avec des processus de contrebalances inefficaces.

La composante inflammatoire de la plaque est donc un facteur important dans la progression de l'athérosclérose et la déstabilisation de la plaque. Elle évolue à bas bruit, sur de nombreuses années, avec des phénomènes paroxystiques responsables de complications athéromateuses aiguës. Parmi les facteurs intervenant dans ce processus, l'hypothèse infectieuse trouve son origine. Par conséquent, nous aborderons dans cette deuxième partie le rationnel de cette théorie.

2 . HYPOTHESE INFECTIEUSE

Les efforts de la recherche scientifique pour percer l'étiologie de l'athérosclérose ont conclu à une pathologie aux circonstances multifactorielles. Les investigations épidémiologiques ont mis au jour une association avec les anomalies lipidiques, l'hypertension artérielle, le tabagisme et le diabète ; un ensemble de facteurs de risque sur lesquels est focalisée encore aujourd'hui la prise en charge de la maladie. Toutefois, ces interventions ne permettent pas d'écartier totalement la survenue des complications, suggérant alors que des déterminants supplémentaires pourraient exister. C'est dans ce contexte que la recherche étiologique a mis en évidence une composante infectieuse potentielle dans l'athérosclérose (46).

2.1 HISTOIRE DE L'HYPOTHESE INFECTIEUSE

L'hypothèse infectieuse n'a suscité l'intérêt que tardivement. Elle a longtemps été supplée par celle de l'accumulation passive de cholestérol, à la suite des travaux d'Anichkov et *al.* (1913) (9). C'est dans les années 1970, avec les recherches de Ross et son équipe (10), et l'émergence du mécanisme inflammatoire que l'intérêt de la question s'est ravivé.

Les bases de la réflexion autour de l'origine infectieuse sont nées en 1978 avec Fabricant et *al.* (47) qui ont mis en évidence des lésions d'«athéro-artériosclérose ressemblant de près à celles des humains» chez les poulets infectés par un herpès virus (virus de la maladie de Marek) en présence ou non d'un régime hypercholestérolémiant (47). Par la suite, des études à la fois cliniques et expérimentales caractérisent une association entre la maladie coronaire et différents agents pathogènes (48–54).

L'athérosclérose est une maladie chronique évolutive, ayant une forte prévalence dans la population générale. Ces deux aspects de la pathologie athéroscléreuse conduisent à incriminer des micro-organismes au profil particulier, à savoir ayant une large répartition épidémique, un tropisme pour la paroi artérielle, des facultés de latence et de récurrence, la capacité de rythmer les cycles évolutifs des plaques (progression, rupture, thrombose-hématome).

Dans un premier temps, une association avec l'*herpèsvirus* et *Chlamydia pneumoniae* a été suggéré, étayé par la suite avec ceux d'*Helicobacter pylori*, de *Mycoplasma pneumoniae*, de *Porphyromonas gingivalis*, et une liste croissante d'autres agents pathogènes dont le virus de la grippe (49,50,52).

Cependant, aucune causalité n'a pu être démontré et leur rôle dans le processus inflammatoire n'a pas permis d'incriminer un germe en particulier. *Chlamydia pneumoniae* a été le plus étudié, mais les résultats des grands essais cliniques utilisant une antibiothérapie active sur la bactérie ont été largement décevants (46).

Malgré une fragilité certaine, ces données ont grandement stimulé l'intérêt pour l'hypothèse infectieuse dans l'athérosclérose, notamment au vu des perspectives inattendues de prévention.

2.2 HYPOTHESE INFECTIEUSE : DU PLAUSIBLE AU PROBABLE

Quatre catégories d'arguments peuvent étayer la participation du micro-organisme à l'athérosclérose : l'épidémiologie, l'anatomopathologie, les données expérimentales et thérapeutiques.

2.2.1 DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

Les infections entraînent une réaction immunitaire caractérisée par la présence d'anticorps dans le sang. Il est donc possible de rechercher des associations entre la signature sérologique d'une infection microbienne et l'existence (études cas-témoins) ou la survenue (études prospectives de cohorte) d'une maladie coronaire. Cette méthode a mené à impliquer précocement *C. pneumoniae* (48) ou *H. pylori* (49). Toutefois, l'épidémiologie établit une résonance de phénomène où la causalité n'est que difficilement envisageable. La performance des tests diagnostiques et la forte prévalence de ces infections amènent nécessairement à une certaine retenue.

2.2.2 DONNEES ANATOMO-PATHOLOGIQUES

L'approche anatomo-pathologique a grandement stimulé l'intérêt de la participation infectieuse à l'athérosclérose. La présence, notamment de *C. pneumoniae*, *H. pylori* et du CMV a été constatée spécifiquement, dans les lésions athéroscléreuses à des taux significativement plus élevés qu'en zone saine. *C. pneumoniae* a été détectée 10 fois plus souvent dans les plaques d'athérome comparativement aux artères saines (50) [intervalle de confiance à 95% (IC95%), 5-22]. De même, la présence d'*H. pylori* était retrouvé dans 44% des plaques, contre 0 % dans les zones saines examinées (51). Ces résultats prouvent un tropisme des agents infectieux pour les plaques, mais n'y établissent pas leur implication pathogénique. L'explication peut être une simple présence inoffensive au sein des cellules inflammatoires capturées dans la plaque. L'argument anatomopathologique doit donc être considéré avec raison.

2.2.3 DONNEES EXPERIMENTALES

Les travaux expérimentaux ont amené à souligner l'origine microbienne de l'inflammation dans l'athérosclérose (52). Largement étudiée, les résultats chez les modèles de souris athérogènes corroborent l'hypothèse que l'infection à *C. pneumoniae* puisse prédisposer à la formation de la plaque d'athérome (53) et à son instabilité (54). Par la suite, des résultats similaires ont été obtenus avec le virus grippal A, entre autre, qui favorise le développement de l'inflammation locale, la prolifération des cellules musculaires lisses et le dépôt de fibrines dans les plaques d'athérosclérose (55,56). Néanmoins, la même distance est à apporter dans les déductions tirées des données expérimentales : elles interviennent sur des modèles imparfaits de la maladie humaine, et reste un outil précieux pour l'élaboration d'hypothèses et l'éclaircissement des mécanismes potentiels en jeu.

2.2.4 DONNEES THERAPEUTIQUES

La preuve thérapeutique est celle qui présente le plus d'intérêt pour le clinicien et le malade. La piste infectieuse a abouti, très tôt, à l'essai d'antibiotiques actifs contre *C. pneumoniae* (macrolides) dans la prévention secondaire de la maladie coronaire. Cependant, les données obtenues montrent une efficacité très limitée dans la prévention de la maladie coronaire aiguë, sans efficacité dans la maladie coronaire stable (46). Toutefois, le vaccin antigrippal commence à susciter l'intérêt et les données épidémiologiques suggèrent son efficacité dans la prévention des syndromes coronariens aigus chez les patients atteints de coronaropathie.

A partir de ces constats, des mécanismes putatifs ont été proposées pour expliquer cette association entre les infections et la maladie athéromateuse. L'implication des agents infectieux au développement et la progression de l'athérosclérose peut être modélisée schématiquement en trois grands mécanismes (46,57,58) :

❖ Mécanisme direct :

Le pathogène infecte la paroi artérielle par sa présence permanente ou transitoire dans la paroi vasculaire et y déclencherait la formation ou la progression de la plaque (58,59).

❖ Mécanisme indirect :

- **Spécifique** : le pathogène déclenche une réaction immunitaire dirigée contre ses antigènes, dont certains ont une parenté (mimétisme antigénique) avec des composants de la paroi artérielle, induisant un phénomène d'auto-immunité (59,60).
- **Non spécifique** : toute infection peut déclencher une réaction inflammatoire systémique contribuant, par ses médiateurs moléculaires et cellulaires, à attiser le foyer inflammatoire athérosclérotique (58).

La mise en évidence d'une corrélation entre la progression de l'athérosclérose et certains agents infectieux, a amené, par la suite, à suggérer la participation potentielle du virus de la grippe. Nous nous proposons de focaliser notre propos sur la possibilité d'une implication du virus grippal dans le processus athérosclérotique, à travers l'analyse de son association avec les événements ischémiques aigus, puis dans une seconde partie, nous mettons en avant les données récentes sur la prévention de l'infection par la vaccination antigrippale.

3 . VIRUS GRIPPAL ET ATHEROSCLEROSE

3.1 IMPLICATION DU VIRUS INFLUENZA DANS L'ATHEROSCLEROSE

Le rôle du virus de la grippe et son implication dans l'athérosclérose seront discutés dans ce chapitre, en élaborant, dans un temps, un descriptif synthétique de la constitution du virus, sa réplication et la réponse de l'hôte à l'infection grippale ; puis, nous préciserons les données actuelles sur son association à la progression de l'athérosclérose.

3.1.1 VIRUS DE LA GRIPPE : CARACTERISTIQUES ET REPOSE DE L'HOTE

Les virus grippaux sont des virus à ARN simple brin, enveloppés, de la famille des *Orthomyxoviridae*. Il en existe trois types infectant l'homme, distincts par l'antigénicité de leurs protéines de capsid: influenza virus A, B et C (61).

De ces types, le virus influenza A est le plus pathogène variant de simples cas sporadiques à de grandes épidémies ou pandémies. Seuls les types A et B permettent des diffusions épidémiques majeures (61–64).

Les caractéristiques antigéniques des deux glycoprotéines exprimées à la surface du virus, l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA) servent de base à la classification des virus influenza A selon leur sous-type antigénique *HxNy*. Il existe de nombreux type d'hémagglutinines (H1 à H16) et de neuraminidases (N 1 à N9). Chez l'homme, les sous-types H1, H2, H3 et N1, N2 sont épidémiques (62,65).

Il existe deux types de variations antigéniques du virus qui se traduisent respectivement par la *dérive antigénique* et le *saut antigénique*. La fréquence élevée de ces mutations et des réassortiments génétiques contribue à la grande variabilité des antigènes HA et NA, selon deux mécanismes (62,65) :

- **Les dérives antigéniques** sont des mutations ponctuelles mineures relativement fréquentes, apparaissant au cours des cycles de réplication du génome viral. Ces glissements antigéniques concernent aussi bien les virus influenza A que B et produisent des sous types responsables des épidémies grippales saisonnières.

- **Les sauts antigéniques** sont des événements rares, n'impliquant que le virus de la grippe A et survenant lors de la réplication de deux sous-types différents dans une même cellule. Des réassortiments de matériel génétique, c'est à dire des « échanges » complets de gènes entiers entre différents sous types de virus A aboutissent à des modifications importantes et à l'apparition de nouveaux sous-types à l'intérieur du type A.

Par conséquent, les dérives antigéniques déterminent l'apparition de nouveaux variants, alors que les sauts antigéniques forment de nouveaux sous-types.

Le virus de la grippe A, par sa virulence et sa prévalence, a été le plus étudié. La plupart des données dont nous disposons font suite à l'étude de ce type viral précis ainsi que de ces sous-types. C'est dans ce contexte que nous avons décidé d'orienter notre propos sur ce virus de la grippe A.

3.1.1...1 STRUCTURE DU VIRUS INFLUENZA

Le génome viral A se compose de huit segments d'ARN de taille variable. Chaque segment d'ARN est associé à des protéines pour former un complexe ribonucléoprotéique (RNP). Ces gènes codent pour 10 protéines : les glycoprotéines d'enveloppe, hémagglutinine (HA) et neuraminidase (NA), qui sont responsables, respectivement, de l'attachement du virus à la cellule hôte, et de la libération des virions néoformés. les protéines matricielles (M1), les protéines de la nucléocapsides (NP), trois polymérases (PB1, PB2 et PA), la protéine du canal ionique (M2) et les protéines non structurales (NS1 et NS2). (61).

(Figure 13-A) (Tableau 1)

N° de segment	Protéine(s) encodées	Fonction principale
1	PB2	Composante de l'ARN polymérase
2	PB1	Composante de l'ARN polymérase
3	PA	Composante de l'ARN polymérase
4	HA (ou H)	Hémagglutinine
5	NP	Liaison avec l'ARN (forme les RNP ou ribonucléoprotéine)
6	NA (ou N)	Neuraminidase
7	M1 M2	M1 : protéine de matrice M2 : canal ionique
8	NS1 NEP/NS2	NS1 : protéine fonctionnelle NEP/NS2 : protéine fonctionnelle transport nucléaire des RNP

Tableau 5 Génome viral A et les protéines encodées.

Sont listés les huit segments d'ARN composant le génome du virus grippal A et les protéines encodées participant à la structure du virus.

3.1.1...2 MECANISME DE REPLICATION AU SEIN DE LA CELLULE HOTE

Les virus *Influenza* ont la capacité de se répliquer dans les cellules épithéliales du système respiratoire, mais peuvent également infecter les monocytes/macrophages et les leucocytes (61).

La reconnaissance puis la liaison par l'intermédiaire des protéines de surface HA à la membrane cellulaire de la cellule hôte initie le cycle du virus. Une fois fixé, il pénètre dans la cellule par un phénomène d'endocytose. Le virus est alors englobé au sein d'une vésicule endosomale. Le pH bas dans l'endosome induit la fusion des membranes virale avec celle de l'endosome libérant les complexes ribonucléoprotéique viraux dans le cytoplasme. Ces derniers sont ensuite transportés dans le noyau cellulaire. Chaque segment de l'ARN viral (négatif) est, d'une part, transcrit en ARN messager (polarité positive) qui participeront à la synthèse des protéines virales et, d'autre part, répliqué pour former de nouveaux segments génomiques viraux. Les ARNs messagers sont ensuite transportés dans le cytoplasme où ils seront traduits puis assemblés. Les glycoprotéines d'enveloppe sont transportées vers la membrane. Les protéines NP se lient aux brins d'ARN de polarité négative pour former les RNP. Les ARNs néoformés sont transportés à la membrane par les protéines NS1 et 2. Ainsi, Les virions néosynthétisés bourgeonnent puis disséminent aux cellules voisines (61–64) (**Figure 13-B**).

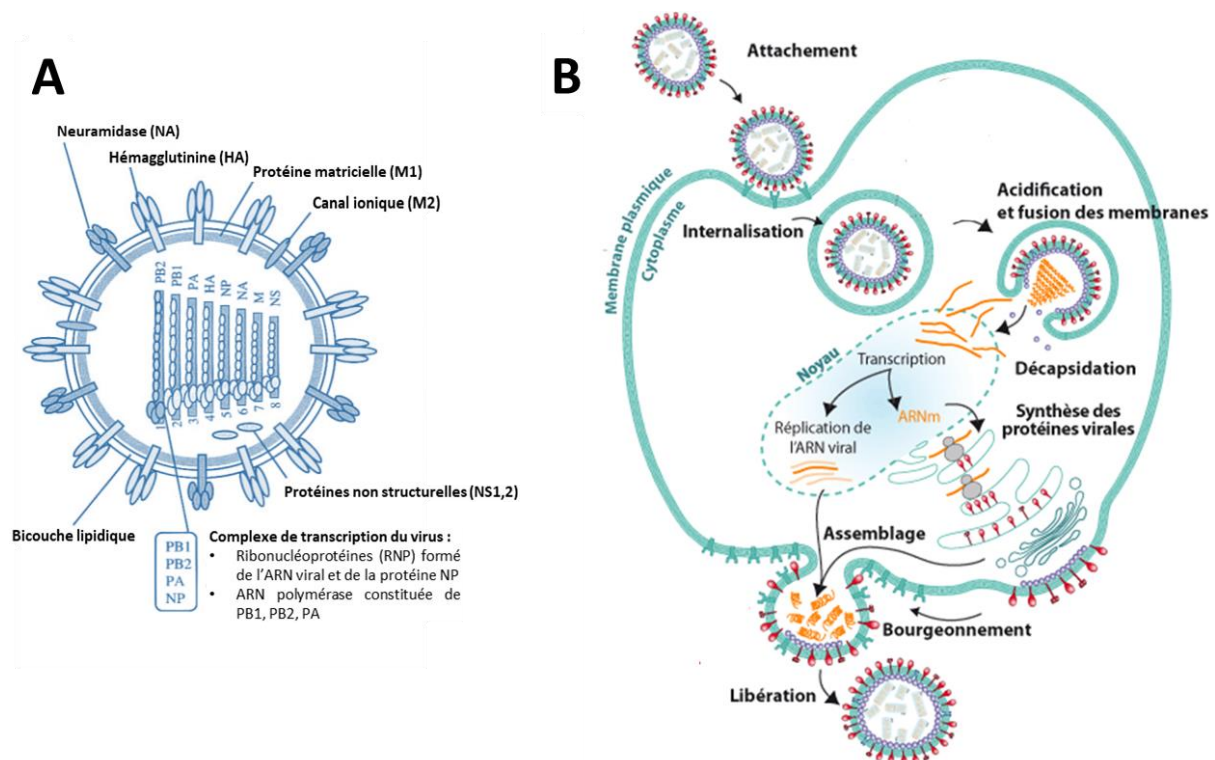


Figure 13 Cycle de vie du virus grippal A

(A) Structure du virus influenza A¹², **(B)** Cycle de répllication au sein de la cellule hôte¹³

¹² Figure adaptée d'après l'article de Julkunen I et al. Molecular pathogenesis of influenza A virus infection and virus-induced regulation of cytokine gene expression. *Cytokine Growth Factor Rev* (2001)⁶¹

¹³ Source : Initiation à la virologie, Université de Louvain. [Site internet]. Disponible sur <https://www.virologie-uclouvain.be/fr/chapitres/exemples-choisis/virus-de-la-grippe>

3.1.1...3 REPONSE DE L'HOTE A L'INFECTION GRIPPALE

La réponse immunitaire innée est la première ligne de défense contre l'infection. Elle se met en place quelques heures après l'inoculation au virus et est essentielle pour initier la réponse adaptative permettant de contrôler efficacement l'infection. Les cellules infectées répondent à l'infection par la production de chimiokines, de médiateurs pro inflammatoires (IL-1, IL-6 ou TNF α) et immuno-régulateurs (IFN α/β) (61). Ces molécules vont activer les leucocytes circulants qui migrent vers le site de l'inflammation (61,63). Les macrophages recrutés vont éliminer les cellules infectées de concert avec les cellules NK (Natural Killer) pour limiter la propagation du virus (63). Par ailleurs, les cellules dendritiques « surveillant » la lumière des voies respiratoires vont opsoniser les virions et les cellules infectées. Elles vont ensuite présenter les antigènes viraux aux lymphocytes T naïfs et mémoires, qui vont participer à la réponse humorale. Les réactions liées aux lymphocytes T sont détectables à partir du 7^{ème} jour post-inoculation. Les anticorps contribuent à la protection de l'hôte en se liant aux cellules infectées et en facilitant leur élimination. Ils peuvent également se fixer aux virus néoformés inhibant ainsi la propagation de l'infection. Les IgM sont les premiers produits par suite de l'infection, suivis par les anticorps IgA et IgG. Ces anticorps sont sécrétés dans le tissu épithélial du système respiratoire et dans les ganglions lymphatiques par les cellules B. Ces derniers peuvent également arbitrer directement la lyse des cellules infectées et encourager la phagocytose en se liant aux polynucléaires neutrophiles et aux macrophages (61–64).

L'infection grippale et la réponse de l'hôte mettent en jeu des processus inflammatoires présentant des similarités avec ceux observés dans l'athérosclérose. De ce fait, la réflexion d'une interaction possible entre ces deux événements a mis au jour une association temporelle entre la grippe et le syndrome coronarien aigu.

3.1.2 ASSOCIATION TEMPORELLE ENTRE L'INFECTION GRIPPALE ET LE SCA

Les premiers constats d'une association entre l'infection grippale et les SCA ont été suggérés après l'épidémie grippale ayant frappé l'Europe et les Etats-Unis au début du 20^e siècle. Durant cet épisode, plus de la moitié des décès étaient attribuable à une autre cause que celle de la grippe, en premier lieu, une pathologie cardiaque (66).

Par la suite, la mise en évidence une variation saisonnière des SCA est venue renforcer cette hypothèse. En 1998, Spencer et *al.* (67) ont constaté une recrudescence de SCA durant les mois hivernaux comparativement à la saison estivale. Parallèlement, l'étude conduite par Monto et Ullman (68) a montré que la grippe suivait des variations similaires. Dans une approche originale, Madjid et *al.* (69) ont constaté que l'excès de mortalité liés à un SCA ou une insuffisance cardiaque aigüe (ICA), confirmé par autopsie a coïncidé avec l'épidémie de grippe. Ainsi, la corrélation d'incidence entre ces deux événements à donner naissance à une possible relation entre la grippe et le SCA (70,71).

L'approche épidémiologique, a été, dans un premier temps, un argument essentiel pour suggérer cette corrélation. En effet, elle a permis de soutenir une séquence temporelle à cette association. Dans leur large cohorte, Smeeth et *al.*(71) ont constaté que le risque d'ischémie aigüe myocardique et d'AVC étaient sensiblement plus élevés dans les trois premiers jours suivant le diagnostic d'infections respiratoires (rapport d'incidence pour l'IDM : 4,95; IC 95% 4.43-5.53 et pour les AVC, 3,19; IC95% 2,81 à 3,62). Ces données ont été corroborées, plus récemment, par Nguyen et *al.* (72) qui ont montré une augmentation du risque de mortalité d'origine cardio-vasculaire dans les 14 jours suivant l'infection grippale, avec une corrélation plus forte avec les SCA mortels (risque d'incidence entre 5,8% ; IC 95%, 2,5-9,1% et 13,1% ; IC 95%, 5,3-20,9%). Enfin, deux méta-analyses récentes conduites par Barnes (73) et Warren-Gash (74) ont conclu qu'il existait une associations cohérentes entre la grippe et la survenue secondaire d'ischémies myocardiques aigus. En outre, l'analyse de la signature sérologique de l'infection grippale a également été un outil essentiel pour suggérer la participation du virus grippal dans le processus athérosclérotique. Les titres en anticorps spécifiques du virus de la grippe A étaient significativement plus élevés chez les groupes de patients ayant présenté un SCA récent (75–77).

Ces résultats ont, dans un second temps, montré une résonance avec les données anatomopathologiques et expérimentales. La mise en évidence du tropisme vasculaire du virus et par la suite, de son association avec la progression des lésions, a été une découverte fondamentale dans l'implication de ce pathogène dans l'athérosclérose (55,56,78). D'une part, la présence du virus dans la paroi artérielle athérosclérotique a été décelée aussi bien dans les modèles animaux (55,56) que chez l'homme, puisque le génome viral a été mis en évidence dans la paroi aortique d'échantillons humains prélevés lors d'un pontage coronarien (79). D'autre part, les données expérimentales sur les modèles de souris athérosclérotiques ont permis de soutenir une plausibilité biologique à cette corrélation clinique. Les souris inoculées avec des doses létales de virus grippaux A ont montré une augmentation significative des cellules inflammatoires et musculaires lisses, une agrégation plaquettaire plus élevée et la formation occasionnelle de thrombus occlusif dans les plaques athérosclérotiques (55). De plus, le virus grippal avait été capable d'infecter et résider dans les artères

athérosclérotiques et était associée à des changements inflammatoires systémiques et locaux (56). Ces modifications induites par le virus sont superposables celles retrouvées dans les plaques rompues après un SCA mortel (55).

Enfin, plus récemment, l'un des arguments les plus robustes qui tend à se développer est l'impact de la vaccination antigrippale sur la prévention du SCA que nous détaillerons par la suite.

Il est maintenant largement reconnu que l'infection grippale saisonnière est responsable d'une augmentation du risque de SCA et de mortalité. Toutes ces observations amènent à considérer la grippe comme un candidat sérieux impliqué dans le processus athérosclérotique. Dans ce contexte, si l'infection pouvait jouer un rôle dans la pathologie, sa prévention vaccinale pourrait bénéficier d'un regain d'intérêt.

3.2 VACCIN ANTIGRIPPAL ET PREVENTION DE L'ATHEROSCLEROSE

La vaccination antigrippale a suscité un intérêt nouveau dans la prévention des MCV et a donc été une piste d'étude novatrice pour grand nombre d'étude. Nous aborderons dans ce chapitre, les données actuelles sur la vaccination antigrippale dans la prévention secondaire des MCV.

3.2.1 VACCIN ANTI GRIPPAL

3.2.1...1 TYPES ET COMPOSITION DU VACCIN ANTI GRIPPAL

Il existe deux types de vaccins antigrippaux (80) : les *vaccins inactivés*, composés soit d'antigènes de surface du virus grippal, soit de virion fragmenté qui sont en France, les principaux vaccins utilisés; et le *vaccin vivant atténué*, dont l'administration est intra-nasale.

Le choix des souches vaccinales est revu annuellement en fonction des virus qui ont présenté le degré d'évolution antigénique le plus grand et qui ont été capables de circuler à un niveau significatif l'année précédente. Les recommandations sont émises par l'OMS en février pour l'hémisphère nord.

Chaque année, le vaccin antigrippal est composé de trois souches différentes de virus (*vaccin trivalent*): deux souches virales A, H1N1 et H3N2, et une souche B. Il contient que très rarement de souche grippale C, cette dernière étant peu présente et peu virulente.

3.2.1...2 BASES IMMUNOLOGIQUES DE LA VACCINATION

L'objectif de la vaccination est de permettre à l'individu de développer une protection active spécifique vis-à-vis d'un agent infectieux, avant toute exposition, en utilisant les ressources naturelles de l'immunité.

La vaccination déclenche une réponse immunitaire. Celle-ci suppose une reconnaissance de la substance antigénique et la sélection d'un certain nombre de cellules immunocompétentes, aptes à organiser cette réponse. Deux types de cellules interviennent dans la réponse immunologique : en premier lieu, les cellules présentatrices de l'antigène (cellules dendritiques et macrophages), capables de présenter les antigènes pour les rendre reconnaissable par les lymphocytes ; et les lymphocytes (T et B).

Les cellules dendritiques vont capter l'antigène, le dégrader en peptides et ensuite les charger sur les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Par la suite, elles migrent dans les organes lymphoïdes et stimulent les lymphocytes T naïfs. Ainsi, elles initient la réponse immunitaire spécifique en leur présentant le complexe CMH-peptide. L'interaction des lymphocytes T avec l'antigène, va induire leur activation. Ils subissent alors une transformation blastique pour donner naissance à des cellules filles responsables des réactions immunologiques dites cellulaires. Au sein des lymphocytes T matures, on peut distinguer différentes sous-populations. Les lymphocytes T CD4+ synthétisent des cytokines afin de stimuler l'inflammation et d'activer les macrophages et les autres lymphocytes (T et B). Les lymphocytes T régulateurs modulent la réponse immune (80–82). Les lymphocytes B d'origine médullaires vont se différencier sous l'influence des lymphocytes CD4+ (activation thymo-dépendante) en plasmocytes sécréteurs d'immunoglobulines spécifiques, supports de l'immunité humorale. Des lymphocytes B mémoires sont induits en parallèle aux plasmocytes et résident dans les ganglions. Les phénomènes de mémoire immunologique existent pour les deux types de lymphocytes B et T (80).

La vaccination entraîne, après une période de latence plus ou moins longue, la formation d'anticorps à un taux faible (*réponse primaire*). La production d'anticorps plasmatique IgM précède celle des IgG. De plus, les IgA sont, quant elles, retrouvées essentiellement au niveau des muqueuses respiratoires. Le taux d'anticorps peut rester élevé en plateau pendant quelques jours puis décroît rapidement (80). Lors d'un contact ultérieur avec le même antigène, la réponse immune est plus rapide et intense, due à la présence de cellules sensibilisées ayant gardée la mémoire antigénique (*réponse secondaire*). L'importance cette réponse est due à la présence d'une population de lymphocytes mémoires, induits lors de la réponse primaire (83).

3.2.2 EFFET CARDIOPROTECTEUR DE LA VACCINATION ANTI GRIPPALE

L'hypothèse infectieuse a mis au jour une possible implication du virus grippale dans l'étiopathogénie de l'athérosclérose. L'excès de mortalité cardiovasculaire hivernale et son association avec le pic grippal, les mécanismes inflammatoires et systémiques induit par le virus et enfin sa présence dans la plaque ont conduit à considérer la grippe comme un candidat sérieux au processus athéromateux.

Bien qu'une causalité soit encore difficile à établir entre l'infection grippale et la survenue d'ischémie aigue du myocarde (IAM) sur les données épidémiologiques, la piste thérapeutique, par l'intermédiaire de la vaccination antigrippale a, secondairement, été une approche logique.

Naghavi et *al.* (84) ont été parmi les premiers à émettre l'hypothèse d'une protection possible du vaccin sur l'incidence de l'infarctus du myocarde en prévention secondaire. Dans leur étude, la vaccination antigrippale avait réduit de 67% le risque d'infarctus du myocarde (IDM) durant la saison grippale suivante (odds ratio [OR], 0,33; IC95% 0,13-0,82; $P = 0,017$), sans néanmoins d'influence sur la survenue des décès. Toutefois, Siscovick et ses collaborateurs (85) ont mis en évidence une réduction de ces décès suite à la vaccination. Elle avait donné lieu à une diminution de 49% (RC, 0,51; 95% IC, 0,33-0,79) du risque d'arrêt cardiaque en soin primaire chez les patients vaccinés contre la grippe l'année précédente. La vaccination était également associée à un risque réduit d'hospitalisation pour des complications cardiaques (réduction de 19%; $p < 0,001$) et de la mortalité toutes causes confondues (réduction de 48% à 50%; $p < 0,001$) dans une large étude de cohorte incluant des sujets âgés vivant en institution (86). Ces études ont ainsi permis de corroborer l'effet bénéfique d'une intervention visant à prévenir l'infection grippale aussi bien sur les événements cardio-vasculaires majeurs (ECVM) non mortelles ainsi que le risque de décès.

En outre, ces résultats ont également mis en lumière un effets remarquables du vaccin, à savoir celui d'une prévention vasculaire plus globale. En effet, Lavallée et *al.* (86) ont suggéré que cette protection pourrait s'étendre à l'ensemble du système vasculaire atteint par la maladie athéromateuse, sans se limiter aux seuls complications cardio-vasculaires. Ainsi, ils ont ainsi révélé un avantage vaccinal significatif dans la prévention des AVC avec une diminution de 50% (OR, 0,50; IC 95%, 0,26-0,94) de leur survenue. Dans le même sens, les données apportées par *Nichol* et ces associés (87) ont conclu à un risque réduit de complications cérébrovasculaires (réduction de 16% à 23%; $p < 0,018$) pendant les deux saisons grippales étudiées.

Toutefois, ces premières données, issues d'études observationnelles, n'ont pas permis d'apporter suffisamment de force à cette association. Dans cette optique, deux grands essais cliniques ont été essentiels à la démarche.

Une première étude pilote sur le vaccin antigrippal a été lancée en 2001 par le groupe d'étude mené par Gurfinkel et ses collègues (88) (FLUVACS). Cet essai contrôlé randomisé, conduit sur deux années de suivi, a inclus 301 patients (200 patients ayant présenté un SCA dans les 72h et 101 patients atteints d'une maladie coronaire stable chez qui une intervention coronaire percutanée était prévue). Le vaccin avait réduit significativement le risque de décès et d'événements cardio-vasculaires majeurs aussi bien chez les patients souffrant d'infarctus et que de coronaropathie stable au cours des deux années de suivie. A 6 mois, le taux de mortalité à était significativement réduit dans le groupe vacciné (risque relatif [RR], 0,25; IC 95%, 0,07 à 0,86; $P = 0,01$). La vaccination avait également permis de prévenir significativement les événements cardiovasculaires majeurs (ECVM) (décès, nouvel IDM non mortel ou angor instable nécessitant une revascularisation urgente) chez 11% des patients vaccinés contre 23% des patients du groupe contrôle ($p = 0,009$). Le bénéfice de la vaccination a été maintenu au de-là de la saison hivernale puisqu'à un an, cette protection restait nettement significative, principalement détecté chez les patients souffrant d'IDM (89). L'évaluation à deux ans des patients revaccinés a montré une incidence réduite des ECVM. (3,4% vs 9,7%; $p = 0,05$) (90).

Cet essai clinique a été un apport robuste dans l'étude de l'effet cardioprotecteur de la vaccination antigrippale en prévention secondaire. Toutefois, il met en avant un autre effet intéressant du vaccin. Les patients ont tiré un bénéfice prolongé, a été maintenu sur les deux années de suivi. L'effet bénéfique du vaccin ne se limitait pas à la saison grippale mais était également constaté en dehors de période habituellement exempt de l'infection. Ainsi, son action pourrait dépasser celle de prévenir l'infection grippale.

Le deuxième essai clinique majeur fut l'étude FLUCAD (91). Cette étude contrôlé randomisé, et pour la premier fois, réalisé en double aveugle a examiné l'efficacité du vaccin antigrippal. Cette étude, robuste dans sa conception, a inclus 658 patients atteints d'une cardiopathie stable recevant un traitement pharmacologique optimal. Contrairement aux études antérieures, la vaccination n'a pas montré d'influence significative sur la mortalité cardiovasculaire à 12 mois. Néanmoins, les résultats tendaient à montrer une réduction du risque de décès, bien que faible (taux d'événement cumulé sur 12 mois à 0,63% dans le groupe vacciné contre 0,76% dans le groupe contrôle, $p=0,95$). Les deux critères secondaires composites : **(1)** les ECVM tendait à se produire moins fréquemment dans le groupe vaccinal que placebo avec le taux d'événement à 3,00 et 5,87%, respectivement (HR 0,54; 95%

CI: 0,24 – 1,21, $p= 0,13$), **(2)** les événements ischémiques coronaires (ECVM ou hospitalisation pour IDM) était, quant à eux, considérablement réduit dans le groupe vaccinal 6,02 contre 9,97% chez les témoins (HR 0,54; 95% CI: 0,29 – 0,99, $p= 0,047$). Ce manque de significativité dans les résultats pourrait être dû à la faible survenue des événements cardiovasculaires majeurs et le faible effectif de l'étude.

Les résultats et les conclusions de plusieurs nouveaux essais cliniques randomisés et méta-analyses ont confirmé les données antérieures sur les effets bénéfiques de la vaccination antigrippale. De nouvelles études observationnelles ont corroboré une efficacité préventive du vaccin contre l'IDM comprise entre 19% et 45%. (92–95). En 2009, les résultats avancés par Warren-Gash et coll. (74) dans une méta-analyse d'essais contrôlés randomisés montrait un effet protecteur de la vaccination antigrippale. Cependant, l'estimation commune n'avait pas permis de conclure à une significativité statistique (risque relatif (RR) 0,85, 95% IC 0,44 à 1,64), bien que chaque essais plaident pour une efficacité vaccinale. Dans le même sens, deux méta-analyses majeures conduites en 2015, l'une incluant 8 études contrôlées, a conclu une réduction significative dans la mortalité cardiovasculaire chez les patients vaccinés (RR 0,45 (IC 95% 0,26 – 0,76), $p = . 003$) (96), l'autre regroupant plusieurs études cas-témoins a montré une efficacité vaccinale moyenne de 29% contre IAM (73).

Néanmoins, ces résultats prometteurs doivent être pris avec distance et raison. En effet, ces différentes études, réalisées en prévention secondaire, chez des patients âgés, présentant aussi bien une cardiopathie stable ou un IDM récent amènent à mettre en lumière deux facteurs confondants possibles.

Dans un premier temps, l'absence d'évaluation de la séroprotection induite par la vaccination antigrippale. L'efficacité est rarement signalée et peut varier en fonction de la concordance entre les souches grippales prévues par l'OMS et les souches circulantes prédominantes au cours d'une saison donnée, l'âge et les comorbidités de la population vaccinée.

D'autre part, ces différentes études tendent à montrer un effet bénéfique plus prononcé après la survenue récente d'un SCA (91,97). L'angioplastie pourrait ainsi être un possible facteur confondant à ces études puisqu'il pourrait permettre de stabiliser la lésion athéromateuse rompu et participer à la prévalence de ce bénéfice après un IDM récent. Il semble donc intéressant d'évoquer la place de la revascularisation dans cette effet protecteur. Néanmoins, cette hypothèse doit être nuancé puisque l'une des complications principales de ce geste reste le risque de resténose précoce. Dans l'étude FLUCAD, 7 patients ont présenté un IDM durant la période de suivi dont 4 ont été traité par revascularisation per cutanée. Dans les suites, deux patients ont présenté une resténose précoce. Des études ciblées sont donc nécessaires pour étudier l'influence de l'angioplastie coronarienne dans cette association.

Bien que les données actuelles montrent encore des discordances, notamment sur l'effet de la vaccination antigrippale sur la mortalité cardiovasculaire, les résultats tendent vers un effet cardioprotecteur du vaccin dans la prévention secondaire des événements cardiovasculaires. En réponse à ces résultats, et compte tenu de la bonne tolérance du vaccin, le Collège Américain de Cardiologie et la Société Européenne de Cardiologie recommandent, dans leurs lignes directrices, la vaccination grippale annuelle afin de promouvoir la prévention secondaire des événements cardiovasculaires (23).

Néanmoins, évoquer une causalité est encore bien précoce et nécessite des études plus robustes. L'hypothèse d'un effet athéro-protecteur du vaccin est actuellement principalement soutenue par des données épidémiologiques. Il reste un besoin de plus grands essais randomisés contrôlés par placebo avec une puissance suffisante pour établir l'avantage de la vaccination dans la prévention de la maladie coronaire. De plus, malgré de nombreuses publications rapportant des preuves plausibles des effets bénéfiques vaccinaux, rares sont les études effectuées pour expliquer le mécanisme à son origine. Les données expérimentales peuvent être un outil précieux pour comprendre le processus qui sous-tend cette corrélation clinique et apporter une plausibilité biologique à cette association.

Très peu de travaux expérimentaux ont été publiés sur le sujet. Elles suggèrent, néanmoins, différents potentiels mécanismes. En premier lieu, celle de prévenir l'infection et ces complications. Une autre explication peut être la capacité du vaccin à moduler la réponse immunitaire vers un profil anti-inflammatoire et antithrombotique. Enfin, le rôle protecteur des anticorps induits par la vaccination grippale, a été suggéré comme possible piste explicative au vu des bénéfices soutenus observés à distance de la saison grippale.

L'objectif de ce travail de recherche est donc d'examiner la littérature, afin de résumer les différentes hypothèses biologiques pouvant expliquer cet effet cardio protecteur porté par la vaccination antigrippale et aider à l'élaboration de nouvelles pistes de recherches.

MATERIELS & METHODES

4 . METHODOLOGIE

Cette étude est une revue de la littérature où les bases de données bibliographiques Pubmed, Cochrane et Science Direct ont été systématiquement explorées. Le recueil a été mené entre le 9 Avril 2018 et le 26 Mai 2018.

Pour réaliser ce travail, la méthodologie PRISMA-P a été suivie. Lors de la première étape, les mots-clés de l'équation de recherche ont été exploré dans les bases de données bibliographiques Pubmed, Cochrane et Science Direct. L'équation utilisée dans PubMed retenait les termes suivants : *((atherosclero*) AND prevent*) AND vaccin**. Les recherches dans les autres bases ont été adaptées avec utilisation des expressions entières, quand les tronçatures n'étaient pas acceptées. Lorsque cela était possible, les restrictions concernant la langue étaient utilisées.

À partir des notices bibliographiques obtenues par l'interrogation des bases de données, nous avons effectué un premier tri, selon le titre puis le résumé. Les publications potentiellement éligibles ont été récupérées en version intégrale, et une première sélection d'articles à inclure a été établie.

Dans un second temps, nous avons considéré les références bibliographiques de cette première sélection d'articles (en excluant les publications déjà retenues). Nous avons récupéré les articles potentiellement éligibles et effectué une deuxième sélection.

Les critères de sélection des articles sont précisés dans le **Tableau 2**.

❖ Critères d'inclusion :

- Article de recherche original ou revue ;
- Traitant de la prévention de l'athérosclérose ou ses complications
- Impliquant vaccin anti grippal trivalent inactivé
- Comportant des résultats identifiant les possibles mécanismes cellulaires en jeu
- Écrit en français ou en anglais

❖ Critères de non-inclusion :

- Les articles d'opinion / article didactique / éditoriaux

Tableau 6 Critères de sélection des articles

Sont représentés les critères d'inclusion et de non inclusion appliqués lors des étapes séquentielles de sélection bibliographiques.

RESULTATS

5 . SELECTION DES ARTICLES

Dans un premier temps, une recherche bibliographique a permis d'obtenir 1039 articles (**Figure 14**) : 231 issus de la base Pubmed, 665 de Science Direct et 4 de la librairie Cochrane. Sur les 1039 articles, la première sélection sur le titre a exclu 987 articles n'abordant pas la thématique d'étude : 194 issus de la base Pubmed, 650 de Science direct, 4 de la librairie Cochrane. De plus, 4 doublons ont été éliminés. A l'issue de cette étape, 48 articles ont été retenus. Ensuite, la sélection sur le résumé a permis d'exclure 21 articles de l'analyse en raison de :

- Absence du critère d'inclusion pour 14 articles,
- Présence de critère d'exclusion : 3 éditoriaux, 3 articles d'opinion, 1 article en japonais.

La lecture du texte intégral a porté sur 27 articles :

- 23 articles ont été exclus de l'analyse :
 - 1 article n'abordant pas effet cardioprotecteur du vaccin,
 - 14 articles ne décrivaient pas les mécanismes en jeu,
 - 7 articles ne traitaient pas du vaccin antigrippal,
 - 1 article se focalisait sur le vaccin quadrivalent.

- 4 articles ont été inclus dans l'analyse :
 - 2 études expérimentales,
 - 1 étude clinique avant/après,
 - 1 revue bibliographique.

De plus, l'analyse de la bibliographie des 4 articles sélectionnés n'a pas permis d'inclure d'article supplémentaire.

Finalement, notre travail s'est porté sur ces **4 articles** après l'ensemble des sélections que nous avons réalisées (**Figure 14**).

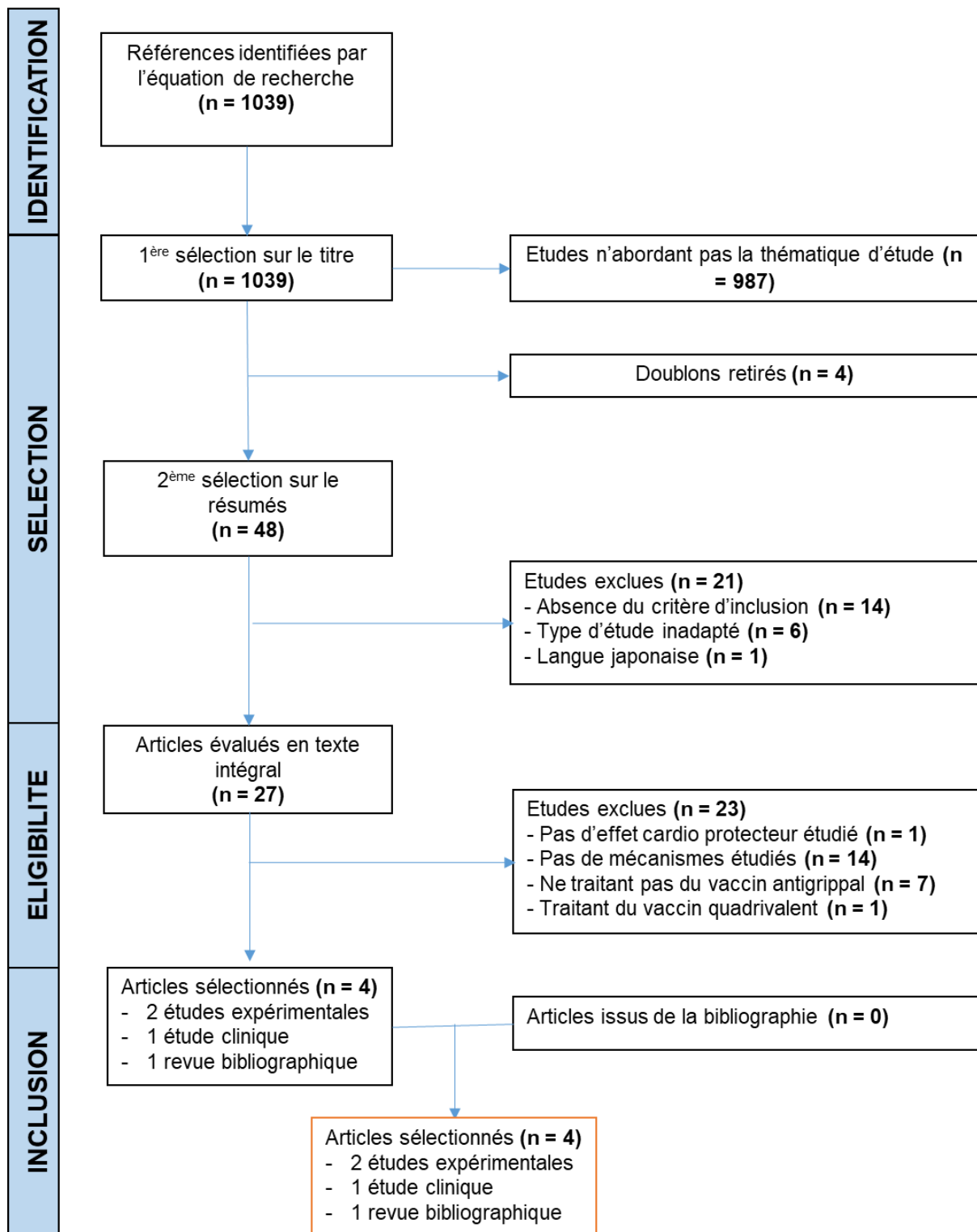


Figure 14 : Diagramme de flux (Flow Chart selon PRISMA).

Sont représentées les différentes étapes de sélection bibliographique selon de 4 critères (identification, sélection, éligibilité et inclusion). Sur 1039 articles présélectionnés dans les bases de données Pubmed, Science Direct et Cochrane, 4 ont été retenus.

Les 4 études retenues ont été publiées entre 2010 et 2017 (**Tableau 3, Annexe**). Ces articles appartiennent à 3 catégories : étude expérimentales, prospective et revue de la littérature. Ceci limite la comparabilité en raison de leur méthodologie spécifique, plus particulièrement leur conception et leur approche de la problématique. Par ailleurs, il est nécessaire de préciser que la méthodologie utilisée par l'auteur dans la revue de la littérature n'était pas clairement exposée, ainsi que la souche virale et le vaccin concerné. De plus, parmi les 2 études expérimentales retenues, l'une utilisait un modèle animal et l'autre un modèle *in silico*.

Parmi les 4 études retenues, deux étaient axées sur le vaccin anti grippal, une étude a porté sur 14 souches virales A, et la dernière étude ne fait ni mention de souche virale d'intérêt ni du vaccin utilisé.

Auteur	Année de l'étude	Méthode	Population	Souche virale et/ou vaccin	Objectif d'étude
Veljko et coll.	2014	Etude expérimentale <i>in silico</i> - Modélisation informatique à partir de bases de données protéiques	Protéines de HA virus A et protéines humaines	14 sous type du Virus A	Déterminer le mécanisme moléculaire expliquant le rôle protecteur des anticorps induits par la vaccination grippale
Bermudez et coll.	2010	Etude expérimentale - Inoculation croissante de dose létale de vaccin antigrippal, antipneumococcique et placebo chez les souris athérosclérotiques	Souris apoE ^{-/-}	Vaxigrip (sous type non précisé)	Déterminer l'effet de la vaccination grippale sur le développement des plaques athérosclérotiques
Keshtkar-Jahromi et coll.	2017	Etude non comparative prospective 2007-2008, dosage pré/post vaccinal de la cytokine pro inflammatoire TWEAK	69 sujets âgés > 70ans, vivant en institution	Fluarix (H1N1, H3N2 et souche B)	Etudier l'effet du vaccin antigrippal sur les taux plasmatiques en cytokine TWEAK
Ciszewski et coll.	2017	Revue de la littérature- méthode non précisée	-	Non précisé	Résumer les potentiels mécanismes expliquant l'effet cardioprotecteur de la vaccination antigrippale

Tableau 7 Résumé des caractéristiques des quatre études incluses

Parmi les 4 études incluses, 2 études étaient des études expérimentales, 1 essai clinique non comparatif « avant/après » et une revue de la littérature.

L'analyse de ces quatre études a permis de définir trois pistes biologiques pouvant expliquer l'effet athéro-protecteur porté par la vaccination antigrippale. Nous nous proposons de distinguer ces mécanismes en deux catégories : un effet non spécifique, en prévenant les complications athéro-thrombotiques de l'infection grippale et en réduisant l'inflammation dans les plaques d'athérome ; et un effet spécifique, porté par les anticorps induits par la vaccination antigrippale (**Figure 15**).

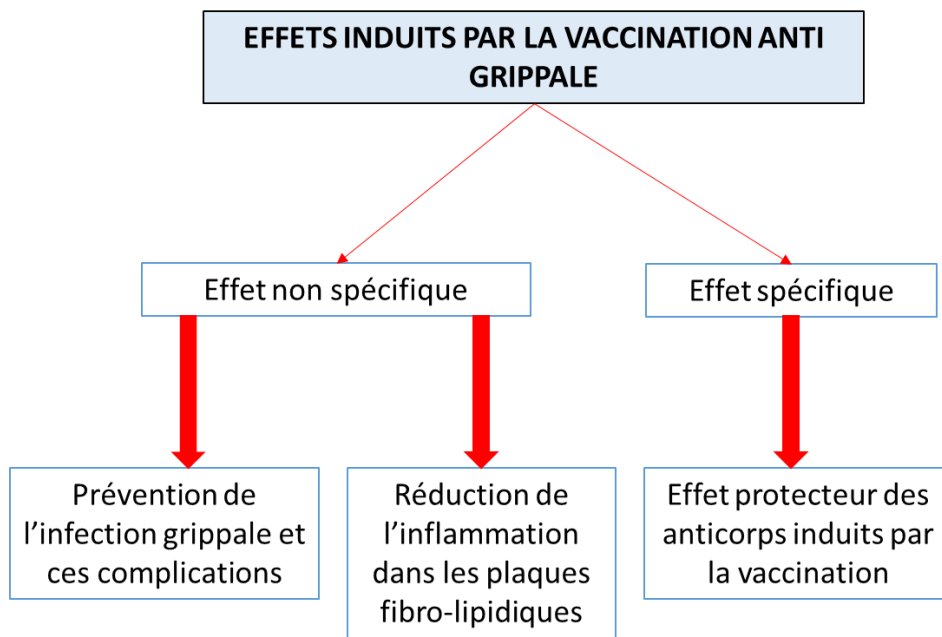


Figure 15 Mécanismes potentiels expliquant l'effet athéro-protecteur de la vaccination antigrippale

On distingue schématiquement trois hypothèses biologiques : le vaccin peut indirectement prévenir l'infection et donc ces complications, mais également, induire une réponse anti-inflammatoire dans les plaques d'athérome. Une autre approche possible peut être le rôle protecteur, spécifique, porté par les anticorps induits par la vaccination.

6 . POTENTIELS MECANISMES EN JEU

6.1 PREVENTION DE L'INFECTION GRIPPALE ET CES COMPLICATIONS

Pour définir dans quelle mesure la prévention de l'infection grippale peut être bénéfique sur le risque cardio vasculaire, il nous a paru approprié de proposer, dans un premier, une possible vision du mécanisme reliant la grippe à la survenue d'un SCA.

Dans cette perspective, les travaux de Naghavi et *al.*, (55,98) ont été fondamentaux. Ils ont mis en évidence de profonds changements inflammatoires et thrombotiques dans les plaques fibro-lipidiques, chez les souris ApoE^{-/-} (modèle de développement de la maladie coronaire) infectées par le virus de la grippe A. L'infection grippale avait induit, dans ces plaques, un recrutement de cellules inflammatoires (macrophages et lymphocytes T), une prolifération des CMLV, des dépôts de fibrines ainsi que la présence d'agrégats plaquettaires superficielles. Ces modifications sont superposables à celles retrouvées dans les plaques rompues après un SCA mortel. Ainsi, ces résultats suggèrent que le virus de la grippe semble capable de fragiliser la plaque fibro-lipidique vulnérables et, de ce fait, conduire à sa rupture.

Les mécanismes clairs qui sous-tendent ces constatations ne sont pas encore établis. Néanmoins, on peut distinguer trois processus possibles que nous nous proposons de décrire brièvement : une action directe, due à la présence du virus dans la plaque, une action indirecte, due à une réponse systémique inflammatoire de l'organisme à l'infection et enfin, une action spécifique, lié à des mécanismes croisés entre le virus et les éléments de la plaque.

6.1.1 MECANISME DIRECT : EFFET DIRECT DU VIRUS GRIPPAL DANS LA PLAQUE

Ce mécanisme a été porté par Haidari et ces collaborateurs (56) en 2010. Ils ont montré, pour la première fois, la capacité du virus grippal A à infecter et résider dans la plaque fibro-lipidique, cela en l'absence même de virémie associée. De plus, la présence du virus a été associé à une réaction inflammatoire locale exacerbée, associant une infiltration plus marquée de macrophages et une réponse cytokinique pro-inflammatoire systémique, corroborant les premiers constats fait par Naghavi et *al.* (55).

Le virus peut donc induire une progression de la plaque fibro-lipidique vers un phénotype instable. En plus de fragiliser la paroi artérielle, le virus semble également capable de participer à sa rupture. Il peut agir, notamment, en y modifiant ces propriétés anticoagulantes (99). Visseren et al. (100) ont observé que le virus de la grippe était capable d'infecter des cellules endothéliales humaines *in vitro* et d'altérer leur fonctionnement en provoquant un déplacement de leur activité vers un profil procoagulant (100–103). Sur ce même modèle, Suo et ses collaborateurs (78) ont constaté que le virus pouvait également induire l'apoptose de cette cellule endothéliale hôte. Enfin, les cytokines proinflammatoires induites par le virus pouvaient, quant à elles, stimuler la dégradation de la MEC (104).

Si l'on transpose ces données dans la plaque fibro-lipidique vulnérable, le virus peut donc favoriser la fragilisation et la rupture de la lésion athéroscléreuse par une apoptose excessive de la paroi endothéliale et une dégradation de la MEC. Après déstabilisation, la plaque peut se rompre exposant le cœur lipidique et nécrotique riche en facteurs procoagulants à la circulation aboutissant à la formation d'un thrombus intravasculaire.

6.1.2 REACTION INFLAMMATOIRE SYSTEMIQUE

Indépendamment des effets retrouvés *in situ* dans la plaque, l'organisme va induire, en réponse à l'infection, un état inflammatoire aigu (105). Il est caractérisé par la production massive de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires par les cellules épithéliales pulmonaires qui seront libérées, par la suite, dans la circulation sanguine (61). Des médiateurs du stress oxydatif et des molécules vasoactives sont également sécrétés dans le même temps (58). Cette réponse a pour objectif de mobiliser le système immunitaire sur le site de l'infection et permettre l'élimination du virus. En outre, ces mêmes médiateurs inflammatoires sont sécrétés au cours du développement de l'athérosclérose (19).

Ainsi, ce constat a conduit Naghavi (55) à suggérer que le système immunitaire alerté par cette production massive de cytokines et chimiokines va induire, dans un même temps, une réponse au niveau de la plaque d'athérome par l'infiltration, l'attraction et l'adhérence massivement des monocytes et des lymphocytes T à la paroi vasculaire athéroscléreuse majorant les processus inflammatoires dans la plaque. Elle s'accompagne de la prolifération des cellules musculaires lisses pouvant contribuer à la progression rapide de lésion précoce.

Cependant, cet effet n'est pas spécifique de l'infection grippale et a également été documenté à la suite d'infections urinaires notamment (71).

6.1.3 REACTION CROISEE AVEC LES COMPOSANTS DE LA PLAQUE

Il semble maintenant probable que l'un des mécanismes par lequel le virus puisse participer à la progression de l'athérosclérose soit par mimétisme moléculaire avec le LDL-ox. En effet, des similitudes moléculaires ont été retrouvées entre les hémagglutinines virales et le LDL-ox (75). Gurevich et al. ont mis en évidence une corrélation antigénique entre les anticorps IgG contre le virus grippal A et les anticorps contre les LDL oxydés chez des patients présentant une progression clinique et documentée de l'athérosclérose (106). Les IgG ont été documentés pour former des complexes immuns avec le LDL-ox qui peuvent s'accumuler dans la plaque et participer au processus inflammatoire en stimulant le recrutement des cellules immunitaires (107–109).

Ainsi, le virus pourrait, d'une part, activer les voies pro-athérogéniques du LDL-ox par réaction croisée et d'autre part, la réponse humorale à l'infection pourrait par mimétisme moléculaire, participer à la réponse inflammatoire. Les anticorps IgG, stimulés par l'infection grippale se fixeront sur les LDL-ox présents dans les lésions athérosclérotiques, de leur phase précoce aux stades plus tardifs et pourrait induire la formation de complexes immuns à l'origine de la progression des lésions. Ce mécanisme n'exige donc pas la présence du virus grippale dans la plaque.

En conclusion, le virus de la grippe peut, soit par action directe sur la plaque d'athérome soit par des mécanismes indirects, induire une réponse inflammatoires systémiques, responsable de l'activation immunitaire, de la cascade inflammatoire et d'un état d'hypercoagulabilité, contribuant à déstabiliser les plaques vulnérables (Figure 16). Ces manifestations sont celles observées, à bas bruit, dans les lésions avancées. Des similitudes antigéniques entre le virus et le LDL oxydée, ont été rapportées et peuvent être responsables de réaction immunitaire croisée, à l'origine de la progression de maladie. Cependant, cette effet ne semble pas spécifique au virus grippal et des données similaires ont été rapportées avec les infections à *CMV* et *Chlamydia pneumoniae* notamment (99).

On peut donc aisément déduire que la séroprotection apportée par la vaccination grippale va permettre, après l'exposition au virus, la mise en jeu d'une réponse immunitaire secondaire qui va neutraliser précocement le virus, prévenir la colonisation des cellules-hôtes et amener à son élimination. Cette vision est, actuellement, celle la plus partagée. Cependant, cette approche seule ne permet pas de soutenir l'ensemble des résultats observés. En effet, ce mécanisme ne permet pas d'apporter d'explication à la protection prolongée, constatée au-delà de la saison grippale (84,86,87,90,95) ni les bénéfices observées en l'absence d'exposition au virus grippal (110). Ainsi, ces données ont amené à réfléchir à d'autres pistes explicatives.

Les données expérimentales fournies par Bermudez et ces collaborateurs (110), en premier lieu, ont été capitales pour apporter des éclaircissements à ces observations. On peut schématiquement définir deux nouvelles approches : une première action non spécifiques, lié à la modulation de la réponse immunitaire vers un profil anti-inflammatoire et une action spécifique, impliquant la réponse adaptative et le rôle protecteur des anticorps induits par la vaccination antigrippale.

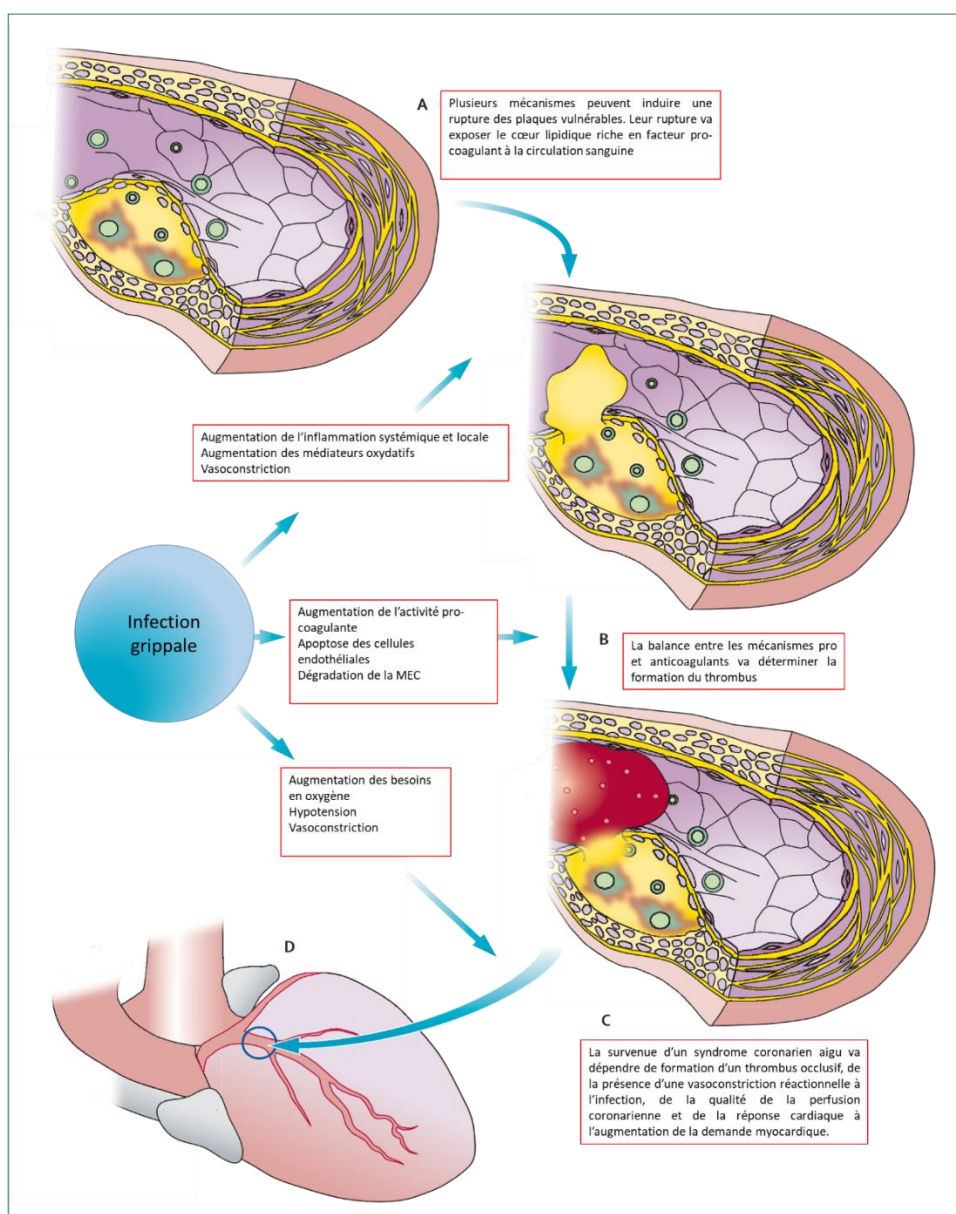


Figure 16 Déclenchement du syndrome coronarien aigu par l'infection grippale¹⁴

(A) L'infection va entraîner une fragilisation de la plaque d'athérome fibro-lipidique (B) contribuant à sa progression puis sa rupture (C) et, par la suite, participer à la formation d'un thrombus occlusif intra vasculaire (D). Enfin, elle aboutit in fine à la manifestation clinique de cette occlusion, à savoir le syndrome coronarien aigu.

¹⁴ Figure adaptée de l'article de Corrales-Medina VF et al. Role of acute infection in triggering acute coronary syndromes. *Lancet Infect Dis.* (2010)

6.2 MODULATION DU PROCESSUS INFLAMMATOIRE DANS LA PLAQUE

Bermudez et ces collègues (110) ont été les premiers à étudier les effets potentiels de la vaccination antigrippale sur l'athérosclérose à partir d'un modèle expérimental animal établi de la maladie athéromateuse : la souris ApoE^{-/-}. L'effet de l'immunisation avec des doses croissantes de vaccin antigrippal (Vaxigrip[®], Sanofi-Aventis, 0.38, 1.8, 9 et 45g/0.5 ml) sur la plaque fibro-lipidique a été comparé à celui de modèles immunisés avec Pneumo23[®] (vaccin antipneumococcique, Sanofi-Aventis) et un groupe témoin inoculés avec du sérum salin tamponné au phosphate. Aux doses les plus élevées, (correspondant aux posologies indiquées dans la vaccination humaine), le vaccin avait été capable de moduler significativement les niveaux plasmatiques en cytokines produites par les lymphocytes T. Il a entraîné une diminution des cytokines pro-inflammatoires (IFN γ , IL-2, IL-17) tout en favorisant la synthèse de cytokines anti-inflammatoires (IL-4). Cependant, les taux de TNF α , bien qu'ayant tendance à s'abaisser après vaccination, ne montrait pas de significativité statistique. Enfin, la cytokine IL-10 n'avait pas pu être détectée. En parallèle, les modèles vaccinés avec la dose la plus élevée de Vaxigrip[®], 45g/0.5 ml, ont présenté des plaques fibro-lipidiques plus petites, stables avec un contenu lipidique plus faible, riche en cellules musculaires lisses et collagènes comparativement aux modèles témoins.

Dans cette étude, les effets du vaccin ont été analysés en l'absence d'exposition au virus de la grippe ce qui a permis, certes, de montrer l'absence d'effets adverses potentiels mais surtout de suggérer un effet propre du vaccin. De plus, l'effet de l'immunisation par la vaccination antigrippale sur les plaques avait été comparé à celle de la vaccination antipneumococcique. Cette dernière n'avait pas montré d'effet sur la stabilisation des plaques malgré un titre en anticorps élevé.

Ensembles, ces résultats ont permis d'apporter une nouvelle piste biologique. Le vaccin, à des doses élevées, semble induire une modulation de la réponse immuno-inflammatoire dans les plaques fibro-lipidiques vers un profil Th2 chez les souris athérosclérotiques comparativement au souris témoins. Cette réponse anti-inflammatoire était associée à des plaques plus stables.

Cet impact sur la réponse cytokinique a également été évalué par Keshtkar-Jahromi et *al.* (111). Ils ont étudié l'effet de la vaccination antigrippale sur le taux d'une cytokine pro-inflammatoire de la superfamille des TNF, TWEAK (Tumor necrosis factor-like Weak inducer of apoptosis). Cette cytokine multifonctionnelle, ubiquitaire, exprimée dans de nombreux tissus et lignées cellulaires, a été documentée pour son implication dans la progression de l'athérosclérose (112,113). Elle est produite par les leucocytes et les cellules immunitaires et son expression a été détectée dans les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules NK ainsi que les lymphocytes T et B (114). Le seul récepteur connu

interagissant avec TWEAK est le Fn14, exprimé par les cellules épithéliales et endothéliales.(112,114,115).

L'intérêt de cette cytokine est porté par sa possible participation dans les processus athérosclérotiques. En effet, dans les plaques d'athérome humaines, TWEAK et Fn14 sont coexprimés. La protéine TWEAK est impliquée dans de nombreux processus associés à l'athérogénèse tels que la production de cytokines proinflammatoires, la prolifération et la migration des CMLV dans les plaques d'athérosclérose et l'augmentation de la synthèse de métalloprotéinases. De plus, cette cytokine a une action pro-apoptotique qui pourrait contribuer à déstabiliser la plaque (112,113). L'interaction TWEAK-Fn14 exerce donc des fonctions biologiques néfastes dans l'athérosclérose.

Dans leur étude, Keshtkar-Jahromi *et al.* ont conduit une étude prospective observationnelle dans laquelle le taux de la cytokine TWEAK a été mesuré chez 69 patients âgés vivant en institution avant puis quatre semaines après une vaccination antigrippale (Fluarix®). Ces résultats ont mis en évidence une réduction considérable du taux de cette cytokine circulant après vaccination. En outre, cette diminution était inversement proportionnelle à la réponse en anticorps induite par le vaccin. Par ailleurs, les auteurs ont également mesuré et comparé les taux de sCD163 avant et après la vaccination. Ce marqueur, exclusivement sécrété par les monocytes / macrophages activés, est un marqueur de l'activité monocyttaire et de l'activation de la réponse immunitaire (116). L'absence de variation entre les taux pré et post vaccinaux en sCD163, ont amené les auteurs à suggérer que l'effet bénéfique du vaccin antigrippal sur les taux de TWEAK circulants pouvait être directement induit par le vaccin lui-même ou médié par une autre voie que celle impliquant les monocytes.

Néanmoins, nous ne disposons pas de données suffisantes permettant d'expliquer le mécanisme par lequel la vaccination antigrippale pourrait induire cette modulation du processus inflammatoire. Il semble toutefois licite de s'interroger sur la participation des anticorps à ce processus. Dans ces présentes études, la corrélation négative entre le taux d'anticorps et celui des cytokines, amène nécessairement à discuter leur implication. Ceci permet d'introduire la notion d'athéro-protection portée par les anticorps vaccinaux et le possible mimétisme moléculaire avec les anticorps ciblant les composants de la plaque d'athérome.

6.3 RÔLE ATHÉRO-PROTECTEUR DES ANTICORPS VACCINAUX.

Comme nous l'avions évoqué, la plupart des études sur la vaccination antigrippale ont étonnamment constaté que l'effet protecteur n'était pas limité à la saison grippale. Le nombre d'événements cardio-vasculaires majeurs chez les patients vaccinés a été réduit durant les mois d'été couvrant une période généralement exempte de la circulation virale.

Les anticorps induits par les souches virales A sont connues pour persister au de-là de la saison grippale avec une séroprotection pouvant aller jusqu'à deux ans après la vaccination, contrairement aux anticorps induits par les virus de type B (117). La réponse immunologique au virus de la grippe A semble donc être une piste possible à cette athéro-protection vaccinale.

Par ailleurs, la mise en évidence de similitudes antigéniques constatée entre les antigènes viraux et le LDL-ox avait amené, Madjid (118) et Naghavi.(55) à proposer un mimétisme antigénique entre le virus de la grippe et le LDL-ox. Ainsi, on peut facilement comprendre que les anticorps induits par la vaccination pourraient permettre de neutraliser le LDL-ox et son internalisation par les macrophages, et de ce fait, limiter son action sur le développement et la progression de l'athérosclérose.

Dans cette optique, Veljko et *al.* (119) ont réalisé une comparaison structurale entre les anticorps induits par les souches vaccinales A et les protéines humaines incluses dans leur base de données afin de déterminer la protéine de l'organisme la plus susceptible d'être impliquée dans cette réaction croisée. Les auteurs ont mis en évidence des domaines fortement conservés sur l'antigène HA1 du virus grippal A, responsable de son interaction avec la protéine hôte. Après comparaison structurale, 10 protéines ont été identifiées comme potentiels candidats. L'évaluation de leur implication dans le processus athérosclérotique a permis de soutenir une forte imputation du récepteur de la bradykinine B2 (BKB2R), jouant un rôle dans l'homéostasie cardio-vasculaire par sa réponse antioxydante et anti inflammatoire (120). L'interaction de la bradykinine sur son récepteur B2 (BKB2R) a été documentée pour induire une élévation du débit cardiaque par dilatation coronaire, bénéfique à la phase précoce d'un IDM et dans le remodelage cardiaque post-infarctus. De plus, il semble également agir en inhibant l'apoptose, l'inflammation et l'hypertrophie myocardique (121,122).

L'analyse *in silico* a suggéré que les anticorps vaccinaux pourraient agir comme agoniste sur le BKB2R. Les résultats présentés proposent la protéine BKB2R comme médiateur du processus cardioprotecteur des vaccins antigrippaux.

7 . DISCUSSION

7.1 RESULTATS PRINCIPAUX

Nous avons réalisé une revue de la littérature afin d'analyser les différentes pistes biologiques pouvant expliquer l'effet athéroprotecteur observé avec la vaccination antigrippale.

L'analyse de ces quatre études a permis de définir trois mécanismes putatifs potentiels sous-tendant cette effet du vaccin antigrippal (**Figure 17**).

Elle peut, en premier lieu, prévenir indirectement l'infection grippale et ces complications. En effet, le virus peut, soit par action directe sur la plaque d'athérome soit par mécanismes indirects, induire un état pro-inflammatoire et pro-thrombotiques, systémiques et locales, contribuant à déstabiliser les plaques vulnérables.

D'autre part, le vaccin a été également capable de moduler la réponse immuno-inflammatoire dans la plaque fibro-lipidique vers un profil anti-inflammatoire. Cet effet était associé à des plaques plus stables, avec une chape fibreuse renforcée et un cœur lipidique de taille réduite suggérant ainsi la capacité du vaccin à prévenir la fragilisation des plaques.

Enfin, les données soutiennent un possible rôle protecteur des anticorps induit par la vaccination grippale. Il pourrait être capable de limiter l'internalisation du LDL-ox par réaction croisée et ainsi empêcher la formation des cellules spumeuses. L'activation de voie athéro-protectrice par l'intermédiaire du récepteur BKB2A pourrait être un mécanisme à explorer.

En outre, ces pistes biologiques restent très hypothétiques. Actuellement, le plus solide enseignement à tirer est que l'effet athéro-protecteur de la vaccination n'est que très partiellement compris et les mécanismes sous-jacents restent encore à être identifier. Toutefois, la cardio-protection vaccinale est ici à considérer certainement avec beaucoup de sérieux.

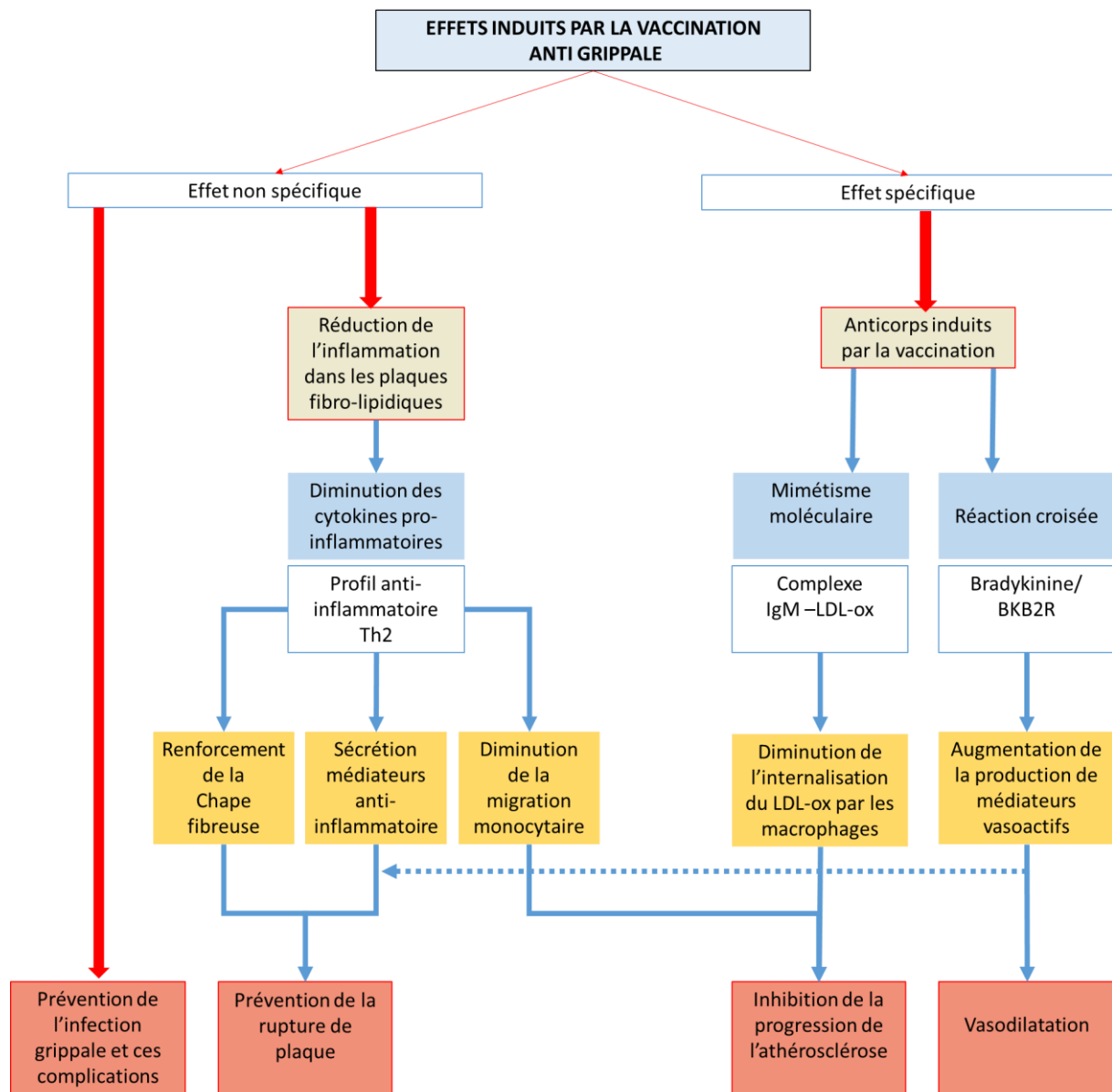


Figure 17 Possibles mécanismes cardioprotecteurs induit par la vaccination anti grippale

Il existe plusieurs mécanismes potentiels par lesquels le vaccin antigrippal peut exercer son effet athéro-protecteur.

1) *Le vaccin peut indirectement prévenir l'infection grippale et ces complications.*

2) *Il peut également moduler la réponse immuno-inflammatoire dans la plaque vers un profil cytokinique anti-inflammatoire correspondant au profil sécrétoire des lymphocytes Th2. Cela a entraîné un renforcement de la chape fibreuse par recrutement et prolifération des CMLV ainsi qu'une sécrétion accrue de collagène, un coeur lipique de plus petite taille probablement en lien avec d'une part, une diminution des processus inflammatoire dans la plaque et, d'autre part, la diminution du recrutement monocytaire.*

3) *Enfin, les anticorps induits par la vaccination grippale peuvent induire, par réaction croisée avec les anticorps anti-LDL-ox, une diminution de la formation des cellules spumeuses. Ils peuvent également activer le récepteur BKB2A, induisant la production de médiateurs vasoactifs qui vont stimuler une réponse anti-inflammatoire et une vasodilatation artérielle.*

Bien qu'à considérer avec beaucoup de prudence et de distance, ces études ont néanmoins permis de soulever de nombreuses interrogations qui pourrait présenter des pistes de réflexions pour des études ultérieures.

Dans cette présente revue, nous avons identifié qu'un des effets athéro-protecteurs du vaccin pourrait être médié par une réaction croisée entre les anticorps vaccinaux et ceux ciblant les LDL-ox de la plaque. Le rôle exact des auto-anticorps naturels dans le processus athérosclérotique n'est pas défini clairement. Pour définir dans quelle mesure cette interaction peut être protectrice dans le processus athérosclérotique, il nous a semblé nécessaire, dans un premier temps, de se questionner sur la fonction de ces auto-anticorps. Quel rôle jouent-ils dans la plaque d'athérome et par extension, sur les bases d'un mimétisme antigénique, quel place peuvent donc prendre les anticorps vaccinaux ?

Des données contradictoires se sont accumulées autour de cette question. Ils semblent jouer une action double dans l'athérosclérose. Dans leur étude, Zhou et *al.* ont observé que le LDL-ox stimulait la production d'auto-anticorps IgG par les lymphocytes B et ce taux d'anticorps était inversement proportionnel à la progression des lésions athérosclérotique (123). De plus, l'immunisation avec le LDL-ox avait induit une réponse en anticorps significative, corrélée à des lésions plus petites chez les souris déficientes en Apo-E (124). Enfin, le transfert de lymphocytes B chez des souris splénectomisée ApoE^{-/-} avait réduit la progression de l'athérosclérose et était associée à une augmentation des titres d'anticorps en oxLDL (125). Ces données suggèrent donc que les anticorps anti-LDL-ox peuvent porter une fonction athéro-protectrice dans les plaques d'athéromes. Cependant, ces résultats doivent être discutés puisque, parallèlement, les auto-anticorps anti-LDL-ox ont également montré être prédictif de la progression de la maladie athéromateuse (107,126). Ce dernier constat peut, néanmoins, être attendu puisque les concentrations plasmatiques de LDL-ox ont été associées à la sévérité de la maladie coronarienne (127) et du syndrome coronarien aigue (128). Ces associations antinomiques, à la fois protectrices et pro athérogéniques, peuvent être soutenus par des effets différents dépendant de la nature de l'auto-anticorps en jeu.

Le LDL-ox peut induire différentes classes et sous classes d'auto-anticorps (IgA, IgM, IgG1, IgG2, IgG3)(129). Ces classes multiples et les sous-classes d'anticorps anti-OxLDL peuvent entraîner des effets hétérogènes : les données actuelles suggèrent que les IgG semblent être pro-athérogéniques et contribuer à la progression de l'athérosclérose tandis que les IgM pourraient avoir un effet plutôt athéroprotecteur (130). Ces résultats sont soutenus par la prédominance des IgG dans les lésions athérosclérotiques, notamment les sous-classes IgG1 et IgG3, qui sont documentées pour entraîner une réponse pro-inflammatoire (129,130).

L'IgG va former un complexe immunitaire avec le LDL-ox puis se fixer ensuite au récepteur Fc sur les macrophages de la plaque. Ce dernier va internaliser ces complexes immunitaires LDL-ox-IgG, contribuant à la formation des cellules spumeuses (108,130). En réponse, le macrophage activé sécrète des cytokines pro-inflammatoires, des métalloprotéinases ou encore des radicaux libres (108,129–132). Ainsi les IgG pourraient participer à la progression et la fragilisation des plaques d'athérome (131).

Parallèlement, les IgM anti-LDL-ox pourraient, quant à eux, inhiber l'internalisation du LDL-ox par les macrophages et ainsi prévenir les processus inflammatoires (131,133). Ainsi, on pourrait, dans un premier temps, supposer que le vaccin antigrippal induit la production d'IgM antivirales qui réagiraient par action croisée sur le LDL-ox. Cependant, cette approche doit être nuancée. D'une part, la réponse anticorps au vaccin inactivé trivalent est dominée par la production plasmatique d'anticorps IgG spécifiques des protéines de surface du virus, en particulier des IgG1, avec des concentrations plus faibles en anticorps IgM et IgA (134–136). D'autre part, les données apportées par Bermudez et *al.* ont montré que la vaccination par le Vaxigrip® avait induit exclusivement des anticorps de type IgG1, sans détection d'anticorps de type IgM. Par conséquent, ces observations contradictoires sur le rôle des différentes classes d'immunoglobulines amènent finalement à souligner l'importance de considérer plutôt les cibles antigéniques de ces autoanticorps.

Le LDL est le principal transporteur lipidique du plasma. Il est constitué d'ester de cholestérol (29% de la masse totale), de phospholipides (28%), protéines (21%), cholestérol libre (11%) et triglycéride (9%). Le seul composant protéique statique du LDL est la protéine ApoB-100 (43). ApoB-100 est une chaîne peptidique unique de 500 kDa. Ce peptide, sous sa forme native ou modifiée par un aldéhyde (MDA-LDL), a été identifié comme une cible importante pour les réponses immunitaires protectrices contre les LDL (137–139). Dans ces mêmes études, les autoanticorps anti-MDA-LDL, aussi bien les IgG que IgM ont montré un effet athéro-protecteur. De plus, Schiopu et *al.* (140) ont montré que l'immunisation passive de souris ApoE^{-/-} avec des IgG1 humaines reconnaissant MDA-LDL entraînant une réduction de la surface de la plaque aortique et de l'inflammation de la plaque. De même, des taux faibles d'autoanticorps IgG ciblant spécifiquement le peptide ApoB-100 natif ont également été associés à un risque accru d'événements cardiovasculaires majeurs secondaires.

Par conséquent, ces données nous portent à suggérer l'implication des autoanticorps ciblant MDA-LDL dans cette réaction croisée avec les anticorps vaccinaux. Ces données sont également supportées par les résultats de Pleskov et *al.* (75). L'analyse *in silico* a révélé une similarité significative entre la séquence de liaison à la protéine hôte de l'hémagglutinine virale et la protéine ApoB du LDL-cholestérol. De plus, Gurevich et *al.* (106) ont mis en évidence une corrélation entre les niveaux d'IgG anti LDL-ox et ceux du virus de la grippe type A chez les patients atteints d'athérosclérose évolutive.

Enfin, des modifications structurelles et fonctionnelles analogues dans la plaque d'athérome ont été observées à la suite de la vaccination antigrippale et la vaccination avec le peptide ApoB-100 chez la souris ApoE^{-/-} renforçant l'hypothèse d'un mimétisme moléculaire. Dans leur étude, Bermudez et al. (110) ont mis en évidence une modulation de la réponse cytokinique vers un profil lymphocytaire Th2 associée à une sécrétion exclusive d'IgG1 anti-Vaxigrip® dans la plaque d'athérome. Celle-ci était associée à des plaques plus stables, une chape fibreuse plus épaisse, renforcée, riche en collagènes ainsi qu'un cœur lipidique de plus petite taille. Ces mêmes constats a été observés après la vaccination avec le peptide Apo B100 avec la mise en évidence d'une commutation vers une réponse anti inflammatoire de type Th2 médiée par des IgG1 anti- ApoB100 associé à des lésions athérosclérotiques plus petites chez les modèles de souris ApoE^{-/-} (141). Ainsi, le peptide ApoB-100 représente un élément important pouvant lier l'immunité vaccinale dans la prévention de l'athérosclérose. De plus, elle souligne la place centrale qu'occupe la réponse lymphocytaire Th2 dans la médiation dans l'effet du vaccin.

Pris ensemble, ces résultats nous ont amené à souligner la plausibilité d'un mimétisme antigénique entre les anticorps vaccinaux et les autoanticorps anti-ApoB100. Par conséquent, notre étude met en exergue le rôle de l'auto-immunité dans la maladie athéromateuse.

Ce mécanisme, par différents aspects et au vu des perspectives sur lesquelles il pourrait ouvrir, amène à être considéré avec sérieux et nécessite d'être étayé par des études ultérieures. Dans cette optique, la comparaison structurelle de ces deux anticorps pourrait permettre, dans un premier temps, d'identifier une séquence antigénique cible, qui soutiendrait l'effet athéro-protecteur de ces anticorps. L'immunothérapie avec les peptides P2, P143 et P210 de l'ApoB100 a révélé induire une diminution de 40% à 70% de l'athérosclérose et de l'inflammation de plaque chez les souris hypercholestérolémiques ApoE^{-/-} (142–144). Ainsi, ces séquences peptidiques pourraient être digne de réflexion dans l'étude de possible corrélation moléculaire. Des recherches sur ce mécanisme ouvre des perspectives sur des thérapeutiques immunomodulatrices ciblées dans le traitement de la maladie athéromateuse.

7.2 LIMITES DE L'ETUDE

La principale limite de cette revue de la littérature est incontestablement le faible nombre d'études sélectionnées. La sélection n'a permis d'identifier que quatre articles abordant l'analyse des mécanismes potentiels sous-tendant l'effet cardioprotecteur porté par la vaccination antigrippale. La thématique ciblée et récente de l'étude pourrait expliquer le faible nombre de sources incluses.

D'une part, l'absence de double lecture a pu induire un biais de sélection parmi les références retenues.

Par ailleurs, l'hétérogénéité des approches et la conception des études n'a pas permis d'apporter une cohérence et une validité suffisante pour conclure à des pistes certaines. Toutefois, bien que la comparabilité des études ait été limitée, elles ont élargi la réflexion et abordé la problématique sous différents aspects.

7.3 PERSPECTIVES

La grippe est une cause majeure de morbi-mortalité. Ce sont les personnes âgées de 65 ans et plus qui sont majoritairement touchées par cette épidémie puisqu'ils représentaient 69% des patients hospitalisés pour syndrome grippal, 67% des cas graves ayant justifiés une admission en réanimation et 91% des décès attribuables à la grippe étaient survenus chez les personnes âgées de 75 ans et plus durant la saison 2016-2017(3). Toutefois, ces données peuvent avoir été sous-évaluées puisque la grippe n'est actuellement pas un déclencheur reconnu de SCA.

La reconnaissance du rôle de l'infection grippale dans les complications cardio-vasculaires offre une nouvelle opportunité thérapeutique précieuse pour prévenir la maladie athéromateuse. Actuellement, hormis les mesures barrières, le seul et meilleur moyen de prévenir la grippe reste sans conteste le vaccin. On constate cependant, depuis 2009, une baisse des taux de couverture vaccinale, estimée à 50,8 % sur la campagne de vaccination de 2015-2016 (145) s'éloignant ainsi de l'objectif d'une couverture vaccinale antigrippale fixé à 75 % par l'OMS.

La vaccination est une méthode sûre, peu coûteuse et efficace pour réduire la morbidité chez les patients à haut risque atteints de maladies cardiovasculaires. Sa bonne tolérance à tous les âges et l'absence d'effets adverses en font un traitement supplémentaires dans l'arsenal thérapeutique.

La vaccination antigrippale est l'une des interventions les plus rentables disponibles. MacIntyre et coll. (92) ont constaté que la vaccination présente le rapport avantage/bénéfice le plus favorable comparativement à la plupart des traitements pharmacologiques actuels de prévention cardiovasculaire (**Tableau 4**). Pour cette raison, la sous-utilisation de la vaccination antigrippale est discutable.

Intervention coronaire	Prévention	Efficacité/efficacité de l'intervention contre les infarctus du myocarde (%)
Tabagique	Secondaire	32 – 43
Statines	Secondaire	19 – 30
Médicaments antihypertenseurs	Secondaire	17 – 25
Vaccin antigrippal	Secondaire	15 – 45

Tableau 8 Efficacité des interventions coronaires et du vaccin antigrippal dans la prévention de l'infarctus du myocarde¹⁵

Sont représentés les principales interventions pharmacologiques et non pharmacologiques à disposition dans le traitement et la prévention secondaire de la maladie coronarienne. Elles sont comparées selon leur efficacité dans la prévention des syndromes coronariens aigus. Le tabagisme reste la mesure principale pour limiter le risque de SCA. La vaccination grippale montre un bénéfice sensiblement identique aux recours des statines.

Les vaccins font l'objet de nombreuses controverses ce qui rend son adhésion parfois difficile. Une perte de confiance envers les vaccins est observée dans tous les pays industrialisés et plus spécifiquement en France (146). Cette modification des perceptions de la prévention vaccinale est associée à la remise en cause des données scientifiques dans son ensemble. La validité des connaissances est questionnée et notamment la bonne foi de l'expert est suspecte en raison des conflits d'intérêt avec l'industrie des vaccins et de cas antérieurs d'erreurs scientifiques. La peur de la maladie a été peu à peu supplanté par la crainte des effets indésirables et persistent longtemps, même après des études démontrant la sécurité du vaccin. Pour justifier et expliquer une vaccination, les arguments de « bénéfiques » sont plus difficiles à appréhender par le public.

¹⁵ Tableau adapté : MacIntyre CR et coll. Ischaemic heart disease, influenza and influenza vaccination : a prospective case control study. *Heart*. (2013)

Bien qu'extrêmement important, l'éducation des professionnels de la santé ne suffit pas. De nouvelles recherches sont nécessaires pour identifier les obstacles à la vaccination des patients atteints de cardiopathie et développer des programmes conçus pour surmonter ces obstacles. Un changement de paradigme peut être nécessaire pour inciter les cliniciens à voir le vaccin anti grippal comme un outil rentable, une stratégie de prévention additionnelle sûre et efficace pour les patients atteints de maladie coronaire. Enfin, il est probablement souhaitable d'orienter l'information délivrée au patient dans le sens d'une cardioprotection vaccinale afin d'améliorer son adhésion.

CONCLUSION

Cette revue de la littérature a permis de suggérer plusieurs approches potentiels par lesquels le vaccin antigrippal pouvait exercer son action athéro-protectrice. Le premier, et de loin le plus intuitif, est la prévention de l'infection grippale elle-même. L'infection grippale tend à déstabiliser les plaques athérosclérotiques en exacerbant les mécanismes inflammatoires et thrombotiques, évoluant à minima dans les lésions. La mise en évidence d'un possible mimétisme moléculaire entre les éléments pro-inflammatoires de la plaques et le virus a amené à de nouvelles pistes de réflexion dans l'étiopathogénie de cette hypothèse infectieuse. De façon intéressante, une nouvelle approche possible a été identifiée, impliquant la réponse adaptative et le rôle protecteur des anticorps induits par la vaccination grippal. Ceux-ci agiraient par réaction croisée en modulant la réponse immunitaire vers un profil anti-inflammatoire.

Bien qu'aucune relation causale ne puisse être établie, et que les études sur le sujet gardent des limites certaines, ces résultats mettent en avant les potentiels bienfaits de la vaccination et soutiennent les efforts visant à augmenter la couverture vaccinale chez les sujets à haut risque pour prévenir une recrudescence des événements cardiaques.

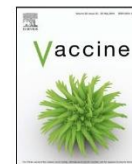
ANNEXES

ANNEXE I : Veljkovic V. et *al.* Influenza vaccine as prevention for cardiovascular diseases: Possible molecular mechanism. *Vaccine*. 12 nov 2014;32(48):6569-75.

ANNEXE II : Bermúdez-Fajardo A et *al.* Influenza vaccination promotes stable atherosclerotic plaques in apoE knockout mice. *Atherosclerosis*. 1 juill 2011;217(1):97-105.

ANNEXE III : Keshtkar-Jahromi M et *al.* Effect of influenza vaccine on tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) in older adults. *Vaccine*. 12 avr 2018;36(16):2220-5.

ANNEXE IV : Ciszewski A. Cardioprotective effect of influenza and pneumococcal vaccination in patients with cardiovascular diseases. *Vaccine*. 4 janv 2018;36(2):202-6.



Influenza vaccine as prevention for cardiovascular diseases: Possible molecular mechanism

Veljko Veljkovic^{a,*}, Sanja Glisic^a, Nevena Veljkovic^a, Tijana Bojic^b, Ursula Dietrich^c, Vladimir R. Perovic^a, Alfonso Colombatti^d

^a Center for Multidisciplinary Research, Institute of Nuclear Sciences Vinca, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

^b Laboratory of Radiobiology and Molecular Genetics, Institute of Nuclear Sciences Vinca, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

^c Georg-Speyer-Haus, Institute for Tumor Biology and Experimental Therapy, D-60596 Frankfurt-am-Main, Germany

^d Divisione di Oncologia Sperimentale, Centro di Riferimento Oncologico CRO-IRCCS, 33081 Aviano, Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 December 2013

Received in revised form 17 June 2014

Accepted 8 July 2014

Available online xxx

Keywords:

Influenza vaccine

Cardio-vascular diseases

Hemagglutinin

Bradykinin 2 receptor

Protein–protein interaction

ABSTRACT

Despite plausible evidence for beneficial effects of the vaccination against influenza in cardiovascular diseases (CVD) very limited studies have been carried out to explain the molecular mechanism of this phenomenon. Using the informational spectrum method (ISM), a virtual spectroscopy method for analysis of protein–protein interactions, the bradykinin 2 receptor (BKB2R) was identified as a principal host protein which could mediate molecular processes underlying the cardioprotective effect of influenza vaccines.

Based on this finding we suggest that some antibodies elicited by influenza vaccines act as agonists, which activate a BKB2R-associated signaling pathway contributing to the protection against CVD. The ISM analysis of 14 influenza viruses, which were used as components of seasonal vaccines, revealed four vaccine viruses A/Beijing/262/95(H1N1), A/NewCaledonia/20/1999(H1N1), A/Christchurch/28/2003(H3N2) and A/Perth/16/2009(H3N2), which could be suited best for further studies on the cardioprotective effect of influenza vaccines.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

According to the recently released World Health Organization report more people die annually from cardiovascular diseases (CVD) than from any other cause [1]. It is estimated that 17.3 million people died from CVDs in 2008, representing 30% of all global deaths [1]. It is projected that CVD will remain the single leading cause of death and that by 2030, almost 23.6 million people will die from these diseases [1].

Children and adults with CVD are particularly vulnerable to complications of influenza infections [2–4]. For this reason, immunization against influenza has a critical role in the prevention of serious complications in patients with CVD during the influenza season. Numerous studies confirmed a strong correlation between influenza vaccination and reduction of cardiovascular events [5–12]. Recent systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials from the Netherlands, Argentina, Poland and Thailand, conducted between 1994 and 2008 that studied

effects of influenza vaccination in patients with and without established CVD revealed about 50% reduction in the risk of having a major cardiovascular event in the year following vaccination [13]. This protective effect of the influenza vaccine was also observed beyond the influenza season [7,11,14]. This convincing evidence of a protective role of influenza vaccines in CVD suggests their possible use as cost-effective primary and secondary preventive intervention in CVD patients, as well as in CVD risk patients (see Ref. [15] and references therein).

Understanding the molecular mechanism underlying this phenomenon is the basis for further studies of influenza vaccines as possible preventive intervention against CVD. Despite numerous publications reporting plausible evidence for beneficial effects of the vaccination against influenza in CVD, rarely studies have been carried out to explain the molecular mechanism behind these protective effects. Recently, Bermudez-Fajardo and Oviedo-Orta, based on results obtained with adapted influenza viruses in mice, suggested that influenza vaccination may protect against CVD by promoting atherosclerotic plaques stabilization and anti-inflammatory responses [16]. However, other authors mainly ascribe this protective effect to the prevention of virus infection per se, as it causes a procoagulant state, representing an important risk

* Corresponding author. Tel.: +381 116453686.
E-mail address: vv@vinca.rs (V. Veljkovic).

factor for developing CVD (for review see [17]). A recent most comprehensive and systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials investigating the association between influenza vaccination and cardiovascular outcomes in high risk patients between 1946 and 2013, revealed that between 3238 CVD patients who received a flu vaccine and 3231 patients in the control or placebo group the difference in absolute risk is 1.74%, which means 58 people would have to be vaccinated to prevent one major CV event [18]. However, a separate analysis in this study of patients with the acute coronary syndrome (ACS) showed that the difference in absolute risk is 12.9%, meaning that vaccinating just eight people would prevent one cardiovascular event [18]. According to a variety of studies, the incidence of infection during the influenza season is 4–5 flu cases per 100 adults. On the other hand, the flu vaccine effectiveness is about 50% [19]. Thus, the vaccine prevents about 2 flu cases per 100 persons. This raises the question how it is possible to prevent 1 case of serious cardiovascular complication for every 8 vaccinated persons, if the vaccine only protects 2 of 100 persons from infection. These data, together with the finding that influenza vaccine protects against CVD beyond the influenza season [7,11,14], suggest that prevention of infection is not the only mechanism underlying this phenomenon. The small amount of antigen in a vaccine shot and the prolonged protective effect against CVD implies that the key role in this phenomenon is mediated indirectly by antibodies elicited by the influenza vaccine. This in turn raises the question, why antibodies induced by natural infection are not also protective against CVD, but rather during the influenza season the frequency of CVD diseases is increasing. A possible explanation may be that the protective role of antibodies elicited by influenza virus infection is masked by CVD caused by different pathogenic viral components (e.g. NS1, PB1, PB2 proteins [20–23]).

Here we hypothesized that some antibodies elicited by influenza vaccines act as agonists, which activate a BKB2R-associated signaling pathway contributing to the protection against CVD. We also propose four vaccine virus strains that could be suited for future investigations to further elucidate the role of influenza vaccines as primary and secondary prevention against CVD.

2. Material and methods

2.1. Databases

Hemagglutinins from influenza A viruses were retrieved from the GenBank and GISAD data bases.

Human proteins (66,623 sequences) were retrieved from the UniProt database.

2.2. Informational spectrum method

The informational spectrum method (ISM), a virtual spectroscopy method was developed for a fast and simple structure analysis of proteins and their functionally important domains. Physical and mathematical basis of the ISM is described in detail elsewhere (for review see Refs. [24,25]) and here the method is only presented briefly.

A sequence of N amino acid residues is represented as a linear array of N terms, with each term given a weight. The weight assigned to a residue is the electron–ion interaction potential (EIIP) (Table 1) [26,27], determining the electronic properties of amino acids, which are responsible for their intermolecular interactions [28]. In this way the alphabetic code (Fig. 1a) is transformed into a sequence of numbers (Fig. 1b). The signal obtained is then decomposed in periodical function by Fourier transformation. Thus, the initial information defined by the sequence of amino acids can now be presented in the form of an informational spectrum (IS),

Table 1

The electron–ion interaction potential (EIIP) used to encode amino acids.

Amino acid	EIIP [Ry]
Leu	0.0000
Ile	0.0000
Asn	0.0036
Gly	0.0050
Glu	0.0057
Val	0.0058
Pro	0.0198
His	0.0242
Lys	0.0371
Ala	0.0373
Tyr	0.0516
Trp	0.0548
Gln	0.0761
Met	0.0823
Ser	0.0829
Cys	0.0829
Thr	0.0941
Phe	0.0946
Arg	0.0959
Asp	0.1263

representing the series of frequencies and corresponding amplitudes (Fig. 1c). The IS frequencies correspond to the distribution of structural motifs with defined physico-chemical characteristics determining long-range interaction properties of the protein.

The primary structures of interacting proteins or proteins interacting with a common interactor encode the common information, which is represented by the same code/frequency pair(s) in their informational spectra (IS). This common informational characteristic of sequences is determined by cross-spectrum or consensus informational spectrum (CIS). Peak frequencies in CIS represent common information and are characterized by the amplitude and the signal-to-noise ratio (S/N , ratio of the amplitude value on particular frequency and the sum of amplitudes on all frequencies in IS). The amplitude values in CIS determine the efficacy of protein–protein interaction and parameter S/N determines the specificity of a particular protein–protein interaction.

3. Results

All influenza vaccines which exerted protective effects against CVD were trivalent vaccines that encompassed two viruses of type A (H1N1 and H3N2) and one virus of type B. Because the protective effect of the influenza vaccines against CVD is prolonged during the second year after vaccination [7] and because antibodies against type A viruses are known to persist beyond the influenza season [7,11,14], in contrast to antibodies against type B viruses, which significantly wane over the second year [29], we directed our analysis toward the type A influenza viruses. This decision was supported by literature data showing that only type A viruses influence the human cardiovascular system [30–33].

Influenza A viruses contain two major virus-coded surface antigens, the hemagglutinin (HA), encompassing two subunits HA1 and HA2, and neuraminidase (NA), which are the antigens primarily involved in the induction of specific humoral immunity against influenza viruses. Vaccination with conventional, inactivated influenza virus vaccines, containing both HA and NA, stimulates immunity against both antigens, although the immunologic response to NA is severely suppressed in primed subjects through HA–NA antigenic competition [34,35]. For this reason, we concentrated on HA for further analysis.

The protective effect against CVD was observed with vaccines which contained diverse influenza viruses [5–12,16]. This suggests that all these vaccine viruses have some common property which is connected with this phenomenon. Previously, the ISM analysis

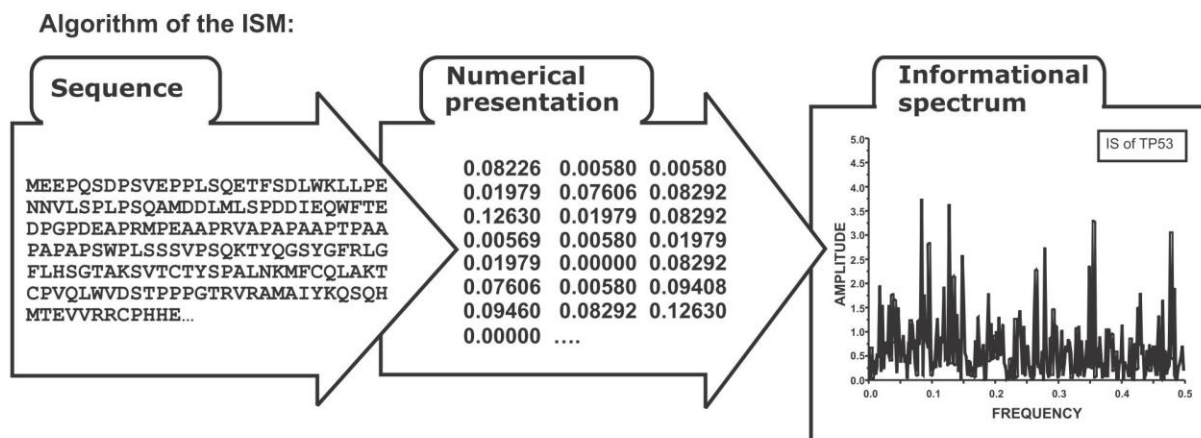


Fig. 1. Schematic presentation of the informational spectrum method.

of hemagglutinin from influenza A viruses showed that this viral protein, despite high variability, encodes a highly conserved information which is specific for each viral subtype [36,37]. This information determines the virus/receptor interaction [36,37] and the immunological cross-reactivity between different viral subtypes [38]. To identify the common information encoded by the primary structures of hemagglutinin subunit 1 (HA1) proteins, representing the principal antigenic determinant, which possibly is important for the protective effect against CVD, cross-spectral analysis of these viral proteins was performed. In this analysis we included all complete HA1 sequences from influenza A viruses of all subtypes which are available in the GenBank and GISAID databases. Fig. 2a shows that the consensus IS of these sequences contains only one peak at the frequency $F(0.1488)$. According to the ISM concept, this information represents the long-range component of the protein–protein interaction between HA1 and a putative ligand, such as a receptor or an antibody [36–38].

Because the protective effect of influenza vaccines against CVD concerns antibodies elicited by the vaccine, we performed the ISM analysis of human proteins in order to identify host proteins that could be crossreactive with HA1. According to the previous studies, proteins which share a common frequency component in their IS also are immunologically crossreactive [38–42]. To identify host proteins which share with influenza HA1 the information represented by the frequency component $F(0.1484)$, 66,623 human proteins of the UniProt data base were screened by ISM. The list of all human proteins which have a dominant peak in IS at the frequency $F(0.1484)$ are given in Table 1S. In Table 2 the 10 human proteins with the highest amplitudes and S/N values at the frequency $F(0.1484)$ are shown. According to the IS criterion, these proteins are the best candidates for the immunological crossreactivity with HA1 from influenza viruses. Further, we performed literature data mining in order to identify, which of the proteins presented in Table 2 are involved in processes linked to protection from CVD. This analysis revealed the bradykinin B2 receptor (BKB2R) as the best candidate among the host proteins, which could be immunologically crossreactive with HA1 and thereby mediate the protective effect against CVD.

Enhancement of endothelial (e) nitric oxide synthase (NOS) activity via the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling cascade is the main mechanism of ischemic preconditioning (IP) against myocardial infarction after myocardial reperfusion [43–46]. IP can also reduce myocardial no-reflow by activating eNOS via the protein kinase A (PKA) pathway [47]. BKB2R is physically associated with eNOS and neuronal (n) NOS in a ligand- and Ca^{2+} -dependent manner [48,49]. Binding of ligand results in a

rapid dissociation of the NOS/BRB2R complex and activation of NOS [48]. To find the common information determining eNOS/nNOS-BKB2R interaction we performed the ISM analysis of these proteins. The cross-spectrum of BKB2R, eNOS and nNOS is characterized by only one prominent peak at the frequency $F(0.1484)$ (Fig. 3a). Of note this is the same IS frequency that characterizes HA1 from influenza A viruses (Fig. 2a).

Previously it was demonstrated that the common IS frequency component in ISs of functionally unrelated proteins indicates their immunological cross-reactivity [38,40–42]. From this point of view,

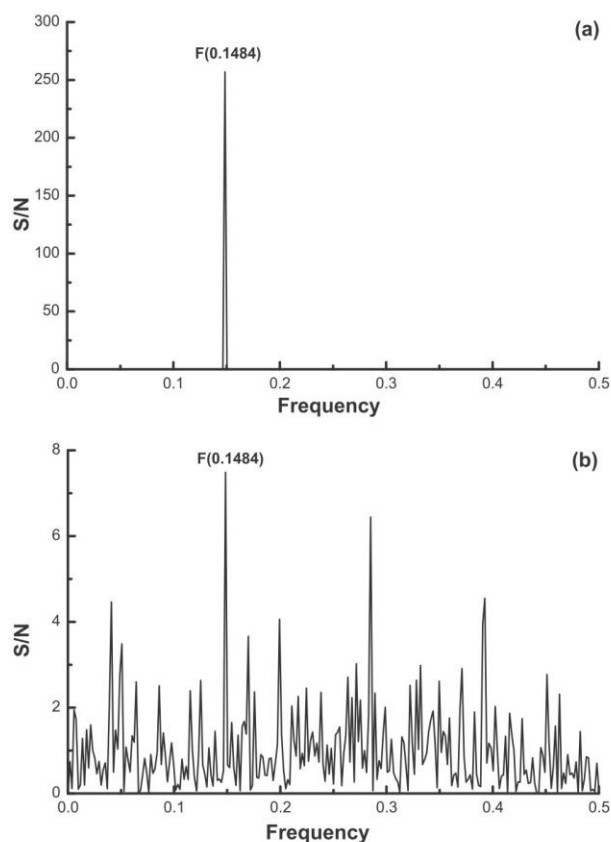


Fig. 2. (a) Consensus informational spectrum of HA1 from influenza A viruses (b). Informational spectrum of bradykinin B2 receptor (BKB2R).

Table 2Human proteins from the UniProt database with the highest amplitude and *S/N* values on the IS frequency *F*(0.1484).

Access. no.	Protein	Amplitude	<i>S/N</i>
BKRB2.HUMAN	B2 bradykinin receptor	4.832277	7.517970
DNAI1.HUMAN	Dynein intermediate chain 1, axonemal	8.601403	7.536829
A20A4.HUMAN	Ankyrin repeat domain-containing protein	33.651374	9.840942
LRC71.HUMAN	Leucine-rich repeat-containing protein 71	6.575383	7.618426
TARSH.HUMAN	Target of Nesh-SH3	15.297255	9.107378
TXD15.HUMAN	Thioredoxin domain-containing protein 15	4.752276	7.884130
HNF1A.HUMAN	Hepatocyte nuclear factor 1-alpha	8.554916	9.346874
NCF4.HUMAN	Neutrophil cytosol factor 4	5.770298	9.500633
VASH1.HUMAN	Vasohibin-1	4.715207	7.879277
PIGS.HUMAN	GPI transamidase component PIG-S	6.840126	7.962462

it can be expected that antibodies elicited by seasonal influenza vaccines are cross-reactive with BKB2R. Fig. 3b and c shows the cross-spectra of BKB2R and HA1 from vaccine viruses used in seasonal vaccines from the two largest studies (FLUVACS and FLUCAD) investigating the effects of these vaccines on CVD [7,8,10]. As can be seen, both of these cross-spectra are characterized by a dominant peak at the frequency *F*(0.1484). This may suggest that a subset of antibodies elicited by these influenza vaccines could bind an extracellular portion of the BKB2R acting as agonists or antagonists of this receptor.

The computer scanning survey of the primary structure of BKB2R showed that the main contribution to the information represented by the frequency *F*(0.1484) comes from the domain located in the N-terminus of the third extracellular domain (ED3) (second extracellular loop) of the protein which encompasses residues 186–203 (Fig. 4a). Deletion scanning of BKB2R revealed that the removal of three residues at position 199–201 is the minimal deletion which completely abolishes the frequency component *F*(0.1484) in IS of BKB2R (Fig. 4b). All together, these results suggest that the N-terminal portion of ED3 (ED3_N) of BKB2R is essential for the information represented by the IS frequency *F*(0.1484) and that this region probably encompasses the epitope which binds anti-HA1 antibodies elicited by the influenza vaccine.

In Table 3 are given the values of amplitudes and *S/N* on the frequency *F*(0.1484) in the cross-spectra between BKB2R and HA1 from viruses that were used as components of different seasonal influenza vaccines, as well as two H5N1 viruses from Sanofi-Aventis vaccines against bird flu. In Table 3 are also included two influenza B viruses which were used in seasonal influenza vaccines as negative control. As can be seen from the presented results, values of these two IS parameters, determining the potential immunological cross-reactivity between BKB2R and HA1, vary for different

Table 3The amplitude and *S/N* values at the frequency *F*(0.1484) in cross-spectra of BKB2R and HA1 from vaccine viruses.

Vaccine virus	Amplitude	<i>S/N</i>
A/Beijing/262/95(H1N1)	9.04	27.7
A/Brisbane/59/2007(H1N1)	6.90	22.0
A/California/07/2009(H1N1)	5.09	18.1
A/New Caledonia/20/1999(H1N1)	7.76	23.3
A/Solomon Islands/3/2006 (H1N1)	7.23	21.9
A/Brisbane/10/2007(H3N2)	6.78	16.8
A/California/7/2004(H3N2)	4.31	11.0
A/Christchurch/28/2003(H3N2)	8.29	20.5
A/Fujian/411/2002(H3N2)	7.41	18.1
A/Moscow/10/1999(H3N2)	6.71	16.6
A/Perth/16/2009(H3N2)	7.56	18.6
A/Sydney/5/97(H3N2)	6.38	16.0
A/Victoria/361/2011(H3N2)	6.01	15.1
A/Wisconsin/67/2005(H3N2)	6.30	15.7
A/Viet Nam/1203/2004(H5N1)	7.19	19.3
A/Viet Nam/1194/2004(H5N1)	7.14	19.0
B/Jiangsu/10/2003	1.59	4.80
B/Sichuan/379/1999	1.09	1.09

vaccine viruses, suggesting a different cardio protection efficacy for different influenza vaccines. Because of their best IS parameters (see Table 3), four vaccine viruses A/Beijing/262/95(H1N1), A/NewCaledonia/20/1999(H1N1), A/Christchurch/28/2003(H3N2) and A/Perth/16/2009(H3N2) could be suited best for further studies on the cardioprotective effect of influenza vaccines.

4. Discussion

There is ample evidence that the seasonal influenza vaccine protects not only against viruses but also against CVD [5–12,14]. Although the molecular mechanism underlying the cardioprotective effect of influenza vaccine is still unknown, it is rational to expect that it is a consequence of the induced immune response which affects some host protein(s) playing a role in the cardiovascular homeostasis. Identification of this host protein(s) represents a prerequisite for further research on this phenomenon, which could lead to the development of a vaccine for primary protection against CVD.

To identify the informational property which determines the possible immunological crossreactivity between vaccine influenza viruses and host proteins, we performed the ISM analysis of the HA1 from all influenza A viruses presented in the GenBank and GISAID databases. This analysis revealed that this protein, although highly variable, encodes an information which is conserved among all subtypes of influenza A viruses. This information is represented by the frequency component *F*(0.1484) in IS of HA1 (Fig. 2a). The UniProt database was screened aiming at the identification of those human proteins, which are most compatible with HA1 from influenza A viruses in terms of the information represented by the frequency *F*(0.1484). By this computer assisted screening 76 human proteins with a dominant peak in IS at the frequency *F*(0.1484) were identified (Supplementary Table 1S). 10 of these proteins with the highest amplitude value and *S/N* ratio at the frequency *F*(0.1484) have been selected (Table 2).

The literature data mining revealed that among the proteins presented in Table 2 only BKB2R plays a significant role in maintaining cardiovascular homeostasis. BKB2R is an important member of the G protein-coupled receptor family, which plays a important role in maintaining cardiovascular homeostasis (for review see Ref. [50]). BKB2R has been shown to be antiarrhythmic and antithrombotic. It reduces the infarct size and it preconditions the heart against ischemic events. It was shown that kallikrein-kinin acts through BKB2R as an antioxidant and antiinflammatory agent in protection against stroke and CVD [51]. Nitric oxide, through a bradykinin-receptor-dependent mechanism, regulates cardiac oxygen consumption improving the myocardial demand of oxygen in heart failure by attenuating the endothelial dysfunction. The key role in this process is mediated by BKB2R, which functionally interacts with eNOS recruiting it to allow for the effective coupling of bradykinin signaling to the nitric oxide pathway [49]. Results of ISM analysis show that eNOS/BKB2R interaction is

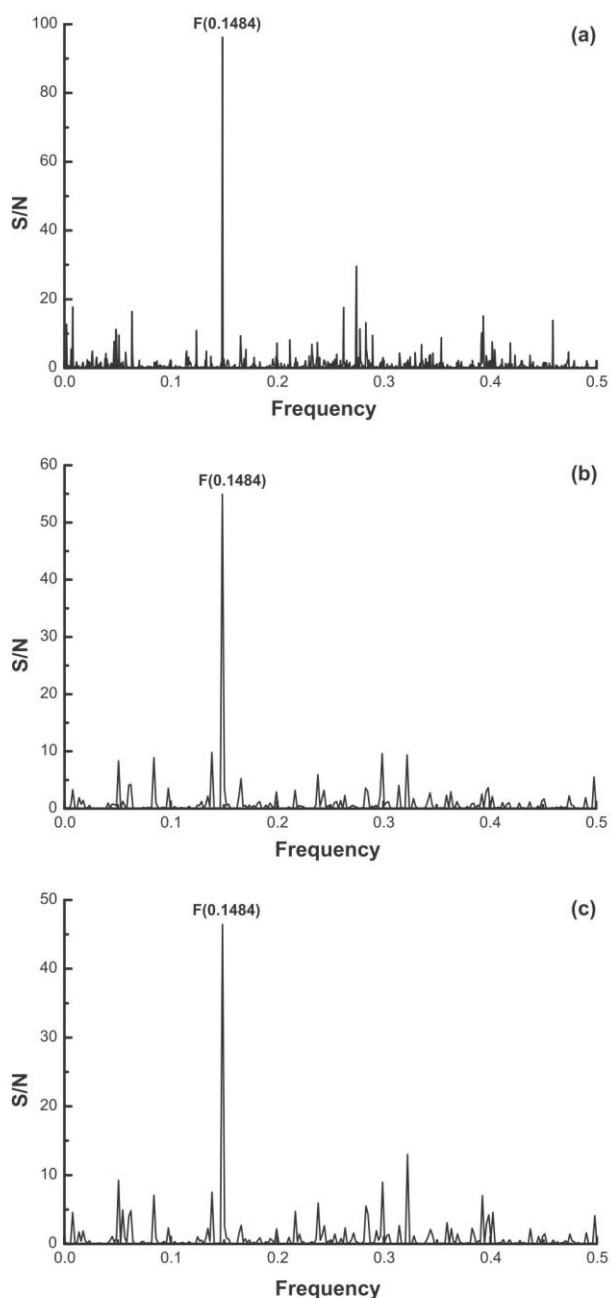


Fig. 3. (a) Cross-spectrum of BKB2R, eNOS and nNOS. (b) Cross-spectrum of BKB2R and HA1 from seasonal influenza vaccine investigated in FLUVACS study (A/Moscow/10/1999(H3N2) and A/New Caledonia/379/1999(H1N1)). (c) Cross-spectrum of BKB2R and HA1 from seasonal influenza vaccine investigated in FLUCAD study (A/Christchurch/28/2003(H3N2) and A/New Caledonia/20/1999(H1N1)).

mediated by the information represented by the IS frequency $F(0.1484)$ (Fig. 3a).

Based on the above presented data and previously reported results [38–42] we hypothesized (i) that a subset of antibodies elicited by HA1 of influenza A viruses are cross-reactive with BKB2R and (ii) that upon the binding of these antibodies the BKB2R/eNOS complex dissociates allowing activation of eNOS for production of nitric oxide. The pathway for this hypothesis is given in Fig. 5. To test this hypothesis we performed “in silico” mapping of possible binding sites of HA1-induced antibodies on BKB2R (Fig. 4a and

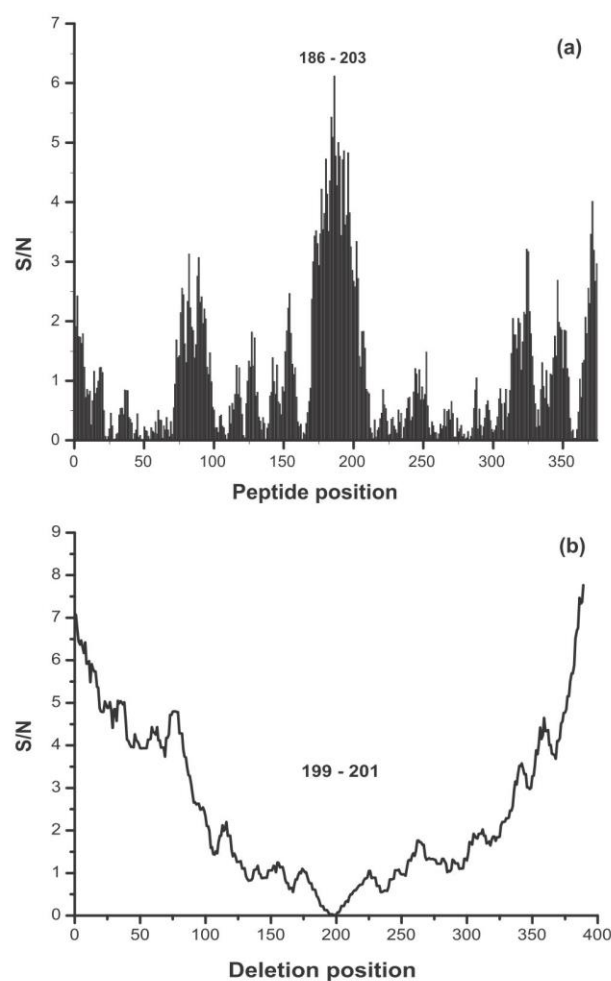


Fig. 4. (a) Mapping of the putative binding site of anti-HA1 antibodies on BKB2R by peptide scanning. (b) Mapping of the putative binding site of anti-HA1 antibodies on BKB2R by deletions.

b). The ISM analysis revealed that these antibodies probably bind the region 186–203 located within the top of the transmembrane domain 4 (TM4) and the amino-terminal portion of extracellular domain 3 (extracellular loop 2), ED3_N of BKB2R. Alla and coworkers showed that ED3_N is involved in agonist binding and sensing, because (i) antibodies to this segment competed with bradykinin for binding to the B2 receptor, (ii) bradykinin almost completely abolished the binding of radiolabeled anti-ED3_N to B2 receptors, and (iii) anti-ED3_N antibodies were agonists [52]. Moreover, the peptide 199–211 completely blocks the binding of anti-ED3_N antibody. These results strongly suggest that antibodies induced by influenza vaccines if bound to the ED3_N domain act as agonists of BKB2R. This notion is supported by experimental results demonstrating that an agonistic monoclonal antibody which activates BKB2R also effectively neutralizes different strains of influenza A viruses [53]. Finally, the cardiovascular protective effect of BKB2R is based on activation of the nitric-oxide signaling pathway, suggesting that antibodies elicited by influenza vaccine should have an agonizing effect on this receptor.

Support for our hypothesis is the finding that influenza vaccines increase the level of nitric oxide (NO) [54–56]. This suggests that the antibody response could be responsible for the increased production of NO. Unfortunately, these and other authors (see Ref. [55] and

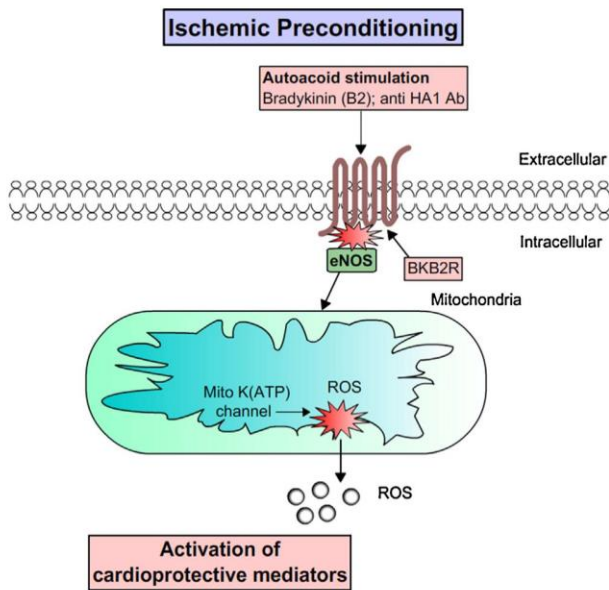


Fig. 5. The pathway of the hypothesis of the cardioprotective effect of influenza vaccine.

references therein) monitored NO level during seven and there is no data after this period. For this reason, effect of influenza vaccine on production of NO remain to be elucidated and require further study.

Literature data are also suggesting a possible positive effect of the influenza vaccine against the obstructive sleep apnea (OSA), representing an independent risk factor for development of essential hypertension, coronary artery disease, myocardial infarction and stroke [57]. OSA is a neuroendocrine disease characterized by intermittent repetitive disruption of airflow during sleep, hypoxia and increased daily sleepiness [58]. An increasing body of data documents that one of the participating mechanisms in genesis of hypertension in subjects with OSA is an impaired bradykinin–kalikrein vasodilatory system. Thongboonkerd and coworkers have reported that in animal models of OSA the increased level of renal B₂ receptors and kalikrein expression has a protective effect for developing hypertension [59]. Further in OSA patients reported blunted venodilatory response to bradykinin, but not to nitroglycerin, suggesting the dysfunction of the endothelial compartment of eNOS pathway [60]. This bradykinin-mediated hypofunction was reversed by CPAP therapy. In the light of the discussed data it is reasonable to hypothesize that an H1N1 vaccine with its potentiating effect on bradykinin–kalikrein system would have a beneficial, protective effect with respect to cerebrocardiovascular complications of patients with OSA.

In conclusion, the results presented here suggest BKB2R as principal human protein, which could mediate molecular processes underlying the cardioprotective effect of influenza vaccines. If further experimental investigations would support the proposed activation of BKB2R with antibodies induced by influenza vaccine as proposed here, it could serve as a basis for further research toward the development of a vaccine against CVD. It will also be important to answer the question whether actual infection with an influenza virus will be just as protective or even more protective than a simple vaccination. To date there are no reported studies analyzing differences in CVD events beyond the influenza season between patients recovered after influenza infection and those that were not infected, although such a study would be helpful for better understanding of the protective role of immune response to influenza virus against CVD.

Acknowledgements

This work was supported by the by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Grant no. 173001).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.07.007>.

References

- [1] (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>).
- [2] Collins SD. Excess mortality from causes other than influenza and pneumonia during influenza epidemic. *Public Health Rep* 1932;47:2159–79.
- [3] Pesonen E, Siitonen O. Acute myocardial infarction precipitated by infectious diseases. *Am Heart J* 1981;101:512–3.
- [4] Tiller HE, Smith JWG, Gooch CD. Excess deaths attributable to influenza in England and Wales: age at deaths and certified cause. *Int J Epidemiol* 1983;12:344–52.
- [5] Gurfinkel EP, Leon de la Fuente RL, Mendiz O, Mauter B. Influenza vaccination pilot study in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions. *Circulation* 2002;105:2143–7.
- [6] Nichol KL, Nordin J, Mullooly J, Lask R, Fillbrandt K, Iwane M. Influenza vaccination and reduction of hospitalization for cardiac diseases and stroke among the elderly. *N Engl J Med* 2003;348:1322–32.
- [7] Gurfinkel EP, Leon de la Fuente RL. Two-year follow-up of the FLU vaccination acute coronary syndromes (FLUVACS) registry. *Tex Heart Inst J* 2004;31:28–32.
- [8] Gurfinkel EP, Leon de la Fuente RL, Mendiz O, Mautner B. Flu vaccination in acute coronary syndromes and planned percutaneous interventions (FLUVACS) study. *Eur Heart J* 2004;25:25–31.
- [9] Davis MM, Taubert K, Benin AL, Brown DW, Menasah M, Baddour GA, Dunbar LMSS, Krumholz HM. Influenza vaccination as secondary prevention for cardiovascular diseases. *Circulation* 2006;114:1549–53.
- [10] Ciszewski A, Bilinska ZT, Brydak LB, Kepka C, Kruk M, Romanowska M, Ksiezzycka E, Przulski J, Piotrowski W, Maczynska R, Ruzyllo W. Influenza vaccination in secondary prevention from coronary ischaemic events in coronary artery diseases: FLUCAD study. *Eur Heart J* 2008;29:1350–8.
- [11] Phrommintikul A, Kuanprasert S, Wongcharoen W, Kanjanavanit R, Chaiwarith R, Sukonthasarn A. Influenza vaccination reduces cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome. *Eur Heart J* 2011, <http://dx.doi.org/10.1093/eurheart/ehr004>.
- [12] Loomba RS, Aggarwal S, Shah PH, Arora RR. Influenza vaccination and cardiovascular morbidity and mortality: analysis of 292383 patients. *J Cardiovasc Pharm Ther* 2012;17:277–83.
- [13] Udell JA, Farkouh ME, Bhatt DL, Cannon CP. Influenza vaccination and reduction of cardiovascular events—a systematic review and meta-analysis. *Can J Cardiol* 2012;28:S161–2.
- [14] Johnstone J, Loeb M, Teo KK, Gao P, Dyal L, Liu L, Avezum A, Cardona-Munoz E, Sleight P, Fagard R, Yusuf S. Influenza vaccination and major adverse vascular events in high-risk patients. *Circulation* 2012;126:278–86.
- [15] Phrommintikul A, Wongcharoen W. Examining the potential of the influenza vaccine for secondary prevention: a myocardial infarction vaccine? *Future Cardiol* 2012;8:345–8.
- [16] Bermudez-Fajardo A, Oviedo-Orta E. Influenza vaccination promotes stable atherosclerotic plaques in apoE knockout mice. *Atherosclerosis* 2011;217:97–105.
- [17] Goeijenbier M, van Wissen M, van de Weg C, Jong E, Gerdes VE, Meijers JC, et al. Viral infections and mechanisms of thrombosis and bleeding. *J Med Virol* 2012;84:1680–96.
- [18] Udell JA, Zawi R, Bhatt DL, Keshtkar-Jahromi M, Gaughran F, Phrommintikul A, et al. Association between influenza vaccination and cardiovascular outcomes in high-risk patients: a meta-analysis. *JAMA* 2013;310:1711–20.
- [19] Osterhaus A, Fouchier R, Rimmelzwaan G. Towards universal influenza vaccines? *Philos Trans R Soc London B Biol Sci* 2011;366:2766–73.
- [20] Pothlichet J, Meunier I, Davis BK, Ting JP, Skamene E, von Messling V, Vidal SM. Type I IFN triggers RIG-I/TLR3/NLRP3-dependent inflammasome activation in influenza A virus infected cells. *PLoS Pathog* 2013;9:e1003256.
- [21] Abdelwhab EM, Veits J, Mettenleiter TC. Avian influenza virus NS1: a small protein with diverse and versatile functions. *Virulence* 2013;4:583–8.
- [22] Mok CK, Lee HH, Lestra M, Nicholls JM, Chan MC, Sia SF, Zhu H, Poon LL, Guan Y, Peiris JS. Amino acid substitutions in polymerase basic protein 2 gene contribute to the pathogenicity of the novel A/H7N9 influenza virus in mammalian hosts. *J Virol* 2014;88:3568–76.
- [23] Kim IH, Choi JG, Lee YJ, Kwon HJ, Kim JH. Effects of different polymerases of avian influenza viruses on the growth and pathogenicity of A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1)-derived reassorted viruses. *Vet Microbiol* 2014;168:41–9.

- [24] Veljkovic N, Glisic S, Prljic J, Perovic V, Botta M, Veljkovic V. Discovery of new therapeutic targets by the informational spectrum method. *Curr Protein Pept Sci* 2008;9:493–506.
- [25] Nwanko N, Seker H. Digital signal processing techniques: calculating biological functionalities. *J Proteomics Bioinf* 2011;4:260–8.
- [26] Veljkovic V, Slavic I. Simple general-model pseudopotential. *Phys Rev Lett* 1972;29:105–7.
- [27] Veljkovic V. The dependence of the Fermi energy on the atomic number. *Phys Lett A* 1973;45:41–2.
- [28] Veljkovic V. A theoretical approach to preselection of carcinogens and chemical carcinogenesis. New York, NY: Gordon & Breach; 1980.
- [29] Severson JJ, Richards KR, Moran JJ, Hayney MS. Persistence of influenza vaccine-induced antibody in lung transplant patients and healthy individuals beyond the season. *Hum Vaccines Immunother* 2012;8:1850–3.
- [30] Walsh J, Burch GE, White A, Mogabgab W, Dietlein L. A study of the effects of type A (Asian strain) influenza on the cardiovascular system of man. *Ann Intern Med* 1958;49:502–28.
- [31] Burch GE, Walsh JJ, Mogabgab W. A study of the response of the cardiovascular system to Asian influenza. *Am Rev Respir Dis* 1961;83(2):68–78 (Pt 2).
- [32] Verel D, Warrack AJ, Potter CW, Ward C, Rickards DF. Observations on the A2 England influenza epidemic: a clinicopathological study. *Am Heart J* 1976;92:290–6.
- [33] Bainton D, Jones GR, Hole D. Influenza and ischaemic heart disease—a possible trigger for acute myocardial infarction? *Int J Epidemiol* 1978;7:231–9.
- [34] Johansson BE, Moran TM, Kilbourne ED. Antigen-presenting B cells and helper T cells cooperatively mediate intravirionic antigenic competition between influenza A virus surface glycoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:6869–73.
- [35] Kilbourne ED. Comparative efficacy of neuraminidase specific and conventional influenza virus vaccines in induction of antibody to neuraminidase in humans. *J Infect Dis* 1976;134:384–94.
- [36] Veljkovic V, Veljkovic N, Muller CP, Müller S, Glisic S, Perovic V, Köhler H. Characterization of conserved properties of hemagglutinin of H5N1 and human influenza viruses: possible consequences for therapy and infection control. *BMC Struct Biol* 2009;9:21–30.
- [37] Veljkovic V, Veljkovic V, Niman HL, Glisic S, Veljkovic N, Perovic V, Muller CP. Identification of hemagglutinin structural domain and polymorphisms which may modulate swine H1N1 interactions with human receptor. *BMC Struct Biol* 2009;9:62–72.
- [38] Vergara-Alert J, Argilaguat JM, Busquets N, Ballester M, Martín-Valls GE, Rivas R, López-Soria S, Solanes D, Majó N, Segalés J, Veljkovic V, Rodríguez F, Darji A. Conserved synthetic peptides from the hemagglutinin of influenza viruses induce broad humoral and T-cell responses in a pig model. *PLoS One* 2012;7:e40524.
- [39] Krsmanovic V, Biquard J, Sikorska-Walker M, Cosic I, Desgranges C, Traub M, Whitfield J, Durkin J, Achour A, Hearn M. Investigation into crossreactivity of rabbit antibodies raised against nonhomologous pairs of synthetic peptides derived from HIV-1gp120 proteins. *J Pept Res* 1988;52:410–20.
- [40] Veljkovic V, Metlas R, Vojvodic D, Cavor Lj, Pejinovic N, Dujic A, Zakhariyev S, Guarnaccia C, Pongor S. Natural autoantibodies cross-react with a peptide derived from the second conserved region of HIV-1 envelope glycoprotein gp120. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;196:1019–24.
- [41] Veljkovic N, Branch DR, Metlas R, Prljic J, Vlahovick K, Pongor S, Veljkovic V. Design of peptide mimetics of HIV-1 gp120 for prevention and therapy of HIV disease. *J Pept Res* 2003;62:158–66.
- [42] Veljkovic N, Branch DR, Metlas R, Prljic J, Manfredi R, Stringer WW, Veljkovic V. Antibodies reactive with C-terminus of the second conserved region of HIV-1gp120 as possible prognostic marker and therapeutic agent for HIV disease. *J Clin Virol* 2004;31(Suppl 1):S39–44.
- [43] Muscari C, Bonafe F, Giordano E, Tantini B, Fattori M, Guarnieri C, Caldara CM. Early preconditioning prevents the loss of endothelial nitric oxide synthase and enhances its activity in the ischemic/reperfused rat heart. *Life Sci* 2004;74:1127–37.
- [44] Xuan YT, Guo Y, Zhu Y, Wang OI, Rokosh G, Bolli R. Endothelial nitric oxide synthase plays an obligatory role in the late phase of ischemic preconditioning by activating the protein kinase C epsilon p44/42 mitogen-activated protein kinase pSer-signal transducers and activates transcription 1/3 pathway. *Circulation* 2007;116:5350544.
- [45] Hausenloy DJ, Yelon DM. Survival kinases in ischemic preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006;70:240–53.
- [46] Hausenloy DJ, Yelon DM. Reperfusion injury salvage kinase signaling: taking a risk for cardioprotection. *Heart Fail Rev* 2007;12:217–34.
- [47] Li XD, Cheng YT, Yang Yjm, Meng XM, Zhao JL, Zhang HT, Wu YJ, You SJ, Wu YL. PKA-mediated eNOS phosphorylation in the protection of ischemic preconditioning against no-reflow. *Microvasc Res* 2012;84:44–54.
- [48] Ju H, Venema VJ, Marrero MB, Venema RC. Inhibitory interactions of the bradykinin B2 receptor with endothelial nitric-oxide synthase. *J Biol Chem* 1998;273:24025–9.
- [49] Golser R, Gorren AC, Leber A, Andrew P, Habisch HJ, Werner ER, Schmidt K, Venema RC, Mayer B. Interaction of endothelial and neuronal nitric-oxide synthases with the bradykinin B2 receptor Binding of an inhibitory peptide to the oxygenase domain blocks uncoupled NADPH oxidation. *J Biol Chem* 2000;275:5291–6.
- [50] Sharma JN, Al-Sherif GJ. Pharmacological targets and prototype therapeutics in the kallikrein-kinin systems: bradykinin receptor agonists and antagonists. *Sci World J* 2006;6:1247–61.
- [51] Chao J, Chao L. Kallikrein-kinin in stroke, cardiovascular and renal diseases. *Exp Physiol* 2004:291–8.
- [52] Alla SA, Quitterer U, Grigoriev S, Maidhof A, Haasemann M, Jarnagin K, Muller-Ester W. Extracellular domains of the bradykinin B2 receptor involved in ligand binding and agonist sensing defined by anti-peptide antibodies. *J Biol Chem* 1996;271:1748–55.
- [53] Williams M, Matthew L. Anti-bradykinin B2 receptor BKB2R monoclonal antibody. In: WIPO patent application WO/2012/075342; 2012. Available at (<http://www.freepatentsonline.com/WO2012075342A3.html>).
- [54] Thomas PS, Cliford NG, Elsing M, Yates DH. Influenza vaccination: challenges in exhaled nitric oxide levels and sputum cytology. *Respirology* 1999;4:355–8.
- [55] Mashir A, Paschke KM, van Duin D, Shrestha NK, Laskowski D, Storer MK, Yen-Lieberman B, Gordon SM, Aytekin M, Dweik RA. Effect of influenza A (H1N1) live attenuated intranasal vaccine on nitric oxide (FENO) and other volatiles in exhaled breath. *J Breath Res* 2011. <http://dx.doi.org/10.1088/1752-7155/5/3/037107>.
- [56] Murphy AV, Platts-Mills TAE, Lobo M, Hayden F. Respiratory nitric oxide levels in experimental human influenza. *Chest* 1998;114:452–6.
- [57] Vrints H, Shivalkar B, Hilde H, Vanderveken OM, Hamans E, Van de Heyning P, De Backer W, Verbraecken J. Cardiovascular mechanisms and consequences of obstructive sleep apnoea. *Acta Clin Belg* 2013;68:169–78.
- [58] Tobaldini E, Nobili L, Strada S, Casali KR, Braghiroli A, Montano N. Heart rate variability in normal and pathological sleep. *Front Physiol* 2013;4:294.
- [59] Thongboonkerd V, Gozal E, Sachleben Jr LR, Arthur JM, Pierce WM, Cai J, Chao J, Bader M, Pesquero JB, Gozal D, Klein JB. Proteomic analysis reveals alterations in the renal kallikrein pathway during hypoxia-induced hypertension. *J Biol Chem* 2002;277(38):34708–16.
- [60] Duchna HW, Guilleminault C, Stoohs RA, Faul JL, Moreno H, Hoffman BB, Blaschke TF. Vascular reactivity in obstructive sleep apnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(1):187–91.



Influenza vaccination promotes stable atherosclerotic plaques in apoE knockout mice

Alexandra Bermúdez-Fajardo, Ernesto Oviedo-Orta*

Faculty of Health and Medical Sciences, University of Surrey, Guildford, Surrey, GU2 7XH, United Kingdom

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 October 2010
Received in revised form 2 March 2011
Accepted 11 March 2011
Available online 29 March 2011

Keywords:

Atherosclerosis
Influenza
Virus
Immunization

ABSTRACT

Objective: Current evidence suggests a relationship between seasonal Influenza viral infection and cardiovascular disease (CVD). Experimental animals inoculated with Influenza A virus have shown to develop thrombotic complications similar to those seen in humans. Conversely, several epidemiological studies and clinical trials have suggested that Influenza vaccination may have a protective effect on CVD. However, the potential mechanisms behind this protective effect remain unstudied. We aimed to study the effect of Influenza vaccination on atherosclerotic plaque development in apoE^{-/-} mice.

Methods and results: The effect of immunization with increasing doses of Influenza vaccine (0.38, 1.8, 9 and 45 µg/0.5 mL Vaxigrip®, Sanofi-Aventis) on atherogenesis was compared with that of animals immunized with Pneumo23® (*pneumococcus* vaccine, Sanofi-Aventis) and control group inoculated with phosphate buffered saline (PBS). Animals vaccinated with 45 µg/0.5 mL Vaxigrip®, (the same dose used to immunize humans adults against Influenza) developed smaller atherosclerotic lesions with lower lipid content but richer in smooth muscle cells and collagen when compared with control animals. Concomitantly, they showed lower levels of interferon gamma (IFNγ), interleukin (IL)-2 and tumor necrosis factor alpha (TNFα) but higher levels of IL-4. Furthermore, we found increased levels of anti-Influenza immunoglobulin (Ig) G1 or anti-Pneumo23® IgM specific antibodies in a time and dose dependent fashion in animals immunized with these vaccines.

Conclusions: These results indicate that vaccination against Influenza may protect against the development of CVD by promoting smaller and stable atherosclerotic plaques and by inducing atheroprotective immune responses.

© 2011 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of death worldwide. Atherosclerosis is the main underlying cause of this pathological condition and is characterized by the accumulation of lipids and inflammatory cells such as macrophages and lymphocytes within the vessel wall of large and middle size arteries [1]. Several factors predispose to atherosclerosis development including endothelial cell damage caused by mechanical factors [2], modified-self molecules also known as auto-antigens [3] and infectious agents, amongst them *Helicobacter pylori*, *Chlamydomphila pneumoniae*, Cytomegalovirus, Herpes simplex virus, and Influenza virus [4,5].

A potential relationship between Influenza and myocardial infarction (MI) was first suggested after epidemics of Influenza

affected Europe and the USA in the early 1900s [6–9]. Current evidences also suggest a relationship between seasonal Influenza viral infection and CVD complications. Several epidemiological and clinical studies have shown that Influenza epidemics are associated with an increased incidence of death rates from CVD [10–12]. Recently, a systematic review of the literature on this topic concluded that there were consistent associations between Influenza (including Influenza-like illness and acute respiratory infection) and acute MI but a weaker evidence of an association with cardiovascular death [13].

In relation to the association between Influenza and atherosclerosis, a clinical single-blind randomized study showed that Influenza A-specific anti-immunoglobulin(Ig)G titres were significantly higher in groups of patients with documented atherosclerosis compared to controls [14]. Influenza A viral genome was detected within the vessel wall of histological samples with atherosclerotic lesions obtained from patients undergoing coronary bypass operations. Moreover, the same study showed a positive correlation between titres of antibodies to Influenza A virus and antibodies to oxidized LDL in patients with atherosclerosis [14].

* Corresponding author at: Faculty of Health and Medical Sciences, AX Building, University of Surrey, Guildford, Surrey, GU2 7XH, United Kingdom. Tel.: +44 1483 686424; fax: +44 1483 686401.

E-mail address: e.oviedo-orta@surrey.ac.uk (E. Oviedo-Orta).

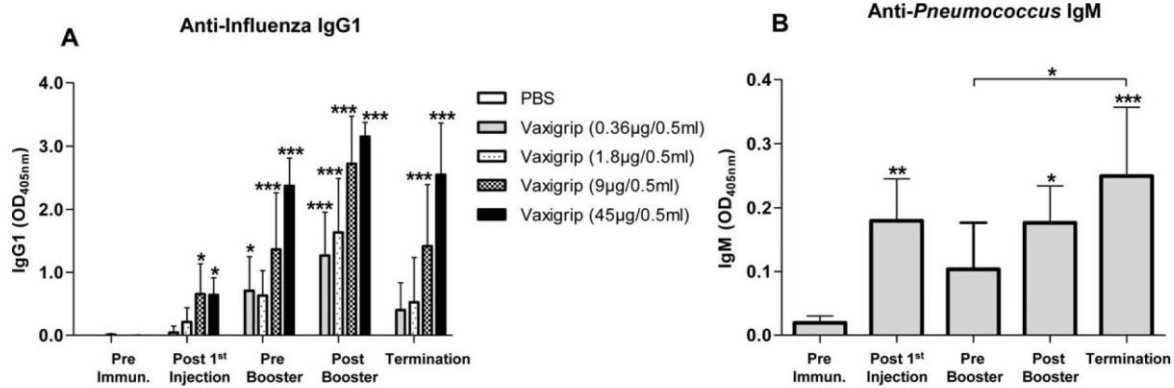


Fig. 1. Immunization with Influenza (Vaxigrip®) and *pneumococcus* (Pneumo23®) vaccines induced a systemic humoral response in apoE^{-/-} mice. (A) Shows anti-influenza-specific IgG1 titres in plasma of animals vaccinated with increasing doses of Vaxigrip®. (B) Anti-*pneumococcus*-specific IgM titres in plasma of animals vaccinated with Pneumo23®. Values represent mean \pm SD, statistical significance as follow: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ or *** $p < 0.001$.

On the other hand, mice inoculated with lethal doses of Influenza A virus showed a significant increased infiltration of inflammatory and smooth muscles cells, higher platelet aggregation and occasional occlusive fibrin thrombus formation in atherosclerotic plaques [15]. Recently, studies using apolipoprotein E deficient (apoE^{-/-}) mice have shown that Influenza A virus can infect and reside within atherosclerotic arteries and that the infection is associated with systemic and arterial inflammatory changes [16].

Additionally, several observational studies in which the incidence of acute MI, or cardiovascular events, in individuals vaccinated against Influenza with those who had not receive vaccination have shown a protective effect of vaccination against CVD [17–21]. However, controversy still exists as two randomized clinical trials assessing the protection provided by Influenza vaccine against cardiac events in people with CVD found that Influenza vaccination provides significant protection against cardiovascular death while the other trial was inconclusive [11]. Despite the recent publication of numerous studies reporting beneficial effects of the use of vaccination against Influenza to reduce the incidence of acute cardiovascular complications in cardiovascular disease patients no studies have been carried out to elucidate the mechanisms behind these protective effects.

Our results show that Influenza vaccination promotes stable atherosclerotic plaques and generates atheroprotective immune responses in apoE^{-/-} mice. Immunization of mice with the highest dose of Vaxigrip® (45 µg/0.5 mL, the same dose recommended by the manufacturer to vaccinate humans adults against Influenza) developed smaller atherosclerotic lesions with lower lipid content but richer in smooth muscle cells and collagen. The vaccine was also capable of lowering plasma levels of interferon gamma (IFN γ), interleukin (IL)-2 and tumor necrosis factor alpha (TNF α) while favoring the synthesis of IL-4. To the best of our knowledge this is the first study that shed light on the potential effects of Influenza vaccination on atherogenesis opening up new avenues for further investigations in this topic.

2. Methods

Expanded materials and methods are provided in the Online Supplementary Material.

2.1. Immunization protocol

Mice were vaccinated subcutaneously (s.c.) with PBS, Vaxigrip® or Pneumo23® (see immunization schedule in Online Fig. 1). At

termination the brachiocephalic arteries were collected for histological analysis.

2.2. Measurement of lipid profile

The lipid profile was determined using commercial kits and values measured using an ILab-650 clinical chemistry auto analyzer (Instrumentation Laboratory UK Ltd).

2.3. Assessment of antibody response

Levels of anti-Influenza or anti-*pneumococcus* specific IgG1, IgG2a, IgG2b, IgA and IgM antibodies were measured using plasma obtained from each mouse pre-immunization, post first injection, pre and post booster and at termination by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

2.4. Measurement of cytokines in plasma samples

Cytokines were quantified using a murine Cytometric Beads Array (CBA) kit panel to detect Th1/Th2/Th17 panel (BD Biosciences, Oxford, UK).

3. Results

3.1. Influenza and *Pneumococcus* vaccines induce antigen-specific humoral immune responses

First we characterized the type of humoral response generated by the immunization. As expected, ApoE^{-/-} mice developed significantly higher dose and time-dependent levels of anti-Vaxigrip® specific IgG1 antibodies compared to the PBS control group (Fig. 1A). No anti-Vaxigrip® specific IgG2a, IgG2b or IgA were detected in any group. Conversely, vaccination with control Pneumo23® vaccine generated a typical IgM response that induced significantly higher antibody levels compared to pre-immunization samples (Fig. 1B). No anti-Pneumo23® specific IgG antibody subclasses were detected in any group.

3.2. Immunization with Vaxigrip® does not affect body weight or plasma lipid profile

We evaluated in parallel the effect of immunization on body weight and plasma lipid profile. We observed a significant time-dependent increase in body weight of animals in all groups when compared to pre-immunization samples ($p < 0.01$, $p < 0.001$) which

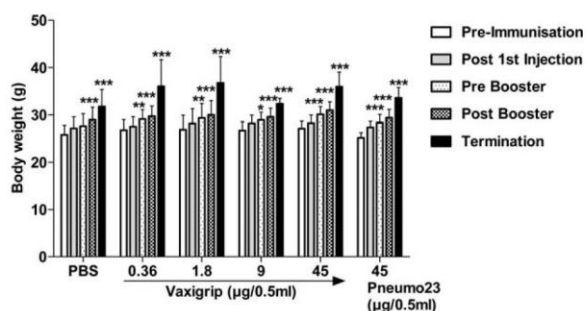


Fig. 2. Influenza vaccination does not affect body weight in apoE^{-/-} mice. ApoE^{-/-} mice were vaccinated with increasing doses of Vaxigrip[®] or a high dose of Pneumo23[®] at weeks 8 and 11 while under normal Chow diet, at week 14 they were fed with a high fat diet for another 12 weeks and then euthanized. Body weights were measured at every time point of the experiment. Values represent mean \pm SD, levels of significance as follow: * $p < 0.01$, ** $p < 0.001$, comparing each group time point to pre-immunization.

was independent of the type and dose used (Fig. 2). There were no significant changes in body weight between the treatment groups throughout the study. The highest increase in body weight in each group was observed at termination ($p < 0.001$), an effect linked to the high fat diet regime used for the last 12 weeks after the last booster (Fig. 2).

Plasma levels of triglycerides, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and total cholesterol remained the same in all the groups post-booster (Fig. 3) compared to pre-immunization levels. However, a significant increase in all lipids was observed in all groups at termination compared to pre-immunization and post-booster ($p < 0.001$). This significant increase was independent of the type and dose of vaccine (Fig. 3A–D). The only exceptions were the significantly lower levels of total cholesterol in animals vaccinated with 9 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$ of Vaxigrip[®] post-booster ($10.45 \pm 2.30\text{ nmol/L}$ vs.

15.45 ± 3.91 , $p < 0.05$) and the group vaccinated with 1.8 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$ Vaxigrip[®] compared to PBS control animals at termination ($19.95 \pm 3.97\text{ nmol/L}$ vs. $25.83 \pm 7.00\text{ nmol/L}$, $p < 0.01$). Also, LDL-cholesterol levels were significantly lower in animals vaccinated with 9 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$ Vaxigrip[®] compared to control PBS group post booster ($1.92 \pm 0.78\text{ nmol/L}$ vs. $4.12 \pm 1.93\text{ nmol/L}$, $p < 0.05$).

3.3. Immunization with 45 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$ Vaxigrip[®] generates smaller and more stable atherosclerotic lesions

We went on to characterize the effect of vaccination on the development of atherosclerotic plaques. Animals immunized with 45 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$ of Vaxigrip[®] showed a reduction in atherosclerotic plaque size of 36% compared to PBS control animals ($68.5 \pm 15.6 \times 10^3\ \mu\text{m}^2$ vs. $107.0 \pm 32.2 \times 10^3\ \mu\text{m}^2$, respectively) and were also 43% smaller compared to the Pneumo23[®] group ($118.5 \pm 31.9 \times 10^3\ \mu\text{m}^2$) however these were not statistically significant (Fig. 4B, Online Table I). No effect on plaque size was noted in animals treated with lower doses of Vaxigrip[®] (0.38–9 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$), neither in animals that received Pneumo23[®] compared to the PBS control group, suggesting a specific effect of the highest dose of Vaxigrip[®] on plaque growth. Moreover, there were no statistically significant differences in lumen size, media area or total vessel area in any of the treatment groups compared with PBS controls (Fig. 4, Online Table I).

We then assessed the lipid content of atherosclerotic plaques in all groups. We observed that immunization with increasing doses of Vaxigrip[®] had an inverse effect on the lipid content of atherosclerotic plaques (Fig. 5A, Online Table II). The largest reduction was observed in animals vaccinated with 45 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$ Vaxigrip[®] in which plaque size was reduced by 38% ($11.7 \pm 4.2\%$) when compared to the PBS group ($18.7 \pm 4.4\%$) and by 22% when compared to Pneumo23[®] group ($15.0 \pm 9.0\%$). However, these changes were not statistically significant (Fig. 5B, Online Table II).

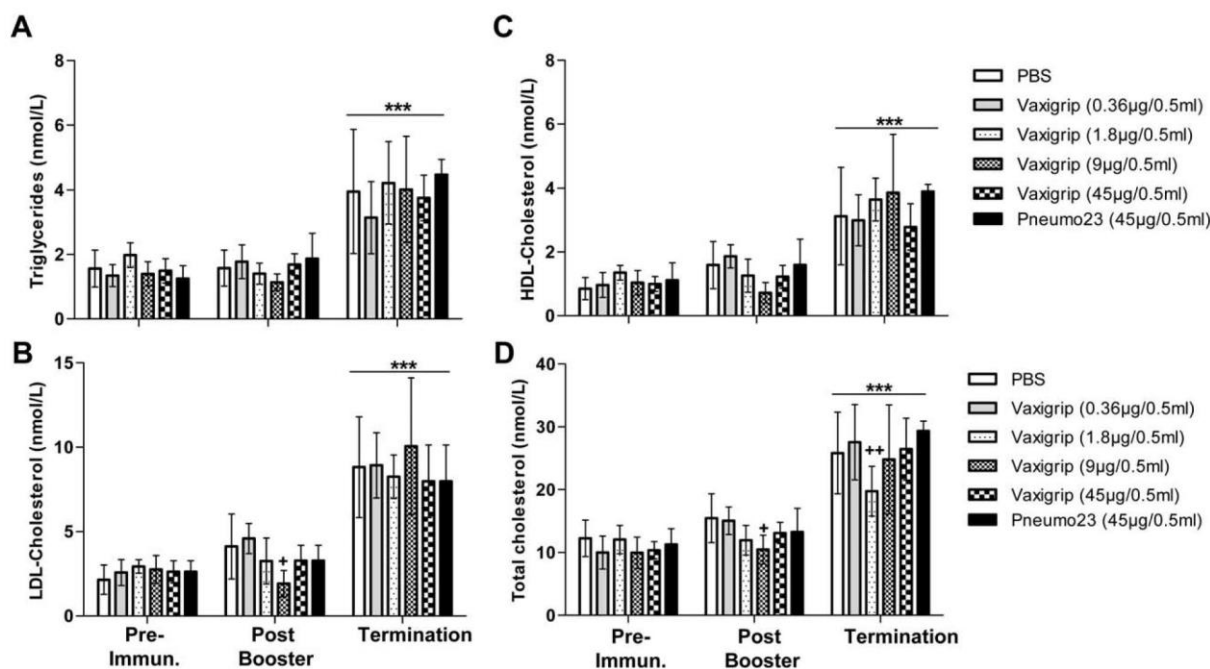


Fig. 3. Plasma lipid levels in apoE^{-/-} mice vaccinated with increased doses of Influenza vaccine. Plasma lipids analyses were performed on blood drawn by tail puncture or from the abdominal aorta at termination. (A) Triglycerides, (B) LDL-cholesterol, (C) HDL-cholesterol and (D) total cholesterol levels are represented. Values represent mean \pm SD. Levels of significance as follow: *** $p < 0.01$ for each group termination vs. pre-immunization and post-booster; † $p < 0.05$ for LDL-cholesterol and total cholesterol levels of Vaxigrip[®] (9 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$) vs. PBS at post-booster; †† $p < 0.01$ for total cholesterol levels of Vaxigrip[®] (1.8 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$) vs. PBS at termination.

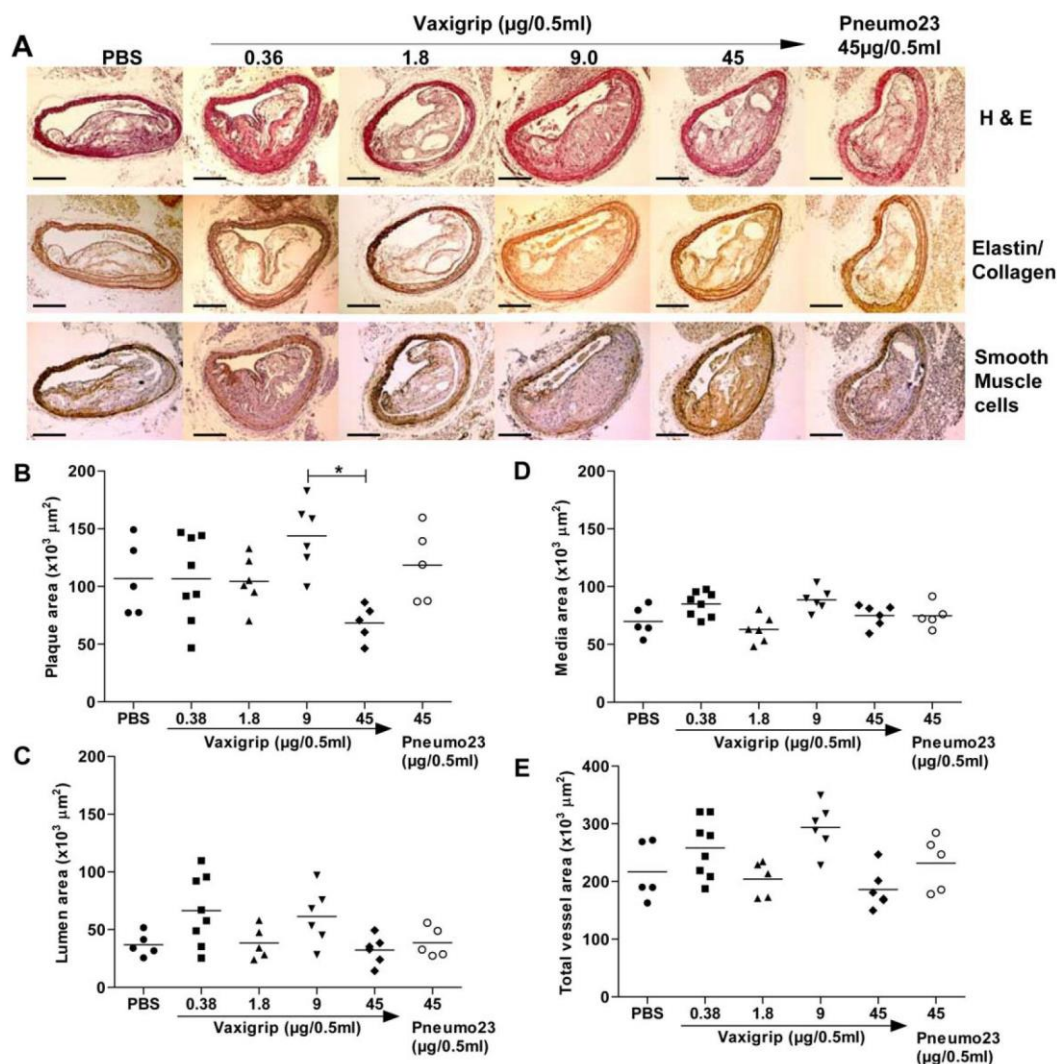


Fig. 4. Effect of Influenza vaccination on atherosclerotic plaque development and morphometric analysis in apoE^{-/-} mice. (A) Representative histological sections from apoE^{-/-} mice brachiocephalic arteries, stained with haematoxylin and eosin or Orcein/van Gieson (for elastin/collagen detection) or immunostained for smooth muscle α -actin (smooth muscle cells) are shown. Bars: 200 μ m. Vessel compartment areas were determined by computerised morphometry. (B) Plaque size, (C) Lumen area, (D) Media area and (E) total vessel area are graphically represented. Values represent mean \pm SD, statistical significance as follows: * $p < 0.05$ for 45 μ g/0.5 mL vs. 9 μ g/0.5 mL Vaxigrip[®].

When we assessed the collagen content of these plaques it was noticed that vaccination with 45 μ g/0.5 mL of Vaxigrip[®] significantly increased the plaque's collagen content by 35% ($53.8 \pm 1.6\%$; $p < 0.05$), 41% ($p < 0.01$) or by 37% ($p < 0.001$) when compared to control PBS ($39.7 \pm 6.8\%$), 0.38 μ g ($38.1 \pm 9.5\%$) and 9 μ g/0.5 mL Vaxigrip[®] ($39.2 \pm 3.8\%$), respectively (Fig. 5B, Online Table II). Collagen also increased by 30% and 34% in comparison to Pneumo23[®] group ($41.3 \pm 4.7\%$) and 1.8 μ g/0.5 mL Vaxigrip[®] ($39.9 \pm 9.7\%$) respectively, although these differences were not statistically significant (Fig. 5B, Online Table II).

Lastly, we measured the smooth muscle cell content of the plaques and noticed that immunization with 45 μ g/0.5 mL Vaxigrip[®] significantly increased the plaque's smooth muscle cell content by 54% ($16.4 \pm 3.3\%$; $p < 0.05$), 53% ($p < 0.05$), 73% ($p < 0.05$), 127% ($p < 0.001$) or by 80% ($p < 0.01$) when compared to PBS controls ($16.4 \pm 3.3\%$), 0.38 μ g ($16.5 \pm 6.2\%$), 1.8 μ g ($14.6 \pm 4.0\%$), 9 μ g/0.5 mL Vaxigrip[®] ($11.1 \pm 1.7\%$) and Pneumo23[®] ($14.0 \pm 1.4\%$) respectively (Fig. 5C, Online Table II).

3.4. Immunization with 45 μ g/0.5 mL Vaxigrip[®] induces a Th2-type of cytokine secretion profile

We characterized the cytokine secretion profile induced by the immunization by using a CBA Th1/Th2/Th17 panel. Sample values obtained were compared with those obtained pre-immunization.

The results showed that PBS control mice spontaneously produced significantly higher levels of IFN γ (1.65 ± 0.63 pg/mL, $p < 0.05$) throughout the length of the experiment when compared to naïve plasma samples (0.58 ± 0.26 pg/mL) a feature that is expected in these animals known for having a predominant Th1 cytokine background [22,23] (Fig. 6). However, vaccination with 45 μ g/0.5 mL Vaxigrip[®] significantly halted the production of IFN γ (0.33 ± 0.18 pg/mL, $p < 0.01$) when compared to control animals (1.65 ± 0.63 pg/mL). Similar response was observed in animals vaccinated with Pneumo23[®] (0.19 ± 0.39 pg/mL, $p < 0.01$). No effects on systemic levels IFN γ were noted in animals vaccinated with other doses of Vaxigrip[®] (Fig. 6A).

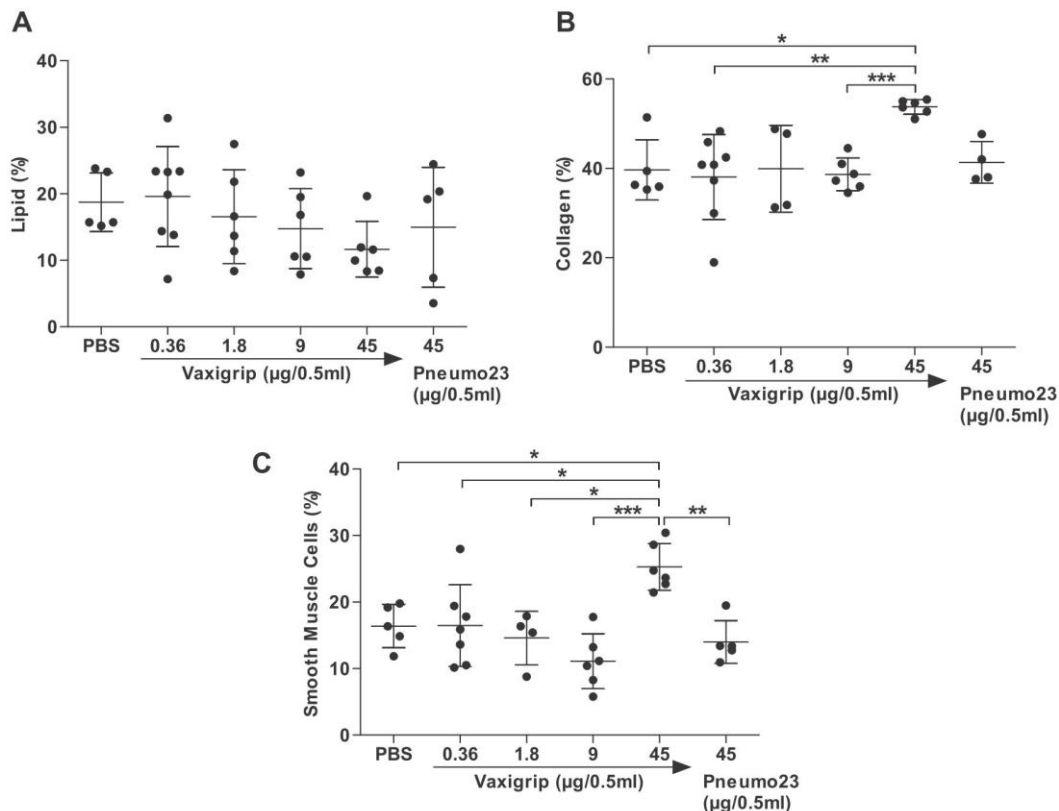


Fig. 5. Immunization with 45 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$ Vaxigrip[®] (Influenza vaccine) increased atherosclerotic plaque stability in apoE^{-/-}. Lesions characteristics were assessed by computerised morphometry. (A) Percentage of plaque's lipid content; (B) percentage of plaque's collagen content; (C) percentage of plaque's smooth muscle cells content are represented. Values represent mean \pm SD, statistical significance as follow: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ or *** $p < 0.001$.

On the other hand, the PBS control group showed similar plasma levels of IL-2 compared to those measured in naïve animals (Fig. 6B). Immunization with 1.8 μg and 45 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$ Vaxigrip[®] significantly reduced levels of IL-2 ($0.54 \pm 0.30\text{ pg/mL}$, $p < 0.05$ and $0.49 \pm 0.23\text{ pg/mL}$, $p < 0.05$, respectively) compared to the PBS control group ($1.28 \pm 0.99\text{ pg/mL}$) (Fig. 6B). Plasma levels of IL-2 did not change in animals vaccinated with any of the other doses of Vaxigrip[®] compared to controls. We also noticed a reduction in levels of IL-2 in animals vaccinated with Pneumo23[®] but this was not statistically significant (Fig. 6B).

We also measured plasma levels of TNF α and these were significantly higher in PBS controls ($9.65 \pm 3.57\text{ pg/mL}$, $p < 0.01$) at termination compared to naïve samples ($4.65 \pm 2.22\text{ pg/mL}$) collected before vaccination (Fig. 6C). We observed that immunization with increasing doses of Vaxigrip[®] showed a trend to decrease TNF α plasma levels with the lowest levels recorded in animals that received 45 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$ Vaxigrip[®], however this effect was not statistically significant. Vaccination with Pneumo23[®] also decreased TNF α levels compared to PBS controls, but not significantly (Fig. 6C).

Plasma levels of IL-4 were similar in pre-treatment samples and in control animals that received PBS control measured at termination, indicating that levels of this cytokine are not affected by the genetic background of these animals (Fig. 6D). Conversely, vaccination with 45 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$ Vaxigrip[®] significantly increased levels of IL-4 (1.16 pg/mL) compared to PBS controls (0.28 pg/mL , $p < 0.05$), to Pneumo23[®] (0.021 pg/mL , $p < 0.05$) and to 1.8 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$ Vaxigrip[®] (0.017 pg/mL , $p < 0.01$) (Fig. 6D).

We found no differences in IL-6 secretion between any of the groups (Fig. 6E). But, interestingly, plasma samples taken from animals before vaccination showed significantly higher levels of

IL-17A compared to samples collected at termination in all groups (Fig. 6F). There were no significant differences between any of the other groups at termination (Fig. 6F). We could not detect IL-10 in any of the samples analyzed with the CBA kit.

4. Discussion

Despite the recent publication of numerous studies reporting the beneficial effects of the use of vaccination against Influenza to reduce the incidence of acute cardiovascular complications yet no attempts have been made to explain the mechanisms behind these protective effects. Our work presents results showing that Influenza vaccination promotes stable atherosclerotic plaques and generates anti-inflammatory immune responses. These results are based on the use of an established experimental animal model of the disease, the apoE^{-/-} mouse and a flu vaccine produced by Sanofi-Aventis, Vaxigrip[®]. Immunization of mice with the highest dose of Vaxigrip[®] (45 $\mu\text{g}/0.5\text{ mL}$, the same dose recommended by the manufacturer to vaccinate humans adults against Influenza) developed smaller atherosclerotic lesions with lower lipid content but richer in smooth muscle cells and collagen. Concomitantly, immunized animals developed lower levels of IFN γ , IL-2 and TNF α and higher levels of IL-4. Furthermore, this was accompanied by a time and dose dependent increased response in anti-Influenza specific IgG1 in animals immunized with increasing doses of the vaccine.

The immunization schedule used in this study assessed whether a pre-existing immune status against Influenza-derived antigens could prevent or significantly modify parameters related to atherosclerotic plaque development. Hence, animals were immu-

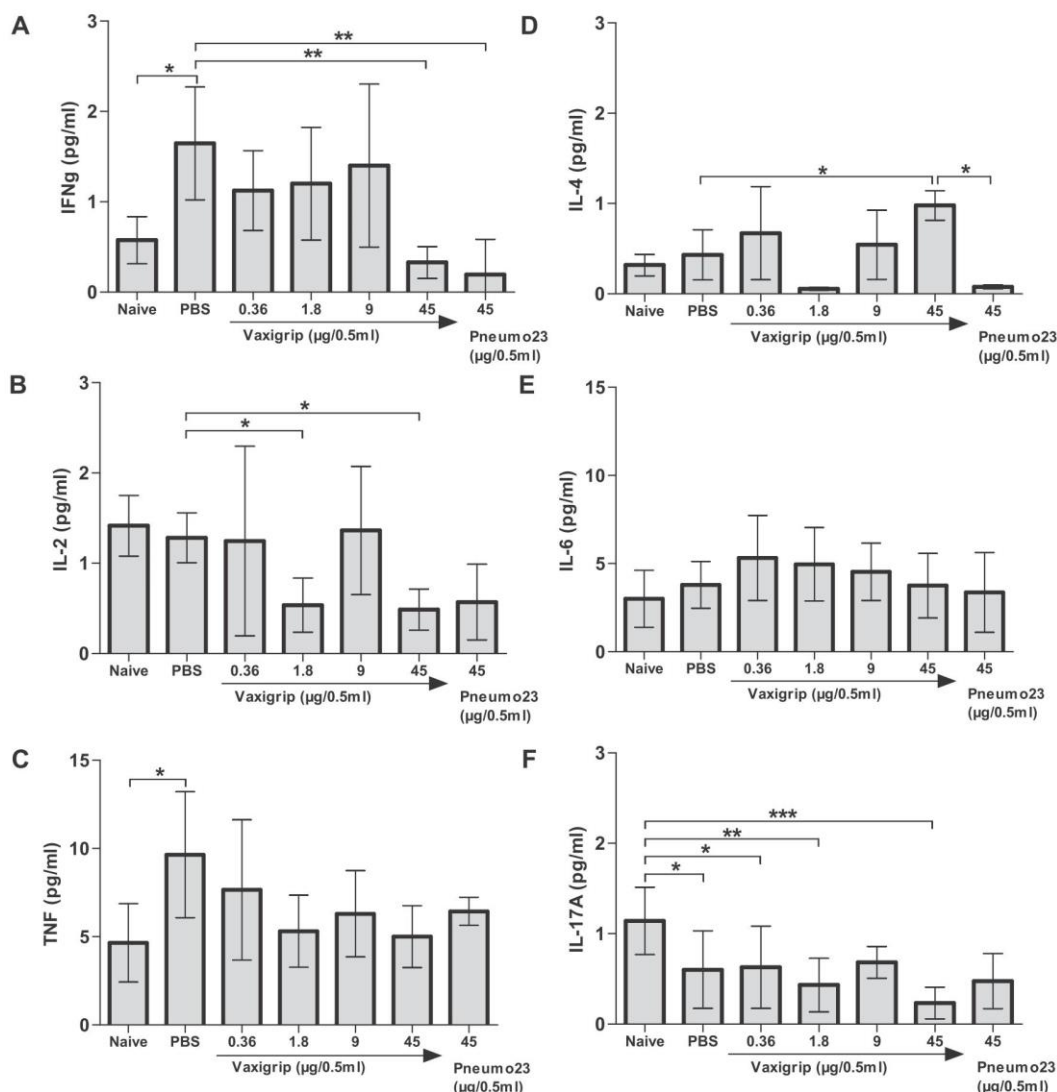


Fig. 6. Influenza vaccination (45 µg/0.5 mL Vaxigrip®) change cytokines pattern of secretion in apoE^{-/-} mouse. Plasma cytokine analyses were performed on naïve blood drawn by tail puncture (at week 8) and terminal bloods drawn from the abdominal aorta (at week 26). Detection of plasma levels of cytokines by CBA, where (A) levels of IFN γ ; (B) levels of IL-2; (C) levels of TNF α ; (D) levels of IL-4; (E) levels of IL-6 and (F) levels of IL-17A. Results represent mean \pm SD, statistical significance as follow: * p < 0.05, ** p < 0.01 or *** p < 0.001.

nized subcutaneously with increasing doses of Vaxigrip® and received a booster 3 weeks later, after that they were put on a high fat diet for 12 weeks until termination (Online Fig. 1).

During the whole length of the experiment all animals gained weight at the same rate and no significant differences between the groups were noted. We observed no differences in total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol or triglycerides at any stage. However, a closer examination of the results showed that although differences were not noted at termination within each group, overall, higher levels of cholesterol (total and LDL-cholesterol) always dominated the lipid profile. The only exceptions were the significantly lower levels of LDL-cholesterol and total cholesterol in animals vaccinated with 9 µg/0.5 mL of Vaxigrip® post-booster compared to PBS control, and the lower total cholesterol in the group vaccinated with 1.8 µg/0.5 mL Vaxigrip® compared to PBS control at termination. Due to the fact that no differences were observed on total cholesterol, LDL-c, HDL-c or triglycerides or on any other behavioral or biochemical parameters measured (see

below) at any stage of the study, we can only hypothesize that these particular effects were due to transient adaptational changes of the animals in response to the specific doses received.

The results indicate that immunization with Vaxigrip® favored the development of a Th2-type antibody-mediated immune response characterized by the synthesis of antigen-specific IgG1, while inoculation of animals with Penuo23®, a polysaccharide-based vaccine, stimulated the synthesis of IgM.

The analysis of atherosclerotic plaques development revealed that only animals treated with the human adult recommended dose of Vaxigrip® (45 µg/0.5 mL) developed smaller plaques. The treatment did not affect the lumen size or the growth of the tunica media suggesting a specific effect of the treatment on the inflammatory process associated with plaque growth. A closer analysis of the morphological features of these plaques showed that, despite being not statistically significant, there is a dose-dependent decrease in tissue lipid accumulation, an important observation that may worth additional future scrutiny. However, immunization significantly

increased collagen deposition within the plaques which may be associated to the increased amount of migrating smooth muscle cells. Altogether, immunization with Vaxigrip® showed a positive outcome in facilitating the development of plaques with a stable phenotype.

Our results also show that immunization with the pneumococcal vaccine did not have an effect on atherosclerotic plaque development (Fig. 4B–E, Online Table I) nor on plaque stability (Fig. 5A–C, Online Table II) despite the increased titres of anti-Pneumo23® specific IgM induced by the treatment (Fig. 1B). This data contrast with a previous study that showed that hypercholesterolemic mice immunized with heat killed R36a *Streptococcus pneumoniae* elicited antibodies to oxLDL and protected against atherosclerosis [24]. The experimental design of this study bears important differences with ours. Binder et al. used *Ldlr*^{-/-} mice which produced high levels of circulating anti-oxLDL-specific IgM in response to treatment. These antibodies cross-react with specific phosphorylcholine determinants on the bacterium polysaccharide cell wall. They hypothesized that these antibodies decreased the extent of atherosclerosis by blocking the binding of oxLDL to macrophages by molecular mimicry between the T15-recognised epitopes present in oxidized phospholipids on oxLDL and the phosphorylcholine determinants exposed by the *S. pneumoniae* cell wall [24]. In this study the authors used a different immunogen (10⁸ CFU pronase-treated, heat killed *pneumococcus* in Complete/Incomplete Freund's Adjuvant (CFA/IFA)) and a different immunization protocol compared to ours as well as a different dieting protocol [24]. Contrasting to what they found a recent study showed that individuals vaccinated with Pneumovax®, a 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine, produced no IgM or IgG antibodies to oxLDL (either MDA-modified LDL or Cu-modified LDL) in children or adults three weeks to four months after receiving the vaccine. This study concluded that there was no scientific basis for the suggestion that pneumococcal vaccination might have an anti-atherogenic effect [25]. Another recent study showed that vaccination with pneumococcal vaccine also failed to elicit antibodies to phosphorylcholine, or to induce cross-reactive antibodies to oxLDL in healthy adults indicating that the pneumococcal vaccine may not have the ability to modulate atherosclerosis [26]. The differences observed with regards to the effects of the *pneumococcus* vaccine in our study require further detailed investigation.

The balance of pro- vs. anti-inflammatory cytokine secretion is known to be associated with atherosclerotic plaque growth and rupture [27]. While elevated plasma levels of IFN γ and TNF α have been shown to be linked with the development of unstable plaques and susceptibility to rupture [28,29] an increase in the levels of IL-10 and IL-4 have been associated with the opposite effect [27,30]. IFN γ , which is secreted by macrophages, NK cells and T-helper-1 (Th1) lymphocytes, acts mainly by reducing collagen synthesis by smooth muscle cells while also inhibiting their proliferation [27]. TNF α is secreted by many cell types and stimulates cell migration [31,32] and induces the synthesis of other pro-inflammatory (pro-atherogenic) cytokines such as IL-1 and IL-6 [33,34] which in turn favor the development of vulnerable atherosclerotic plaques [35–37]. Contrary to this, IL-10 shows strong anti-inflammatory and atheroprotective effects by inhibiting macrophage function [30,38,39] and also by driving the T-helper balance towards the production of Th2 cells, important producers of anti-inflammatory cytokines such as IL-10 and TGF β [27]. The latest is a property also shared by IL-4 although the exact role of this cytokine in atherosclerotic plaque development is still controversial [27].

In our study treatment of apoE^{-/-} mice with 45 μ g/0.5 mL of Vaxigrip® resulted in the induction of a primarily anti-inflammatory pattern of cytokine (Fig. 6). Despite the known atherogenic and pro-inflammatory effects of the high fat diet [40] the synthesis of IFN γ was completely halted in animals that

received 45 μ g/0.5 mL of Vaxigrip®. These animals also showed no increase in the levels of TNF α and IL-6 above control levels and a significant reduction in the synthesis of IL-2, a cytokine produced mainly, but not exclusively, by activated T-cells and also considered pro-atherogenic [41,42]. The switch to an anti-inflammatory pattern of response is also highlighted by the significantly higher levels of IL-4 detected in these animals. Interestingly, levels of IL-17, a cytokine initially thought to be secreted exclusively by Th17 cells, but now known to be synthesized by several other cell types and recently proposed to have a pro-atherogenic effect [43,44], was also significantly reduced in all groups (including PBS controls) compared to samples collected before vaccination and with lower, but not statistically significant, levels noted in animals that received 45 μ g/0.5 mL of Vaxigrip® by the end of the study. These results could be explained by a recent report showing that IL-17, and the transcription factors related to its synthesis, progressively decline with age in apoE^{-/-} mice, in the absence of any intervention. The authors claimed that this effect could be due to the counter balancing action of increasing numbers of regulatory T cells (Tregs) during the development of atherosclerosis [45].

5. Conclusions

Our results showed that Influenza vaccination promotes stable atherosclerotic plaques and generates anti-inflammatory immune responses. These results suggest that vaccines against Influenza may contribute to decrease the incidence of acute cardiovascular complications by promoting atherosclerotic plaque stabilization and anti-inflammatory (anti-atherogenic) responses. In this study the effects of the vaccine in the absence of exposure to Influenza virus is what has been investigated, and while this is important for demonstrating lack of potential harm it does not necessarily reflect the real life situation. The potential effects of the vaccine may either be related to the protection against flu, or the interaction of its effects on modulating the immune and inflammatory responses.

Based on this we can only hypothesize that these mechanisms are triggered by a bystander effect of Vaxigrip® which even in the presence of the powerful immunomodulatory effect of the high fat diet is capable of maintaining such stabilizing results. Further studies are required to investigate the effect of this treatment, for example, on important immunoregulatory components such as Tregs, macrophages and dendritic cells as well as to discern the effect of vaccination on atherogenesis after virus challenge and on more advanced stages of cardiovascular disease. Other questions such as what are the key significant differences in the type of immune response generated by the vaccine in humans and experimental animals may hamper our interpretation of the results obtained from the later. It is important to note that most experimental and/or commercial Influenza vaccine preparations can stimulate both Th1 and Th2 responses, sometimes in a balanced way. However, the results are not always totally comparable, and in most cases controversial, due to the bias introduced by the antigenic composition of the vaccine, the type of adjuvant utilised, the route of administration and the experimental model used to study it [46–53]. Moreover, a recent report has pointed to the fact that beyond the differences in the type of hemagglutinin presented in the virus on its capsule the different patterns of glycosylation of this protein may play a more important role in immunomodulation [54].

Other questions such as why natural infection does not protect us against the development of acute thrombotic events are also intriguing. Acute complications related to thrombus formation have been associated with Influenza virus infection and flu vaci-

nation protection. Keller and colleagues have shown that Influenza virus can induce a prothrombotic state, whereas Influenza vaccination reduces coagulation activation [55,56] and this may be partly explained by the differences in the protein composition of the virus capsule hemagglutinin in live viruses vs. vaccine preparations. Answers, to the above mentioned questions will require smart experimental design and careful future investigations.

Acknowledgements

The authors thank Dr Inca Kusters (Sanofi-Aventis) for proving the Vaxigrip® and Pneumo23® vaccines to perform this study and to Dr Max Wong and Dr Marwan Shariff for their technical support. The authors also thank Prof. Gordon Ferns and Dr Emmanuel Dupont for critical discussion and review of the manuscript.

Sources of funding: This work was supported by a University of Surrey Research and Enterprise Fund to EO-O (AN9044). A.B-F was a British Heart Foundation (BHF) research fellow at the time that most of the experimental work was carried out.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.atherosclerosis.2011.03.019.

References

- Packard RR, Lichtman AH, Libby P. Innate and adaptive immunity in atherosclerosis. *Semin Immunopathol* 2009;31:5–22.
- Caro CG. Discovery of the role of wall shear in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:158–61.
- Blasi C. The autoimmune origin of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2008;201:17–32.
- Gurfinkel E, Lernoud V. The role of infection and immunity in atherosclerosis. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2006;4:131–7.
- Stassen FR, Vainas T, Bruggeman CA. Infection and atherosclerosis. An alternative view on an outdated hypothesis. *Pharmacol Rep* 2008;60:85–92.
- Walsh J, Burch GE, White A, Mogabgab W, Dietlein L. A study of the effects of type A (Asian strain) influenza on the cardiovascular system of man. *Ann Intern Med* 1958;49:502–28.
- Burch GE, Walsh JJ, Mogabgab W. A study of the response of the cardiovascular system to Asian influenza. *Am Rev Respir Dis* 1961;83(2 (Pt 2)):68–78.
- Verel D, Warrack AJ, Potter CW, Ward C, Rickards DF. Observations on the A2 England influenza epidemic: a clinicopathological study. *Am Heart J* 1976;92:290–6.
- Bainton D, Jones GR, Hole D. Influenza and ischaemic heart disease—a possible trigger for acute myocardial infarction? *Int J Epidemiol* 1978;7:231–9.
- Armstrong BG, Mangtani P, Fletcher A, et al. Effect of influenza vaccination on excess deaths occurring during periods of high circulation of influenza: cohort study in elderly people. *BMJ* 2004;329:660.
- Jackson LA, Yu O, Heckbert SR, et al. Influenza vaccination is not associated with a reduction in the risk of recurrent coronary events. *Am J Epidemiol* 2002;156:634–40.
- Wang CS, Wang ST, Lai CT, Lin IJ, Chou P. Impact of influenza vaccination on major cause-specific mortality. *Vaccine* 2007;25:1196–203.
- Warren-Gash C, Smeeth L, Hayward AC. Influenza as a trigger for acute myocardial infarction or death from cardiovascular disease: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2009;9:601–10.
- Gurevich VS, Pleskov VM, Levaia MV, et al. Influenza virus infection in progressing atherosclerosis. *Kardiologiia* 2002;42:21–4.
- Naghavi M, Wyde P, Litovsky S, et al. Influenza infection exerts prominent inflammatory and thrombotic effects on the atherosclerotic plaques of apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2003;107:762–8.
- Haidari M, Wyde PR, Litovsky S, et al. Influenza virus directly infects, inflames, and resides in the arteries of atherosclerotic and normal mice. *Atherosclerosis* 2009;208:90–6.
- Ciszewski A, Bilinska ZT, Brydak LB, et al. Influenza vaccination in secondary prevention from coronary ischaemic events in coronary artery disease: FLUCAD study. *Eur Heart J* 2008;29:1350–8.
- Gurfinkel EP, de la Fuente RL, Mendiz O, Mautner B. Influenza vaccine pilot study in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions: the FLU Vaccination Acute Coronary Syndromes (FLUVACS) Study. *Circulation* 2002;105:2143–7.
- Lavallee P, Perchaud V, Gautier-Bertrand M, Grabli D, Amarenco P. Association between influenza vaccination and reduced risk of brain infarction. *Stroke* 2002;33:513–8.
- Naghavi M, Barlas Z, Siadaty S, et al. Association of influenza vaccination and reduced risk of recurrent myocardial infarction. *Circulation* 2000;102:3039–45.
- Siscovick DS, Raghunathan TE, Lin D, et al. Influenza vaccination and the risk of primary cardiac arrest. *Am J Epidemiol* 2000;152:674–7.
- Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol* 2000;164:6166–73.
- Heinzel FP, Sadick MD, Holaday BJ, Coffman RL, Locksley RM. Reciprocal expression of interferon gamma or interleukin 4 during the resolution or progression of murine leishmaniasis. Evidence for expansion of distinct helper T cell subsets. *J Exp Med* 1989;169:59–72.
- Binder CJ, Horkko S, Dewan A, et al. Pneumococcal vaccination decreases atherosclerotic lesion formation: molecular mimicry between *Streptococcus pneumoniae* and oxidized LDL. *Nat Med* 2003;9:736–43.
- Damoiseau J, Rijkers G, Tervaert JW. Pneumococcal vaccination does not increase circulating levels of IgM antibodies to oxidized LDL in humans and therefore precludes an anti-atherogenic effect. *Atherosclerosis* 2007;190:10–1.
- Nguyen JT, Myers N, Palaia J, et al. Humoral responses to oxidized low-density lipoprotein and related bacterial antigens after pneumococcal vaccine. *Transl Res* 2007;150:172–9.
- Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev* 2006;86:515–81.
- McLaren JE, Ramji DP. Interferon gamma: a master regulator of atherosclerosis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009;20:125–35.
- Zhang L, Peppel K, Sivashanmugam P, et al. Expression of tumor necrosis factor receptor-1 in arterial wall cells promotes atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:1087–94.
- Potteaux S, Esposito B, van Oostrom O, et al. Leukocyte-derived interleukin 10 is required for protection against atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1474–8.
- Jovinge S, Hultgardh-Nilsson A, Regnstrom J, Nilsson J. Tumor necrosis factor-alpha activates smooth muscle cell migration in culture and is expressed in the balloon-injured rat aorta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:490–7.
- Goetze S, Xi XP, Kawano Y, et al. TNF-alpha-induced migration of vascular smooth muscle cells is MAPK dependent. *Hypertension* 1999;33:183–9.
- Topley N, Jorres A, Luttmann W, et al. Human peritoneal mesothelial cells synthesize interleukin-6: induction by IL-1 beta and TNF alpha. *Kidney Int* 1993;43:226–33.
- Darville T, Tabor DR, Theus SA, Jacobs RF. Surface matrix binding alters murine peritoneal mononuclear phagocyte TNF-alpha and IL-6 induction. *Immunol Invest* 1992;21:539–52.
- Amar J, Fauvel J, Drouet L, et al. Interleukin 6 is associated with subclinical atherosclerosis: a link with soluble intercellular adhesion molecule 1. *J Hypertens* 2006;24:1083–8.
- Song L, Schindler C. IL-6 and the acute phase response in murine atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2004;177:43–51.
- Moyer CF, Sajuthi D, Tulli H, Williams JK. Synthesis of IL-1 alpha and IL-1 beta by arterial cells in atherosclerosis. *Am J Pathol* 1991;138:951–60.
- Oswald IP, Gazzinelli RT, Sher A, James SL. IL-10 synergizes with IL-4 and transforming growth factor-beta to inhibit macrophage cytotoxic activity. *J Immunol* 1992;148:3578–82.
- Liu Y, Li D, Chen J, et al. Inhibition of atherogenesis in LDLR knockout mice by systemic delivery of adeno-associated virus type 2-hIL-10. *Atherosclerosis* 2006;188:19–27.
- Zhou X, Paulsson G, Stemme S, Hansson GK. Hypercholesterolemia is associated with a T helper (Th) 1/Th2 switch of the autoimmune response in atherosclerotic apo E-knockout mice. *J Clin Invest* 1998;101:1717–25.
- 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.
- Ozeren A, Aydin M, Tokac M, et al. Levels of serum IL-1beta, IL-2, IL-8 and tumor necrosis factor-alpha in patients with unstable angina pectoris. *Mediators Inflamm* 2003;12:361–5.
- Pejnovic N, Vratimos A, Lee SH, et al. Increased atherosclerotic lesions and Th17 in interleukin-18 deficient apolipoprotein E-knockout mice fed high-fat diet. *Mol Immunol* 2009.
- Smith E, Prasad KM, Butcher M, et al. Blockade of interleukin-17A results in reduced atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2010;121:1746–55.
- Xie JJ, Wang J, Tang TT, et al. The Th17/Treg functional imbalance during atherogenesis in ApoE^{-/-} mice. *Cytokine* 2010;49:185–93.
- Bungener L, Geeraedts F, Ter Veer W, et al. Alum boosts TH2-type antibody responses to whole-inactivated virus influenza vaccine in mice but does not confer superior protection. *Vaccine* 2008;26:2350–9.
- Lee YS, Lee KA, Lee JY, et al. An alpha-GalCer analogue with branched acyl chain enhances protective immune responses in a nasal influenza vaccine. *Vaccine* 2011;29:417–25.
- Even-Or O, Samira S, Rochlin E, et al. Immunogenicity, protective efficacy and mechanism of novel CCS adjuvanted influenza vaccine. *Vaccine* 2010;28:6527–41.
- Kistner O, Crowe BA, Wodal W, et al. A whole virus pandemic influenza H1N1 vaccine is highly immunogenic and protective in active immunization and passive protection mouse models. *PLoS One* 2010;5:e9349.
- Madhun AS, Haaheim LR, Nilsen MV, Cox RJ. Intramuscular Matrix-M-adjuvanted virosomal H5N1 vaccine induces high frequencies of multi-

- functional Th1 CD4+ cells and strong antibody responses in mice. *Vaccine* 2009;27:7367–76.
- [51] Yamaguchi K, Hisano M, Isojima S, et al. Relationship of Th1/Th2 cell balance with the immune response to influenza vaccine during pregnancy. *J Med Virol* 2009;81:1923–8.
- [52] Mann JF, Shakir E, Carter KC, et al. Lipid vesicle size of an oral influenza vaccine delivery vehicle influences the Th1/Th2 bias in the immune response and protection against infection. *Vaccine* 2009;27:3643–9.
- [53] Wilschut J. Influenza vaccines: the virosome concept. *Immunol Lett* 2009;122:118–21.
- [54] Wang CC, Chen JR, Tseng YC, et al. Glycans on influenza hemagglutinin affect receptor binding and immune response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:18137–42.
- [55] Keller TT, van der Sluijs KF, de Kruif MD, et al. Effects on coagulation and fibrinolysis induced by influenza in mice with a reduced capacity to generate activated protein C and a deficiency in plasminogen activator inhibitor type 1. *Circ Res* 2006;99:1261–9.
- [56] Zhu T, Carcaillon L, Martinez I, et al. Association of influenza vaccination with reduced risk of venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 2009;102:1259–64.



Contents lists available at ScienceDirect

Vaccine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vaccine



Effect of influenza vaccine on tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) in older adults

Maryam Keshtkar-Jahromi ^{a,*}, Min Ouyang ^{b,1}, Marzieh Keshtkarjahromi ^c, Samah Almed ^c, Huifen Li ^c, Jeremy D. Walston ^c, Rebeca Rios ^d, Sean X. Leng ^{c,*}

^a Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA

^b Department of Geriatrics, the Second Hospital of Central South University Medical School, Changsha, Hunan Province, China

^c Division of Geriatric Medicine and Gerontology, Department of Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA

^d Biostatistics, Epidemiology, and Database (BEAD) Core; Department of Medicine, Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 March 2017

Received in revised form 27 October 2017

Accepted 15 November 2017

Available online xxxx

Keywords:

Influenza vaccine

TWEAK

sCD163

Frailty

Cardiovascular disease

ABSTRACT

Influenza immunization is recommended for older adults annually, and has been reported to have cardiovascular protective effects. TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK), an inflammatory mediator implicated in the development of cardiovascular diseases, could be a mechanism for such effect. The objective of this study was to evaluate the effect of influenza vaccine on TWEAK levels. Older persons over 70 years of age were recruited during 2007–2008 influenza season and immunized with the standard dose trivalent inactivated influenza vaccine. Frailty was evaluated using a validated set of criteria. Sera were collected immediately before and during the 4th week after vaccination. Pre- and post-vaccination levels of TWEAK, soluble CD163 (sCD163) and strain-specific influenza antibody titers were measured in 69 participants. Multiple regression analyses were employed to examine the effect of influenza vaccine on TWEAK and sCD163, adjusting for age, sex, and hypertension. Post-vaccination TWEAK [mean \pm standard deviation (SD) = 591.7 \pm 290.1 pg/ml] was significantly lower than pre-vaccination level (690.6 \pm 330.0 pg/ml) ($p = .003$). No significant difference was observed between pre and post-vaccination sCD163 levels ($p = .71$). Post-vaccination TWEAK levels were significantly higher in men ($p = .01$) and in participants with college or higher level of education ($p = .044$). There was no significant difference in post-vaccination TWEAK according to other demographics or pre-existing medical conditions. A 2-fold or greater antibody titer against H1N1 vaccine strain was associated with a more pronounced reduction in TWEAK at the $p < .10$ level ($p = .091$). A time by frailty interaction term ($p = .091$) indicated that the vaccination-induced reduction of TWEAK was greatest among frail individuals. These results of this observational study indicate that the impact of Influenza vaccine on TWEAK, including the role of specific antibody responses of specific vaccine strains and frailty status, warrants further investigation. Such investigation may elucidate whether this effect plays a role in mediating cardiovascular protection of influenza vaccination.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Abbreviations: TIV, trivalent inactivated influenza vaccine; HA, hemagglutinin; CVDs, cardiovascular diseases; HI, hemagglutination inhibition; TWEAK, tumor necrosis factor (TNF)-like weak inducer of apoptosis; HD, high dose; SD, standard dose; Fn14, fibroblast growth factor-inducible 14; sCD163, soluble CD163; MMSE, mini-mental state examination.

* Corresponding authors at: 5200 Eastern Avenue, Baltimore, MD 21224 (M. Keshtkar-Jahromi); and 5501 Hopkins Bayview Circle, Baltimore, MD 21224 (S.X. Leng).

E-mail addresses: maryam.keshtkar@jhmi.edu (M. Keshtkar-Jahromi), Mindy.gao@163.com (M. Ouyang), mkeshtkar-jahromi@som.umaryland.edu (M. Keshtkar-jahromi), sahmed8@neomed.edu (S. Almed), hli55@jhmi.edu (H. Li), JWALSTON@jhmi.edu (J.D. Walston), rrios2@jhmi.edu (R. Rios), sleng1@jhmi.edu (S.X. Leng).

¹ M.K.-J. and M.O. contributed to this work equally.

<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.11.045>
0264-410X/© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Cardiovascular diseases (CVDs) are the most common cause of death worldwide. In the US, about 610,000 people die from heart disease annually. CVDs are common in older adults and account for 25% of its all-cause mortality in the US [1,2]. Cardiovascular protective effect of influenza vaccination has been reported in multiple studies [3–10]. A number of recent large systematic reviews have also provided cumulative evidence for such effect [11–13]. However, potential molecular and immunological mechanisms underlying such cardiovascular protective effect beyond prevention of influenza infection have yet to be determined.

Tumor necrosis factor (TNF)-related weak inducer of apoptosis (TWEAK) is a TNF superfamily member, a pro-inflammatory molecule primarily produced by leukocytes, the circulating immune cells, with intracellular mRNA and protein expression detected in resting and activated monocytes, dendritic cells (DCs), NK cells, as well as T and B lymphocytes [14]. Fn14, the smallest TNF receptor superfamily member and the only known signaling receptor for TWEAK, is not expressed by circulating immune cells (such as T or B lymphocytes), but mainly by epithelial cells, endothelial cells and other non-hematopoietic cells [15–17]. Fn14 is normally expressed at relatively low levels in healthy tissues and TWEAK triggers its inducible expression [16]. The TWEAK/Fn14 pathway has been recognized as a critical “immune switch” that plays an important role in a number of physiologic and pathophysiological processes including inflammation, apoptosis, and fibrosis [14]. For example, TWEAK/Fn14 pathway activation may play an important role in contributing to CVDs and their severity. Results from a study of patients who were hospitalized for CVDs that measured TWEAK levels within 24 h after hospital admission demonstrated significantly higher TWEAK levels in patients with ST elevation myocardial infarction (STEMI) compared to controls or patients with stable CVDs. TWEAK levels were also shown to be a predictor of adverse short-term outcome after STEMI [18]. In addition to the clinical study cited above, evidence from animal studies suggest that TWEAK/Fn14 pathway is a positive regulator of cardiac hypertrophy [19]. In addition, deletion of the gene encoding Fn14 has been shown to be protective against myocardial fibrosis and heart failure. Genetic deletion of TWEAK and treatment with a TWEAK blocking antibody in atherosclerosis-prone mice has shown reduction in atherosclerosis burden and lesion size in aorta with enhanced plaque stability [20], suggesting the critical role of TWEAK/Fn14 pathway in the development of atherosclerosis and plaque instability. Taken together, TWEAK/Fn14 pathway activation may play an important role in the development of CVDs and, as such, has been proposed as a promising interventional target for CVDs and congestive heart failure [21]. The objective of this study was to evaluate potential effect of influenza vaccination on circulating TWEAK levels in older adults. We hypothesized that influenza vaccination would decrease circulating TWEAK levels. To test this hypothesis, we conducted an analysis comparing TWEAK levels in pre- and post-vaccination serum samples collected in a prospective observational study of influenza vaccination among community-dwelling older adults. We also evaluated associations of vaccine-induced strain-specific antibody responses and frailty of older persons with their post-vaccination TWEAK levels.

2. Material and methods

2.1. Human subjects

This analysis was conducted in cryopreserved serum samples collected in a prospective observational study of influenza immunization among community-dwelling older adults. Its main finding of the impact of frailty on vaccine-induced strain-specific antibody responses and clinical effectiveness of influenza vaccination was reported elsewhere [22]. Briefly, participants were recruited from the community during 2007–2008 influenza season. The study was advertised via collaborating physicians and community newspaper, flyers at clinics, senior citizen buildings, and retirement places in Baltimore, Maryland. Individuals older than 70 years of age were eligible except those with history of egg allergy or reaction to influenza vaccine or those who had acute viral infection or acute worsening of chronic diseases (chronic obstructive pulmonary disease, etc.) at the time of the study, active rheumatoid arthritis or other inflammatory conditions or cancer, severe

dementia (unable to provide informed consent), Parkinson's disease, or recent usage (within past year) of immune suppressant or modulating agents including oral steroids, chemotherapy or radiation therapy. These exclusion criteria were employed to eliminate allergic reaction to influenza vaccine and minimize potential impact of preexisting medical conditions or medication on the immune system including antibody response to influenza vaccine or development of frailty. Participants were screened by trained clinical research coordinators. Demographic data, clinical diagnoses, list of medications, Mini-Mental State Examination (MMSE) score and data on measurements of frailty were recorded by interviewing and testing the participants as well as reviewing their medical records. Frailty status was determined according to Fried screening criteria of frailty phenotype [23]. The criteria include slowed motor performance (measured by 15-ft walking), self-reported exhaustion, weakness (measured by grip strength), unintentional weight loss and low physical activity. Older persons with three or more criteria were defined as frail; those with one or two as prefrail; and those with none as nonfrail. Standardized Folstein MMSE was used as cognitive screening tool [24]. All participants were interviewed individually and signed the written consent. The Johns Hopkins University Institutional Review Board has approved the study protocol.

2.2. Influenza immunization

Participants were recruited in early October during influenza season 2007–2008. After initial screening and signing written informed consents, participants were seen at Clinical Research Unit (CRU) of Johns Hopkins Institute of Clinical and Translational Research on Johns Hopkins Bayview Medical Center (JHBMC) campus, or home for pre-vaccination evaluation. After pre-vaccination blood sample was obtained, 0.5 ml of standard dose influenza trivalent inactivated vaccine (TIV) recommended for 2007–2008 season (Fluarix, GlaxoSmithKline) was administered intramuscularly by a licensed health-care provider. This standard dose TIV contains 15mcg of hemagglutinin antigen for each of the 3 influenza virus strains, A/Solomon Islands/3/2006 (H1N1), A/Wisconsin/67/2005 (H3N2), and B/Malaysia/2506/2004. Participants were followed either at JHBMC CRU or home for post-vaccination evaluation and blood draw during the 4th week after vaccination. Sera were isolated using centrifugation for 20 min and stored at -80°C for subsequent measurement of serum TWEAK, sCD163 levels and influenza vaccine strain-specific antibody titers.

2.3. Strain-specific antibody titer measurement

Antibody titers against each strain were measured by hemagglutination inhibition (HI) assay as previously described [22]. All reference antigens and anti-sera were obtained from WHO Collaborating Center for the Surveillance, Epidemiology and Control of Influenza, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), and National Center for Immunization and Other Respiratory Diseases, Influenza division (Atlanta, GA). Receptor Destroying Enzyme (RDE) was used to eliminate non-specific inhibitors of hemagglutination in sera specimens (DENKA SEIKEN CO., LTD). Non-specific agglutinins were removed by pre-adsorption with Turkey red blood cells (RBC) (Fitzgerald Industries International, Concord, MA). HI antibody titers were measured after reference antigens were titrated against Turkey RBC and reference sera. V-shaped 96-well microtiter plates were used to measure HI titers based on standard microtiter technique. Pre and post-vaccination HI titer against each vaccine antigen was measured at the same time for each participant. HI titers were recorded as the reciprocal of the highest serum dilution that produced complete inhibition of RBC agglutination.

2.4. Measurement of pre- and post-vaccination serum levels of TWEAK and sCD163

Pre- and post-vaccination serum levels of TWEAK and sCD163 were measured using commercially available ELISA according to the procedures provided by the manufacturer. TWEAK was measured using human TWEAK DuoSet ELISA with a detectable range of 62.50–4000 pg/mL and an inter-assay coefficient of variance (CV) of 3.9% (R&D Systems, Minneapolis, MN). sCD163 was measured using human CD163 Quantikine ELISA Kit (R&D Systems, Minneapolis, MN) with a detectable range of 1.6–100 ng/mL and an inter-assay CV of 4.7%. Measurements were performed in duplicate and repeated if the measures differed by more than 15% or were out of the measurable range. The average of the 2 values in duplicate was used for analysis.

2.5. Statistical analysis

Summary statistics of demographic and clinical characteristics, and mean TWEAK and sCD163 levels across sample characteristics, were compiled for descriptive purposes using one-way ANOVAs. To test whether TWEAK and sCD163 levels significantly changed due to vaccination, we used repeated measures ANOVAs. To test associations between degree of antibody response and TWEAK, we regressed post-vaccination TWEAK levels on antibody responses to influenza vaccine H1N1, H3N2, and B strains in separate linear regressions. Because of low frequency of participants with greater than 2-fold antibody response, 2-fold, 4-fold and 8-fold seroconversion levels were combined, yielding binary variables with 2 levels representing, 1-fold (or non-response) vs. 2-fold or greater antibody response. Fully adjusted multivariable models controlled for pre-vaccination TWEAK, gender, age, and history of hypertension. All predictors were centered at the mean. The association between frailty status and TWEAK was examined using a mixed ANOVA with one within-subjects factor (pre vs. post-vaccination) and one between-subjects factor for frailty status. Due to the pilot nature of the study and limited sample size, we considered a higher probability of type I error to be appropriate and considered significance tests at the $p > .05$ and $p > .10$ to indicate evidence for statistically significant trends. All analyses were conducted using SPSS version 2013 (SPSS Inc. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.).

3. Results

3.1. Characteristics of the study participants

Of 94 persons initially screened, 78 (83%) met the eligibility criteria and were enrolled into the study. Seven individuals were lost to follow-up due to either moving out of the area for the winter season ($n = 4$), refusal of providing a post-vaccination blood specimen ($n = 2$), or being hospitalized after an accidental fall and subsequent death ($n = 1$). Two participants were excluded for whom

TWEAK values were missing. This yielded a final sample size of 69 (88% of the total enrolled) (Fig. 1). Table 1 summarizes major demographic and clinical characteristics of the study population. The mean age was 84.5 years ($SD = 4.6$) with a range of 72–95; most participants were white (91.6%) and female (77.5%). There were significant differences in mean post-vaccination TWEAK according to sex ($p = .010$) and education ($p = .044$).

3.2. Impact of influenza vaccination on TWEAK and sCD163 levels

Post-vaccination TWEAK levels (mean \pm standard deviation (SD) = 591.7 ± 290.1 pg/ml) were significantly lower than pre-vaccination levels (690.6 ± 330 pg/ml) ($p = .003$); Post-vaccination sCD163 levels (342191.3 ± 162032.1 pg/ml) was not significantly different compared to pre-vaccination levels (352757.65 ± 166114.1 pg/ml) ($p = .71$).

One-way ANOVAs yielded no significant differences in post-vaccination TWEAK levels according to age, race, frailty status, mini mental state examination (MMSE) score, and history of hypertension, heart failure, diabetes mellitus, heart attack, stroke, or cancer. Post-vaccination TWEAK levels were significantly higher in men ($p = .01$) and in participants with college or some graduate

Table 1
Selected demographic and clinical characteristics of the study participants ($n = 69$).

Variable	N (%)
Race	
White	63 (91%)
Other	6 (9%)
Sex, Females	54 (78%)
Age (years), mean (\pm SD)	84.6 (\pm 4.6)
Education	
High school or less	13 (19%)
Some college	13 (19%)
College or some graduate work	23 (33%)
Post-graduate school	20 (29%)
Frailty status*	
Non-frail	22 (32%)
Pre-frail	31 (46%)
Frail	15 (22%)
MMSE Score*	
24 and up	66 (97%)
Less than 24	2 (3%)
Common Clinical Conditions	
Angina	5 (7%)
Cancer	21 (30%)
Congestive Heart Failure	3 (4%)
History of Heart Attack	14 (20%)
Hypertension*	23 (33%)
History of Stroke	14 (20%)
Diabetes Mellitus	8 (12%)

* One missing value on Frailty status and MMSE Score.



Fig. 1. Schematic illustration of the study protocol including pre-vaccination screening, Influenza immunization (Visit 1), and Post-vaccination blood draw (Visit 2).

Please cite this article in press as: Keshtkar-Jahromi M et al. Effect of influenza vaccine on tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) in older adults. Vaccine (2017), <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.11.045>

work ($p = .044$). Fig. 2 illustrates comparison between pre- and post-vaccination TWEAK levels.

3.3. Association between antibody response to influenza vaccine and post-vaccination TWEAK levels

A multiple regression model predicting post-vaccination TWEAK while holding pre-vaccination TWEAK constant indicated that antibody response to H1N1 influenza vaccine strain was associated with TWEAK ($B = -106.7$, $SE = 54.3$, $p = .054$). This association indicates that the adjusted difference in TWEAK for those who had a 2-fold or greater response to H1N1 influenza vaccine strain was 106.7 pg/ml less than those with a 1-fold response. Mean TWEAK for a 1-fold response was 751.9, and the mean for a 2-fold or greater response was 645.3. In the final model adjusting for gender, age, and history of hypertension, the effect of strain-specific antibody response to H1N1 was significant at $p < .10$.

Table 2 lists regression results for the fully adjusted model of post-vaccination TWEAK levels on H1N1 strain-specific antibody response. Similarly adjusted regression models examining the effect of antibody response to H3N2 or B influenza vaccine strains individually on post-vaccination TWEAK levels showed no significant associations in either model (H3N2 strain: $B = 17.0$, $SE = 57.9$, $p = .77$ and B strain: $B = 3.11$, $SE = 89.5$, $p = .97$, respectively).

3.4. Association between frailty and post-vaccination TWEAK levels

To test whether the change in pre- to post-vaccination TWEAK levels varied according to frailty level, we tested the interaction term in a mixed ANOVA of the within-subjects factor (pre vs. post) and the between-subjects factor frailty. The interaction term was significant at the $p > .10$ level, ($F(1,65) = 2.48$, $p = .091$), suggesting a significant trend given the small sample size. Fig. 3 shows that the drop in TWEAK levels from pre-vaccination to post-

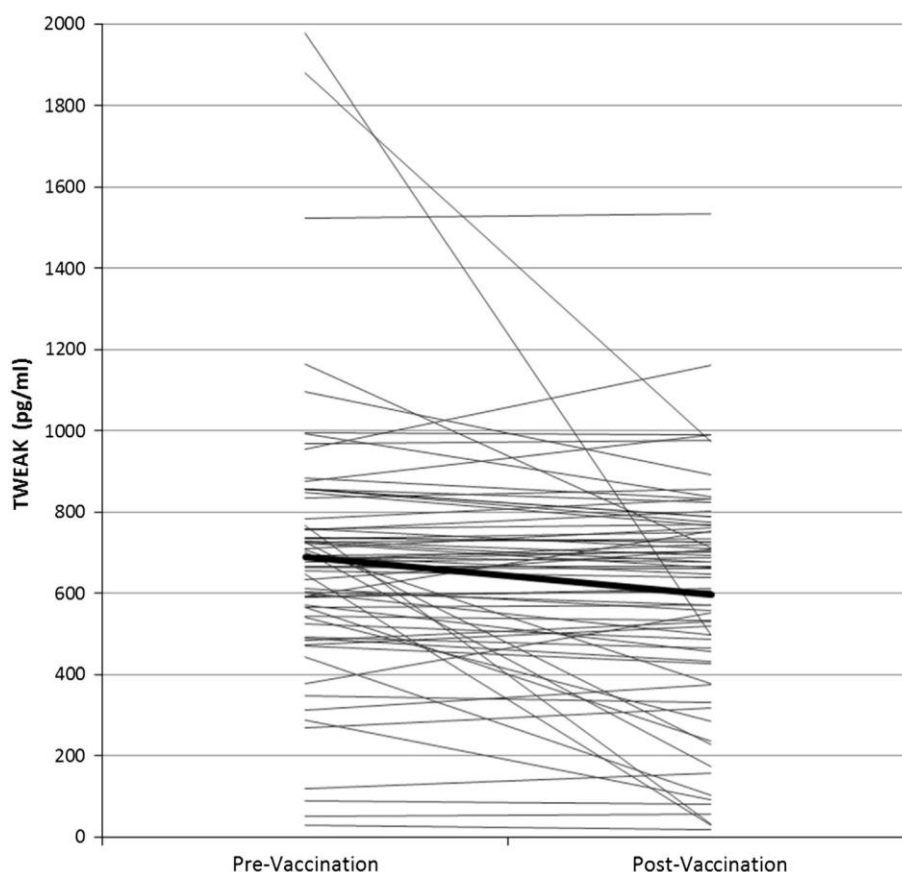


Fig. 2. TWEAK levels were measured in pre- and post-vaccination serum samples collected from the same individuals. Levels are shown for each patient. The difference between pre- and post-vaccination levels is statistically significant ($p = .003$).

Table 2

Multiple regression of post-vaccination TWEAK levels on antibody responses to influenza vaccine H1N1 strain.*

Variable	Unstandardized beta (SE)	95 CI	p value
Intercept	729.4 (85.1)	559.2, 899.6	<.001
Antibody responses to H1N1 (1-fold vs. 2-fold or greater)	-92.1 (53.6)	-199.3, 15.2	.091
TWEAK levels (pg/ml), pre-vaccine	0.51 (0.08)	0.35, 0.67	<.001
Sex	-162.2 (63.3)	-288.8, -35.5	.013
Age (years)	-1.63 (5.99)	-13.6, 13.4	.79
Hypertension	-62.6 (57.2)	-176.9, 51.7	.28

* Adjusted for age, sex, hypertension, and frailty status.

the study to detect potential changes in TWEAK levels associated with specific antibodies to other influenza vaccine strains. Because of the small sample size, we considered statistical effects at an alpha level of 0.10 as indicating an interpretable finding. Confirming these findings with a more stringent alpha level of 0.05 and larger sample size is an important future step. Whether the observed reduction of circulating TWEAK level is specific to influenza vaccine is currently unknown and deserves further investigation. The results described in this manuscript are our initial findings that help generate important hypotheses for future studies. On the other hand, influenza vaccination has been recommended in all elderly individuals and having unvaccinated controls was not possible due to ethical concerns. While seasonal, within-individual variation is possible, the interval between pre- and post-vaccination blood draws was only 3–4 weeks, making such variation very unlikely. Future studies are also recommended to evaluate persistence of this effect and potential long-term effect in improving cardiovascular outcomes. In addition, we did not measure Fn14 activity or its downstream signaling. Such measurements would require biopsy of cardiac muscle and/or vessels including coronary arteries. They are, however, critically important to further investigate the TWEAK/Fn14 pathway activation. Despite such limitations, these novel data do support our original hypothesis. Reduction of circulating TWEAK levels after influenza vaccination suggests further immune modulating effect of influenza vaccine beyond influenza prevention. It is warranted to further investigate suppression of the TWEAK-Fn14 pathway as a likely important underlying biological mechanism mediating potential beneficial effect of influenza vaccination on CVDs, a major chronic condition in older adults.

Authors' contribution

M.K.-J., O.M., M.K., S.A., H.L., and S.X.L participated in the study design, acquisition and analyzing data, and writing the article. R. R. was the primary statistician who performed descriptive and inferential analyses. All authors participated in critically reviewing the article.

Funding

This work was supported in part by NIH grant R01A108907 (PI: Sean X. Leng) and funding from the Milstein Medical Asian American Partnership (MMAAP) Foundation (<http://www.mmaapf.org>) to Drs. Sean X. Leng and Min Ouyang. Dr. Min Ouyang is an Irma and Paul Milstein Program for Senior Health fellow supported by the MMAAP Foundation (<http://www.mmaapf.org>).

Conflict of interest

Dr. Sean Leng receives high dose influenza vaccine supply from Sanofi-Pasteur for his current study. Other authors declare no conflicts of interest. The result of this study was presented as a poster at IDWeek 2016, New Orleans, LA.

References

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Heart disease facts on heart disease statistics and maps. Data are from the multiple cause of death files, 1999–2003, as compiled from data provided by the 57 vital statistics jurisdictions through the vital statistics cooperative program. https://www.cdc.gov/dhdsp/data_statistics/fact_sheets/docs/fs_heart_disease.pdf [accessed Jan 2, 2016].
- Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. The pink book: course textbook – 13th edition (015). <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/index.html> [accessed Jan 1, 2016].
- Naghavi M, Barlas Z, Siadaty S, et al. Association of influenza vaccination and reduced risk of recurrent myocardial infarction. *Circulation* 2000;102(25):3039–45.
- Siscovick DS, Raghunathan TE, Lin D, et al. Influenza vaccination and the risk of primary cardiac arrest. *Am J Epidemiol* 2000;152(7):674–7.
- Nichol KL, Nordin J, Mullooly J, et al. Influenza vaccination and reduction in hospitalizations for cardiac disease and stroke among the elderly. *N Engl J Med* 2003;348(14):1322–32.
- Smeeth L, Thomas SL, Hall AJ, et al. Risk of myocardial infarction and stroke after acute infection or vaccination. *N Engl J Med* 2004;351(25):2611–8.
- Keshtkar-Jahromi M, Vakili H, Rahnavardi M, et al. The efficacy of influenza vaccination in reducing cardiovascular events in patients with coronary artery diseases: IVCAD study. *Clin Microbiol Infect* 2009;15:395.
- Hung IF, Leung AY, Chu DW, et al. Prevention of acute myocardial infarction and stroke among elderly persons by dual pneumococcal and influenza vaccination: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2010;51(9):1007–16.
- Siriwardena AN, Gwini SM, Coupland CA. Influenza vaccination, pneumococcal vaccination, and risk of acute myocardial infarction: matched case-control study. *CMAJ* 2010;182(15):1617–23.
- Macintyre CR, Heywood AE, Kovoov P, et al. Ischaemic heart disease, influenza and influenza vaccination: a prospective case control study. *Heart* 2013;99(24):1843–8.
- Udell JA, Zawi R, Bhatt DL, et al. Association between influenza vaccination and cardiovascular outcomes in high-risk patients: a meta-analysis. *JAMA* 2013;310(16):1711–20.
- Loomba RS, Aggarwal S, Shah PH, et al. Influenza vaccination and cardiovascular morbidity and mortality: analysis of 292,383 patients. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2012;17(3):277–83.
- Clar C, Oseni Z, Flowers N, et al. Influenza vaccines for preventing cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;5.
- Chicheportiche Y, Bourdon PR, Xu H, et al. TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. *J Biol Chem* 1997;272(51):32401–10.
- Wiley SR, Cassiano L, Lofton T, et al. A novel TNF receptor family member binds TWEAK and is implicated in angiogenesis. *Immunity* 2001;15(5):837–46.
- Winkles JA. The TWEAK-Fn14 cytokine receptor axis: discovery, biology and therapeutic targeting. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7(5):411–25.
- Kim SH, Kang YJ, Kim WJ, et al. TWEAK can induce proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinase-9 in macrophages. *Circ J* 2004;68(4):396–9.
- Chorianopoulos E, Jarr K, Steen H, et al. Atherosclerosis 2010;21(1):322–6.
- Novoyatleva T, Wiebke J, Wietelmann A, et al. TWEAK/Fn14 axis is a positive regulator of cardiac hypertrophy. *Cytokine* 2013;64:43–5.
- Sastre C, Fernández-Laso V, Madrigal-Matute J, et al. Genetic deletion or TWEAK blocking antibody administration reduce atherosclerosis and enhance plaque stability in mice. *J Cell Mol Med* 2014;18(4):721–34.
- Blanco-Colio LM. TWEAK/Fn14 axis: a promising target for the treatment of cardiovascular diseases. *Front Immunol* 2014;5(3).
- Yao X, Hamilton RG, Weng NP, et al. Frailty is associated with impairment of vaccine-induced antibody response and increase in post-vaccination influenza infection in community-dwelling older adults. *Vaccine* 2011;29(31):5015–21.
- Fried LP, Tangen CM, Walston J, et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001;56(3):M146–56.
- Pangman VC, Sloan J, Guse L. An examination of psychometric properties of the mini-mental state examination and the standardized mini-mental state examination: implications for clinical practice. *Appl Nurs Res* 2000;13(4):209–13.
- Novoyatleva T, Sajjad A, Engel FB. TWEAK-Fn14 cytokine-receptor axis: a new player of myocardial remodeling and cardiac failure. *Front Immunol* 2014;5:50.
- Moller HJ, Aerts H, Grønbaek H, et al. Soluble CD163: a marker molecule for monocyte/macrophage activity in disease. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2002;237:29–33.
- Tajrishii MM, Zheng TS, Burkly LC, et al. The TWEAK-Fn14 pathway: a potent regulator of skeletal muscle biology in health and disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 2014;25(2):215–25.
- Leng SX, Xue Q, Tian J, et al. Inflammation and frailty in older women. *J Am Geriatr Soc* 2007;55:864–71.
- Chen XJ, Mao GX, Leng SX. Frailty syndrome: an overview. *Clin Interv Aging* 2014;9:433–41.



Review

Cardioprotective effect of influenza and pneumococcal vaccination in patients with cardiovascular diseases



Andrzej Ciszewski*

Institute of Cardiology, Warsaw, Poland

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 August 2017
Received in revised form 24 November 2017
Accepted 28 November 2017
Available online 6 December 2017

Keywords:

Influenza vaccination
Pneumococcal vaccination
Cardiovascular diseases
Heart failure
Coronary heart disease
Atherosclerosis
Acute coronary syndrome

ABSTRACT

Due to the wide interaction between the respiratory and the circulatory systems, influenza and pneumococcal vaccinations are recommended in the prevention and treatment of cardiovascular diseases. The review summarizes the results of recent studies and meta-analyses demonstrating that in this group of high-risk patients both vaccinations have potentially beneficial properties. However, in the era of Evidence Base Medicine, there is still a lack of randomized prospective clinical trials, especially those evaluating the effect of pneumococcal vaccination. As the burden of cardiovascular diseases represents various pathologies, it is important to point that the beneficial effect of vaccination is more pronounced in the atherosclerotic etiology, especially in patients after recent coronary events. This information contributes significantly to the appreciation of the role of the adaptive and innate immunity in atherosclerosis, which is now considered as immuno-inflammatory process driven by LDL-cholesterol intimal infiltration and macrophages activation. The mechanism of the cardioprotective effect of vaccination may not only be associated with the elimination of infections and their complications, but also related to the modification of the immuno-inflammatory model of atherosclerosis.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Contents

1. Introduction	202
2. Influenza vaccination	203
2.1. Recent contribution	203
2.2. Lack of evidence and study direction	203
3. Pneumococcal vaccination	204
3.1. Recent contribution	204
3.2. Lack of evidence and study direction	204
4. The mechanism of a possible cardioprotective effect of influenza and pneumococcal vaccination on the heart and the cardiovascular system	204
5. The “healthy user” effect	206
6. Closing remarks	206
Conflict of interest	206
References	206

1. Introduction

There is a wide interaction between cardiovascular and respiratory pathologies. The recent Guidelines on Prevention of Cardiovascular Diseases of the European Society of Cardiology

(ESC) recommend influenza vaccination in the prevention and treatment of the whole spectrum of cardiovascular diseases (CVD). The power of recommendation (class IIb/level C – “action may be considered”) is not strong and based on experts' opinions, small randomized and retrospective studies [1]. Some other ESC Guidelines declared stronger recommendation (Class I – “action is indicated”) for influenza and interestingly also for pneumococcal vaccination in specific subsets of CVD (Table 1).

* Address: Institute of Cardiology, Alpejska 42, 04-628 Warszawa, Poland.
E-mail address: aciszewski@ikard.pl

Table 1

Recommendations for influenza and pneumococcal vaccination in the current guidelines of the European Society of Cardiology.

Type of guidelines	Year of publication	Recommended vaccination	Power of recommendation
Prevention of Cardiovascular Diseases	2016	Influenza	Class IIb/Level C
Acute and Chronic Heart Failure – prevention and treatment	2016	Influenza and pneumococcal vacc.	According to local guidelines
Pulmonary Hypertension	2015	Influenza and pneumococcal vacc.	Class I/Level C
Stable Coronary Artery Disease	2013	Influenza vacc.	Class I/Level C

Respiratory infection is a leading cause of hospitalization among patients with heart failure (HF) and is associated with increased in-hospital mortality rates [2]. Epidemiological data confirmed a link between pneumococcal and influenza infections and cardiovascular events. Corrales-Medina et al. found a 4-fold higher risk of a myocardial infarction, cardiovascular death or cardiac hospitalization in 30 days after pneumonia, which declines progressively, but remains 1.5-fold higher for up to 10 years [3]. Smeeth et al. in another study reported significantly higher rate of myocardial infarction during a 90-day period after acute lower respiratory tract infection [4]. Numerous studies have shown that influenza vaccinations reduce mortality, hospitalization, acute coronary syndromes (ACS) in patients with coronary heart disease (CHD) and/or HF [5–7]. Recent years have provided us with interesting results of new clinical studies and meta-analyses as well as data about possible mechanisms of the cardioprotective effect of vaccinations. However, the efficacy of pneumococcal vaccination remains not well established, as there have been no randomized clinical trials (RCT) in this field and many studies had negative results [8–10].

2. Influenza vaccination

2.1. Recent contribution

The results and findings of several new randomized clinical trials (RCT) confirmed previous data about beneficial effects of influenza vaccination on the clinical course of CHD [5,6] (Table 2). The number of patients observed in randomized trials increased significantly thus enabling the effect of vaccination on mortality to be

evaluated. Clar et al. in a meta-analysis of more than 12 thousand patients from 8 RCTs found a significant reduction in cardiovascular mortality among patients vaccinated against influenza: RR 0.45 (95%CI 0.26–0.76), $p = .003$ [7].

Heart failure is a growing epidemiological problem of populations in developed countries. The overlap between pulmonary congestion, respiratory infection and decompensation of chronic HF is evident and intuitive for clinicians. The guidelines for the prevention and treatment of acute and chronic HF recommend both influenza and pneumococcal vaccination invariably and for the longest period [11]. Recently, Mohseni et al. published an elegant self-controlled study on a large population with HF and found that during a year after a patient was vaccinated against influenza, the risk for hospitalization due to CVD was significantly lower than in a year a patient was not vaccinated: IRR 0.73 (0.71–0.76) [12] (Table 2).

The *post hoc* analysis of the PARADIGM-HF Trial, which recently introduced neprilysin inhibitor to HF treatment, also confirmed that influenza vaccination was associated with a lower risk for all-cause mortality: HR 0.81 (0.67–0.97), $p = .015$ [13] This study gives us also information about the real rate of vaccination against influenza among HF patients across the world. It varies significantly being nearly 80% in Holland and Great Britain through 10–30% in such countries as Slovakia, Brasil and Korea to less than 2% in China, Russia and Bulgaria.

2.2. Lack of evidence and study direction

The burden of CVD and particularly HF represents a large number of various pathologies and it remains unclear how etiology,

Table 2

Significant studies evaluating the effect of influenza and pneumococcal vaccination on the course of cardiovascular diseases published in recent years. Abbreviations: CHD - coronary heart disease, HF - heart failure, LVEF - left ventricle ejection fraction, ACS - acute coronary syndrome.

Publication	Methods and study group	Results
Phrommintikul A et al. Eur Heart J 2011;32(14):1730–5	Prospective randomized clinical trial.439 CHD p. (32% p. with HF)	Influenza vaccination: Reduction of Coronary Events: 9.5% vs 19.3%, RR 0.70, 95%CI 0.57–0.86
Clar et al. Cochrane Database 2015; Issue 5. Art.No: CD005050	Meta-analysis of randomized clinical trials. 12,029p. with CHD	Influenza vaccination: Reduction of cardiovascular mortality: RR 0.45, 95%CI 0.26–0.76
Vardeny O et al. JACC Heart Fail 2016;4:152–8	Post-hoc PARADIGM_HF Trial 8099p with LVEF \leq 40%	Influenza vaccination: Reduction of all-cause mortality: HR 0.81;95%CI: 0.67–0.97
Mohseni H et al. Eur Heart J 2017;38:326–33	Self-controlled 59,202p with HF	Influenza vaccination: Reduction of cardiovascular hospitalization: HR 0.73, 95%CI: 0.71–0.76 Reduction of hospitalization due to respiratory infection: HR 0.83; 95% CI: 0.77–0.90
Wu W-C et al. Am Heart J 2014;168:713–20	Retrospective study 107,045p with LVEF \leq 40%	Pneumococcal vaccination: Reduction of one-year mortality: AOR 0.77, 95%CI:0.62–0.96 Influenza vaccination: Reduction of 30-day mortality: AOR 0.51, 95%CI: 0.51–0.77 and one-year mortality: AOR 0.75, 95% CI: 0.58–0.96
Lamontagne F et al. CMAJ 2008;179(8):773–7	Case-control 4995 p with high cardiovascular risk	Pneumococcal vaccination: Reduction of ACS incidence: OR 0.53, 95%CI: 0.40–0.70
Ren S I et al. Open Heart 2015;2:e000247	Meta-analysis of observational studies 230,426p with ACS	Pneumococcal vaccination: Reduction of ACS incidence in p \geq 65 years old: OR 0.83, 95%CI: 0.71–0.97
Siriwardena AN et al. CMAJ 2010;182(15): 1617–23	Case-control 16012 p with first Myocardial Infarction	Influenza vaccination: Reduction of Myocardial Infarction: OR 0.81, 95%CI 0.77–0.83 Pneumococcal vaccination: negative result
Ochoa-Gondar O et al. Vaccine 2014;32:252–7	Prospective cohort study, 27,204p, age > 60 years	No effect on Myocardial Infarction: OR 0.96, 95%CI 0.91–1.02 Pneumococcal vaccination: negative study No effect on all-cause death: HR:0.97, 95%CI: 0.89–1.05 and no effect on risk of Myocardial Infarction HR:0.95, 95%CI: 0.76–1.18

functional or demographic status modify the effect of influenza vaccination. Data analysis from different studies shows that the beneficial effect of influenza vaccination is more pronounced in the atherosclerotic etiology, especially after recent ACS or coronary intervention [5,14]. Most HF studies have been focused on patients with reduced left ventricular ejection fraction (EF). As now the population of patients with HF and preserved left ventricular function is observed to increase abruptly, there is a large gap in data concerning this group of patients. Another problem defined in recent years is that HF is often accompanied by a depressed immune response. Vardeny et al. suggest that upregulation of the sympathetic nervous system in HF, via modulation of beta2 adrenergic receptors decreases the antibody immune response [15]. Thus a high-dose influenza vaccination in HF has been proposed and remains under clinical and immunological evaluation [16]. Interestingly, Srihuthorn et al. found that beta-blockers, which reduce the sympathetic upregulation in HF, significantly improve the effect of influenza vaccination in HF [17].

Respiratory infections have important seasonal variations in many countries. Thus the beneficial effect of vaccination may be different in different years, may depend on the time of vaccination and may be limited only to the epidemic season. Siriwarenda et al. noticed that early vaccination (September – mid-November in the northern hemisphere) protected against acute myocardial infarction significantly better than later vaccination (after mid-November) (OR 0.90, 95% CI 0.82–1.00, $p = .42$), and that repeated vaccination (consecutive 5 seasons) protected better than vaccination only during the current season [8]. The duration of the protective effect of influenza vaccination against cardiovascular events remains a subject of controversy. In many studies, it is up to 12 months long and extends the influenza epidemiological season [6,8,14]. In other studies it is restricted to the epidemiological season [18]. The hypothetic pleiotropic effect of vaccination is discussed in section “The specific mechanism”.

Another problem, still unresolved, is a theoretically possible difference between countries with vs those without seasonal variations of influenza or pneumococcal infections. In their study from Thailand, Phrommintikul et al. reported a significant reduction in MACE (HR 0.70:0.57–0.86, $p = .004$) and no effect on mortality, in patients after recent ACS vaccinated against influenza [6]. In this study, as in other countries from tropical regions, patients were vaccinated along the whole year and the authors failed to mention any differences in the number of events between the rainy and dry seasons.

3. Pneumococcal vaccination

3.1. Recent contribution

Streptococcus pneumoniae (*Str.pneumoniae*) is a leading cause of community-acquired pneumonia and hospitalization due to respiratory infections [19]. Many epidemiological studies have shown a 2–8-fold increase of ACS, HF and of the incidence of arrhythmia in a short-term period after pneumonia [3,19]. Some studies have also shown a long-term, up to 10 years, increased risk for cardiovascular events after pneumonia and postulated pneumonia to be considered a new independent cardiovascular risk factor [10].

It is important to mention that there have been no prospective RCTs evaluating the effect of pneumococcal vaccination on clinical course of cardiovascular diseases and many studies have had negative results [8,21]. The recommendations for pneumococcal vaccination in patients with CVD are based on consensus of experts' opinion and retrospective epidemiological studies [3,10]. Recently Wu et al., in a large study of 1,07,045 patients with HF, reported that pneumococcal vaccination was associated with a significant reduction of one-year mortality: AOR 0.77, 95%CI:0.62–0.96 [20].

However Siriwarenda et al. and Ochoa-Gondar et al. in their large negative studies found no effect of pneumococcal vaccination on the mortality and on the risk for myocardial infarction [8,9]. As protective antibodies titers after pneumococcal vaccination are present for several years, guidelines recommend revaccination each 5 years. In studies with positive results beneficial effect of vaccination begins in second year after vaccination and is driven by the older population [10,16,20].

3.2. Lack of evidence and study direction

Since the importance of Evidence Base Medicine is constantly growing, the lack of RCTs evaluating the effect of pneumococcal vaccination on the course of CVD creates an important problem, as some studies yield negative or conflicting results [8–10]. Experts agree that there is a need for large prospective RCTs evaluating the effect of pneumococcal vaccination in p. with established CVD (secondary prevention) and in patients with cardiovascular risk factors (primary prevention). Patients in such studies should represent a large spectrum of CVDs, particularly: ischemic vs non-ischemic etiology, arrhythmias, p. with preserved vs reduced EF. As the previous studies were usually focused on older population, special attention should be paid to the results of future studies on population under 65 years of age. There is a shortage of information about the effect of vaccination between countries with seasonal and those without seasonal variations of pneumonia. Such a difference may be influenced by different geographical serotype distributions, or also differences in vaccine uptake and surveillance systems [21].

4. The mechanism of a possible cardioprotective effect of influenza and pneumococcal vaccination on the heart and the cardiovascular system

There are two possible mechanisms of a protective effect of influenza and pneumococcal vaccination on the heart and on the course of CVD (Fig. 1).

The unspecific mechanism considers influenza and pneumococcal pneumonia as two most common worldwide acute infections associated with a sudden onset of fever, tachycardia, dehydration, hypoxemia, endothelial dysfunction, hypercoagulation and bolus secretion of pro-inflammatory mediators. Such a stress may be devastating for patients with chronic HF or angina on optimal pharmacological treatment as well as for asymptomatic individuals with depressed left ventricular function or severe coronary stenosis. In such patients acute infection frequently causes acute heart failure, pulmonary edema or destabilization of angina with ACS or sudden cardiac death [5,10,12]. The unspecific mechanism was recently strongly supported by the inflammatory theory of atherosclerosis and the theory of thin-cap fibroatheroma rupture as a cause of ACS [22,23]. Atherosclerosis is no longer considered a degenerative disease, but as an inflammatory process of the arterial wall driven by LDL-cholesterol intimal infiltration and macrophages activation. It is a chronic process with stable periods, as well as intervals of acute destabilization, formation of vulnerable plaque leading to ACS. The results and findings of these studies have made CRP and other mediators of inflammation become novel cardiovascular risk factors better reflecting mid- and short-term risks for myocardial infarction than the cholesterol level does [24]. Pro-inflammatory cytokines released during the atherosclerotic process have several different cardiac and vascular effects. They cause leukocytes migration and differentiation (CRP), depressed NO secretion (sphingomyelinase), direct depression of contractility (TNF- α , interleukin-1 β), rupture of unstable plaque and cardiac remodeling (metalloproteinases) [24]. The unspecific

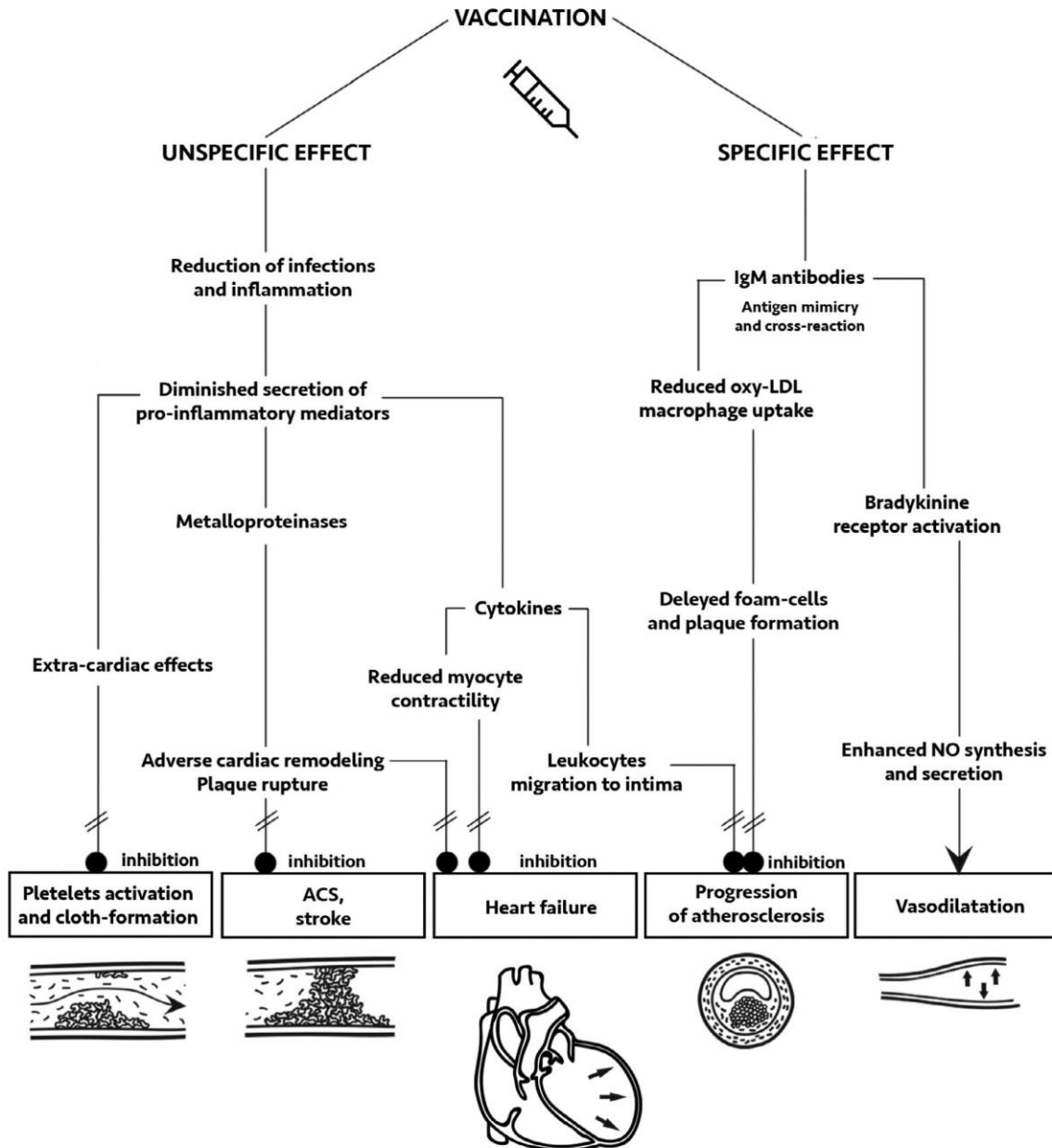


Fig. 1. Proposed cardioprotective mechanism of influenza and pneumococcal vaccination.

protective effect of vaccination is then associated with the elimination of most common infections which may destabilize the chronic atherosclerotic inflammation of the arterial wall by sudden activation of an inflammatory cascade. Several studies have also reported an increased risk for cardiovascular complications after urinary, gastrointestinal and peridental infections. A good resume of the unspecific mechanism is an interesting concept of a cumulative “infectious burden” as a risk factor of cardiovascular events [25].

The specific mechanism assumes particular immunogenic properties of the influenza virus and *Str. pneumoniae*. Most studies on influenza vaccination in patients with CHD have surprisingly found that the protective effect of vaccination was not restricted to flu season. The number of cardiac events in vaccinated patients was also reduced in summer months and extended to the next vaccination time covering a period generally free from virus circulation [5,6,12]. In order to explain this pleiotropic effect Madjid

and Naghavi proposed an “antigen mimicry” between influenza virus and the antigens of atherosclerotic plaque [26]. Other authors found correlations between titers of antibodies against influenza hemagglutinin A and antibodies to oxidized LDL-lipoproteins in p. with rapid progression of atherosclerosis and suggested that this autoimmune “cross-reaction” was a link between influenza and atherosclerosis [27]. Some experts have serious doubts about the pleiotropic effect of vaccination and suggest that an extension of the beneficial effect of influenza vaccination may be related to the “healthy user” effect or biased methodology.

Str. pneumoniae is also a potent antigen which may interact with the immuno-inflammatory mechanism of atherosclerosis. Binder et al. reported in an animal model a 40% reduction of atherosclerotic plaque after pneumococcal vaccination [28]. Lamontage et al. found in a clinical case-control study that vaccination against pneumococcal pneumonia significantly reduced the

risk for ACS development (OR 0.53, 95%CI: 0.40–0.70) [29]. The authors proposed “antigen mimicry” between oxidized LDL and *Str. Pneumoniae* as an explanation of the phenomenon observed. According to the authors, IgM antibodies against *Str. pneumoniae* arisen after vaccination recognized also oxidized LDL and reduced their uptake by macrophages, which decelerated plaque formation and progression. Despite several years having elapsed since their publication, these results were not confirmed by other authors, however they contribute to the appreciation of the role of the adaptive and innate immunity in atherosclerosis.

5. The “healthy user effect”

The majority of data on influenza vaccination, and practically all data on the influence of pneumococcal vaccination on the clinical course of CVD derive not from RCTs but from retrospective and epidemiological studies. Many experts emphasize the substantial difference between vaccinated and unvaccinated population of these studies. Vaccinated persons, so called “healthy-users” represent health-promoting behavior which affects not only vaccination but also physical activity, nutrition, personal care, frequent medical contacts and thousands of daily unconscious decisions that may not be eliminated even by sophisticated propensity statistical methods. In such a situation the results of published studies should be treated with caution and special attention to the methodology and potential biased evaluation.

6. Closing remarks

For scientists, the large area is still unrecognized and many questions remain unanswered. Yet, as clinicians, we should rely on the majority of published results and guidelines that shows beneficial effects of influenza vaccination on patients with CVD. The efficacy of pneumococcal vaccination remains not well proved as many studies had negative results and there were no RCTs in this field. However, a higher rate of cardiovascular mortality and morbidity following pneumococcal pneumonia is well documented and consistent with clinical experience and expert opinions [3,8]. Vaccination is a low-cost potentially lifesaving procedure. We can expect that due to increasing antibiotic-resistance and aging of the population the role of vaccination will grow rapidly and should become a first line of prevention of avoidable infections and their cardiovascular complications. For many countries seeking the reduction of health-care costs, influenza and pneumococcal vaccinations in high risk patients remain a missed opportunity. The results observed in the countries and organizations that reached in p. with heart failure a vaccination rate of nearly 80% for influenza (Holland, Great Britain) and nearly 90% for pneumococcal pneumonia (US Veterans Health Administration) point that successful models are available and waiting for implementation.

Conflict of interest

I declare no conflict of interest.

References

- Piepoli F, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. The Sixth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice Developed with the special contribution of the European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR). *Eur Heart J* 2016;37:2315–81. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw106>.
- Fonarow GC, Abraham WT, Albert NM, Stough WG, Gheorghide M, Greenberg BH, et al. Factors identified as precipitating hospital admissions for heart failure and clinical outcomes: findings from OPTIMIZE-HF. *Arch Intern Med* 2008;168:847–54.
- Corrales-Medina VF, Alvarez KN, Weissfeld LA, Angus DC, Chirinos JA, Choung-Chou HC, et al. Association between hospitalization from pneumonia and subsequent risk of cardiovascular disease. *JAMA* 2015;313(3):264–74.
- Smeeth L, Thomas SL, Hall AJ, Hubbard R, Farrington P, Vallance P. Risk of myocardial infarction and stroke after acute infection or vaccination. *N Engl J Med* 2004;351:2611–8.
- Udell JA, Zawi R, Bhatt DL, Keshkar-Jahromi M, Gaughran F, Phrommintikul A, et al. Association between influenza vaccination and cardiovascular outcomes in high-risk patients. A meta-analysis. *JAMA* 2013;310(16):1711–20.
- Phrommintikul A, Kuanprasert S, Wongcharoen W, Kanjanavanit R, Chaiwarith R, Sukonthasarn A. Influenza vaccination reduces cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome. *Eur Heart J* 2011;32(14):1730–5.
- Clar C, Oseni Z, Flowers N, Keshkar-Jahromi M, Rees K. Influenza vaccines for preventing cardiovascular disease (Review). *Cochrane database of Systematic Reviews* 2015, Issue 5. Art. No.:CD005050.
- Siriwardena AN, Gwini SM, Coupland C. Influenza vaccination, pneumococcal vaccination and risk of acute myocardial infarction: matched case-control study. *CMAJ* 2010;182(15):1617–23.
- Ochoa-Gondar O, Viola-Corcoles A, Rodriguez-Blanco T, Diego-Cabanes C, Hospital-Guardiola I, Jarrod-Pamies M. Evaluating the clinical effectiveness of pneumococcal vaccination in preventing myocardial infarction: The CAPAMIS study, three-year follow-up. *Vaccine* 2014;32:252–7.
- Ren S, Newby D, Li SC, Walkom E, Miller P, Hure A, et al. Effect of the adult pneumococcal polysaccharide vaccine on cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Open Heart* 2015;2(1):e000247.
- ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2016;37:2129–200.
- Mohseni H, Kiran A, Khorshidi R, Rahimi K. Influenza vaccination and risk for hospitalization in patients with heart failure: a self-controlled case series study. *Eur Heart J* 2017;38:326–33.
- Vardeny O, Clagget B, Udell JA, Packer M, Zile M, Rouleau J, et al. Influenza vaccination in patients with chronic heart failure. The PARADIGM-HF Trail. *J Am Coll Cardiol HF* 2016;4:152–8.
- Ciszewski A, Bilińska ZT, Brydal LB, Kepka C, Kruk M, Romanowska M, et al. Influenza vaccination in secondary prevention from coronary ischemic events in coronary artery disease: FLUCAD study. *Eur Heart J* 2008;29(11):1350–8.
- Vardeny O, Sweitzer NK, Detry MA, Moran JM, Johnson MR, Hayney MS. Decreased immune responses to influenza vaccination in patients with heart failure. *J Card Fail* 2009;15:368–73.
- Bhatt AS, De Vore AD, Hernandez AF, Mentz RJ. Can vaccination improve heart failure outcomes? Contemporary data and future directions. *J Am Coll Cardiol HF* 2017;5:194–203.
- Sribhutorn A, Phrommintikul A, Wongcharoen W, Chaikledkaew U, Eakanunkul S, Sukonthasarn A. The modification effect of influenza vaccine on prognostic indicators for cardiovascular events after acute coronary syndrome: observations from influenza vaccination trail. *Cardiol Res Pract* 2016, Article ID 4097471 (9p).
- Blaya-Novakova V, Prado-Galbarro FJ, Sarria-Santamera A. Effects of annual influenza vaccination on mortality in patients with heart failure. *Eur J Public Health* 2016;26(5):890–2.
- Musher DM, Rueda AM, Kaka AS, Mapara SA. The association between pneumococcal pneumonia and acute cardiac events. *Clin Infect Dis* 2007;45:158–65.
- Wu WC, Jiang L, Friedmann PD, Trivedi A. Association between process quality measures for heart failure and mortality among US veterans. *Am Heart J* 2014;168:713–20.
- Myint TTH, Madhava H, Balmer P, Christipoulou D, Attal S, Menegas D, et al. The impact of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal disease: a literature review. *Adv Ther* 2013;30:127–51.
- Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient. A call for new definitions and risk assessment strategies. Part I. *Circulation* 2003;108:1664–72.
- Benzon JF, Otsuka F, Virmani R, Falk E. Mechanism of plaque formation and rupture. *Circ Res*. 2014;114:1852–66.
- Denesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004;350(14):1387–97.
- Epstein SE, Zhou YF, Zhu J. Infection and atherosclerosis: emerging mechanistic paradigms. *Circulation* 1999;100:e20–8.
- Madjid M, Naghavi M, Litovsky S, Casscells W. Influenza and cardiovascular disease. A new opportunity for prevention and the need for further studies. *Circulation* 2003;108:2730–6.
- Veljkovic V, Glisic S, Veljkovic N, Bojic T, Dietrich U, Perovic VR, Colombatti A. Influenza vaccine as prevention for cardiovascular diseases: possible molecular mechanism. *Vaccine*. 2014;32(48):6569–75.
- Binder CJ, Horrocks S, Dewan A. Pneumococcal vaccination decreases atherosclerotic lesion formation: molecular mimicry between *Streptococcus pneumoniae* and oxidized LDL. *Nat Med* 2003;9:736–43.
- Lamotagne F. Pneumococcal vaccination and risk of myocardial infarction. *CMAJ* 2008;179(8):773–7.

BIBLIOGRAPHIE

1. Global Health Estimates 2016 : Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. Geneva, World Health Organization; 2018. [En ligne]. Disponible sur http://www.who.int/cardiovascular_diseases/about_cvd/fr/. (Consulté le 12/06/2018).
2. Leal J, Luengo-Fernández R, Gray A, Petersen S, Rayner M. Economic burden of cardiovascular diseases in the enlarged European Union. *Eur Heart J*. 2006;27(13):1610-9.
3. Bulletin épidémiologique grippe. Semaine 9. Saison 2016-2017. Point au 8 mars 2017 [En ligne]. 2017. Disponible sur : <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Grippe/Grippe-generalites/Donnees-de-surveillance/Archives/Bulletin-epidemiologique-grippe-semaine-9.-Saison-2016-2017>. (Consulté le 12/6/2018).
4. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature*. 14 sept 2000;407(6801):233-41.
5. Pugsley MK, Tabrizchi R. The vascular system An overview of structure and function. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2000;44(2):333-40.
6. World Health Organization.. Classification des lésions d'athérosclérose: rapport d'un groupe d'étude.1958 [réuni à Washington du 7 au 11 octobre 1957].
7. Stary, Herbert C., et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 92.5 (1995): 1355-1374.
8. Sakakura K, Nakano M, Otsuka F, Ladich E, Kolodgie FD, Virmani R. Pathophysiology of Atherosclerosis Plaque Progression. *Heart Lung Circ*. 2013;22(6):399-411.
9. Konstantinov IE, Mejevoi N, Anichkov NM, Nikolai N. Anichkov and His Theory of Atherosclerosis. *Tex Heart Inst J*. 2006;33(4):417-23.
10. Ross R. Atherosclerosis -- An Inflammatory Disease. *N Engl J Med*. 1999;340:115-26.
11. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *The Lancet*. nov 1992;340(8828):1111-5.
12. Hansson GK. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *N Engl J Med*. 2005;352(16):1685-95.
13. Libby P. Changing concepts of atherogenesis. *J Intern Med*. 2000;247(3):349-58.
14. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: The Road Ahead. *Cell*. 2001;104(4):503-16.
15. Tedgui A, Mallat Z. Athérosclérose et inflammation. *médecine/sciences*. 2001;17(2):162.
16. Andersson J, Libby P, Hansson GK. Adaptive immunity and atherosclerosis. *Clin Immunol*. 2010;134(1):33-46.
17. Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in Atherosclerosis: Pathogenic and Regulatory Pathways. *Physiol Rev*. 2006;86(2):515-81.
18. Pant S, Deshmukh A, GuruMurthy GS, Pothineni NV, Watts TE, Romeo F, et al. Inflammation and Atherosclerosis—Revisited. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2014;19(2):170-8.
19. Libby P, Simon DI. Inflammation and Thrombosis : The Clot Thickens. *Circulation*. 2001;103(13):1718-20.
20. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons From Sudden Coronary Death : A Comprehensive Morphological Classification Scheme for Atherosclerotic Lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(5):1262-75.
21. Virmani R, Burke AP, Kolodgie FD, Farb A. Vulnerable Plaque: The Pathology of Unstable Coronary Lesions. *J Intervent Cardiol*. 2002;15(6):439-46.
22. Shah PK. Mechanisms of plaque vulnerability and rupture. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(4):S15-22.
23. Smith SC, Benjamin EJ, Bonow RO, Braun LT, Creager MA, Franklin BA, et al. AHA/ACCF Secondary Prevention and Risk Reduction Therapy for Patients With Coronary and Other Atherosclerotic Vascular Disease: 2011 Update. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58(23):2432-46.
24. Libby P, Aikawa M. Stabilization of atherosclerotic plaques: New mechanisms and clinical targets. *Nat Med*. 2002;8(11):1257-62.

25. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory Enlargement of Human Atherosclerotic Coronary Arteries. *N Engl J Med.* 1987;316(22):1371-5.
26. Newby AC. Metalloproteinases and Vulnerable Atherosclerotic Plaques. *Trend Cardiovasc Med.* 2007;17(8):253-8.
27. Kockx M. Apoptosis in atherosclerosis: beneficial or detrimental? *Cardiovasc Res.* 2000;45(3):736-46.
28. Tabas I. Consequences and Therapeutic Implications of Macrophage Apoptosis in Atherosclerosis: The Importance of Lesion Stage and Phagocytic Efficiency. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(11):2255-64.
29. Drouet L. Atherothrombosis as a Systemic Disease. *Cerebrovasc Dis.* 2002;13(Suppl. 1):1-6.
30. Madamanchi NR. Oxidative Stress and Vascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;(25):29-38.
31. Ait-Oufella H, Tedgui A, Mallat Z. L'athérosclérose : une maladie inflammatoire. *Sang Thromb Vaiss* 2008. 25-33;20(1):9.
32. Binder CJ, Chang M-K, Shaw PX, Miller YI, Hartvigsen K, Dewan A, et al. Innate and acquired immunity in atherogenesis. *Nat Med.* 2002;8(11):1218-26.
33. Witztum JL, Lichtman AH. The Influence of Innate and Adaptive Immune Responses on Atherosclerosis. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2014;9(1):73-102.
34. Moore KJ, Tabas I. Macrophages in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Cell.* 2011;145(3):341-55.
35. Ait-Oufella H, Sage AP, Mallat Z, Tedgui A. Adaptive (T and B Cells) Immunity and Control by Dendritic Cells in Atherosclerosis. *Circ Res.* 2014;114(10):1640-60.
36. Lahoute C, Herbin O, Mallat Z, Tedgui A. Adaptive immunity in atherosclerosis: mechanisms and future therapeutic targets. *Nat Rev Cardiol.* 2011;8(6):348-58.
37. Davenport P, Tipping PG. The Role of Interleukin-4 and Interleukin-12 in the Progression of Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Am J Pathol.* 2003;163(3):1117-25.
38. Hamze M, Desmetz C, Guglielmi P. Les lymphocytes B: Une cible prometteuse pour traiter l'athérosclérose ? *médecine/sciences.* 2014;30(10):874-81.
39. Wick G, Romen M, Amberger A, Metzler B, Mayr M, Falkensammer G, et al. Atherosclerosis, autoimmunity, and vascular-associated lymphoid tissue. *FASEB J.* 1997;11(13):1199-207.
40. Wick G, Schett G, Amberger A, Kleindienst R, Xu Q. Is atherosclerosis an immunologically mediated disease? *Immunol Today.* 1995;16(1):27-33.
41. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel TF. Dysfonction endothéliale, stress oxydatif et risque d'événements cardiovasculaires chez les patients atteints de coronaropathie. *Circulation.* 2001;104(22):2673-8.
42. Negre-Salvayre A, Vindis C, Salvayre R. Signalisation apoptotique induite par les LDL oxydées Implication dans l'athérosclérose. *Ol Corps Gras Lipides.* 2006;13(1):39-45.
43. Matsuura E, Kobayashi K, Tabuchi M, Lopez L. Oxidative modification of low-density lipoprotein and immune regulation of atherosclerosis. *Prog Lipid Res.* 2006;45(6):466-86.
44. Young J, Libby P, Schönbeck U. Cytokines in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Thromb Haemost.* 2002;88(10):554-67.
45. Libby P, Sukhova G, Lee RT, et al. Cytokines regulate vascular functions related to stability of the atherosclerotic plaque. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1995;25:S9-S12.
46. Wyplosz B, Capron L. Aspects infectieux de l'athérosclérose. *médecine/sciences.* 2004;20(2):169-74.
47. Fabricant CG. Virus-induced atherosclerosis. *J Exp Med.* 1978;148(1):335-40.
48. Saikku P. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, twar, with coronary heart disease and acute myocardial infarction. *The Lancet.* 1988;332(8618):983-6.
49. Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, Levy J, Toosy T, Strachan D, et al. Relation of Helicobacter pylori infection and coronary heart disease. *Heart.* 1994;71(5):437-9.
50. Boman J, Hammerschlag MR. Chlamydia pneumoniae and Atherosclerosis: Critical Assessment of Diagnostic Methods and Relevance to Treatment Studies. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15(1):1-20.

51. Farsak B, Yildirim A, Akön Y, Pinar A, ÖÇ M, Böke E, et al. Detection of Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori DNA in Human Atherosclerotic Plaques by PCR. *J Clin Microbio*. 2000;38(12):4408-11.
52. Morre SA. Microorganisms in the aetiology of atherosclerosis. *J Clin Pathol*. 2000;53(9):647-54.
53. Blessing E, Campbell LA, Rosenfeld ME, Chough N, Kuo C-C. Chlamydia pneumoniae infection accelerates hyperlipidemia induced atherosclerotic lesion development in C57BL/6J mice. *Atherosclerosis*. 2001;158(1):13-7.
54. Ezzahiri R, Stassen FRM, Kurvers HAJM, van Pul MML, Kitslaar PJEHM, Bruggeman CA. Chlamydia pneumoniae infection induces an unstable atherosclerotic plaque phenotype in LDL-receptor, ApoE double knockout mice. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2003;26(1):88-95.
55. Naghavi M. Influenza Infection Exerts Prominent Inflammatory and Thrombotic Effects on the Atherosclerotic Plaques of Apolipoprotein E-Deficient Mice. *Circulation*. 2003;107(5):762-8.
56. Haidari M, Wyde PR, Litovsky S, Vela D, Ali M, Casscells SW, et al. Influenza virus directly infects, inflames, and resides in the arteries of atherosclerotic and normal mice. *Atherosclerosis*. 2010;208(1):90-6.
57. Chatzidimitriou D, Kirmizis D, Gavriilaki E, Chatzidimitriou M, Malisiovas N. Atherosclerosis and infection: is the jury still not in? *Future Microbiol*. 2012;7(10):1217-30.
58. Corrales-Medina VF, Madjid M, Musher DM. Role of acute infection in triggering acute coronary syndromes. *Lancet Infect Dis*. 2010;10(2):83-92.
59. Dahal U, Sharma D, Dahal K. An Unsettled Debate About the Potential Role of Infection in Pathogenesis of Atherosclerosis. *J Clin Med Res*. 2017;9(7):547-54.
60. Epstein SE, Zhu J, Burnett MS, Zhou YF, Vercellotti G, Hajjar D. Infection and Atherosclerosis : Potential Roles of Pathogen Burden and Molecular Mimicry. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(6):1417-20.
61. Julkunen I. Molecular pathogenesis of influenza A virus infection and virus-induced regulation of cytokine gene expression. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2001;12(2-3):171-80.
62. Portela A, Zürcher T, Nieto A, Ortín J. Replication of Orthomyxoviruses. In: *Advances in Virus Research* [Internet]. Elsevier; 1999 [cité 4 sept 2018]. p. 319-48. Disponible sur: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S006535270860370X>
63. Bahadoran A, Lee SH, Wang SM, Manikam R, Rajarajeswaran J, Raju CS, et al. Immune Responses to Influenza Virus and Its Correlation to Age and Inherited Factors. *Front Microbiol* [Internet]. 22 nov 2016 [cité 4 Aout 2018];7. Disponible sur: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.01841/full>
64. Müller KH, Kakkola L, Nagaraj AS, Cheltsov AV, Anastasina M, Kainov DE. Emerging cellular targets for influenza antiviral agents. *Trends Pharmacol Sci*. 2012;33(2):89-99.
65. Wilson IA, Skehel JJ, Wiley DC. Structure of the haemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus at 3 Å resolution. *Nature*. 1981;289(5796):366-73.
66. Collins SD. Excess Mortality from Causes Other than Influenza and Pneumonia during Influenza Epidemics. *Public Health Rep 1896-1970*. 1932;47(46):2159.
67. Spencer FA, Goldberg RJ, Becker RC, Gore JM. Seasonal Distribution of Acute Myocardial Infarction in the Second National Registry of Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31(6):1226-33.
68. Monto AS, Ullman BM. Acute respiratory illness in an American community. The Tecumseh study. *JAMA*. 1974;227:164-169.
69. Madjid M, Miller CC, Zarubaev VV, Marinich IG, Kiselev OI, Lobzin YV, et al. Influenza epidemics and acute respiratory disease activity are associated with a surge in autopsy-confirmed coronary heart disease death: results from 8 years of autopsies in 34 892 subjects. *Eur Heart J*. 2007;28(10):1205-10.
70. Meier CR, Jick SS, Derby LE, Vasilakis C, Jick H, Meier C, et al. Acute respiratory-tract infections and risk of first-time acute myocardial infarction. *The Lancet*. 1998;351(9114):1467-71.
71. Smeeth L, Hubbard R. Risk of Myocardial Infarction and Stroke after Acute Infection or Vaccination. *N Engl J Med*. 2004;351(25):2611-8.
72. Nguyen JL, Yang W, Ito K, Matte TD, Shaman J, Kinney PL. Seasonal Influenza Infections and Cardiovascular Disease Mortality. *JAMA Cardiol*. 2016;1(3):274.
73. Barnes M, Heywood AE, Mahimbo A, Rahman B, Newall AT, Macintyre CR. Acute myocardial infarction and influenza: a meta-analysis of case-control studies. *Heart*. 2015;101(21):1738-47.

74. Warren-Gash C, Smeeth L, Hayward AC. Influenza as a trigger for acute myocardial infarction or death from cardiovascular disease: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2009;9(10):601-10.
75. Pleskov, V. M., Bannikov, A. I., & Zaitsev, I. (1994). The receptor-mediated endocytosis of influenza viruses and low-density lipoproteins by tissue cells. *Voprosy virusologii*, 39(3), 121-125.
76. Guan X-R, Li X, Xin X-M, Jiang L-X, Cui L-Y, Wang L-F, et al. Influenza Virus Infection and Risk of Acute Myocardial Infarction. *Inflammation*. 2008;31(4):266-72.
77. Mattila KJ. Viral and bacterial infections in patients with acute myocardial infarction. *J Intern Med*. 1989;225(5):293-6.
78. Suo J, Zhao L, Wang J, Zhu Z, Zhang H, Gao R. Influenza virus aggravates the ox-LDL-induced apoptosis of human endothelial cells via promoting p53 signaling: Influenza Virus Aggravates the Ox-LDL-Induced Apoptosis. *J Med Virol*. 2015;87(7):1113-23.
79. Gurevich VS, Pleskov VM, Levaia MV, et al. Influenza virus infection in progressing atherosclerosis. [Résumé]. article en russe. *Kardiologiya* 2002;42:21-4.
80. Direction générale de la Santé, Comité technique des vaccinations. Guide des vaccinations. Édition 2012. Saint-Denis : Inpes, coll. Varia ; 2012 : pp 87-92. Disponible sur http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Guide_des_vaccinations_edition_2012.pdf (Consulté le 8/05/2018).
81. Ada G. Vaccines and Vaccination. *N Engl J Med*. 2001;345(14):1042-53.
82. Lambert P-H, Liu M, Siegrist C-A. Can successful vaccines teach us how to induce efficient protective immune responses? *Nat Med*. 2005;11(4s):S54-62.
83. HCSP, « Vaccination des personnes immunodéprimées ou aspléniques. Recommandations actualisées. », Haut Conseil de la Santé Publique, Paris, nov. 2014. Disponible sur <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=504> (Consulté le 06/06/2018).
84. Naghavi M, Barlas Z, Siadaty S, Naguib S, Madjid M, Casscells W. Association of Influenza Vaccination and Reduced Risk of Recurrent Myocardial Infarction. *Circulation*. 2000;102(25):3039-45.
85. Siscovick DS, Raghunathan TE, Lin D, Weinmann S, Arbogast P, Lemaitre RN, et al. Influenza vaccination and the risk of primary cardiac arrest. *Am J Epidemiol* 2000;152: 674-7.
86. Lavalley P, Perchaud V, Gautier-Bertrand M, Grabli D, Amarenco P. Association between influenza vaccination and reduced risk of brain infarction [published erratum appears in *Stroke* 2002;33:1171]. *Stroke* 2002;33:513-8.
87. Nichol KL, Nordin J, Mullooly J, Lask R, Fillbrandt K, Iwane M. Influenza vaccination and reduction in hospitalizations for cardiac disease and stroke among the elderly. *N Engl J Med* 2003;348:1322-32.
88. Gurfinkel EP, de la Fuente RL, Mendiz O, Mautner B. Inf luenza vaccine pilot study in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions: the FLU Vaccination Acute Coronary Syndromes (FLUVACS) Study. *Circulation* 2002;105:2143-7.
89. Gurfinkel EP, Leon de la Fuente R, Mendiz O, Mautner B. Flu vaccination in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions (FLUVACS) Study. One-year follow-up. *Eur Heart J* 2004;25:25-31.
90. Gurfinkel EP, de la Fuente RL. Flu vaccination in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions (FLUVACS) registry. Two-year follow-up in the southern hemisphere. *Tex Heart Inst J* 2004;31:28- 32.
91. Ciszewski A, Bilinska ZT, Brydak LB, Kepka C, Kruk M, Romanowska M, et al. Influenza vaccination in secondary prevention from coronary ischaemic events in coronary artery disease: FLUCAD study. *Eur Heart J*. 2008;29(11):1350-8.
92. MacIntyre CR, Heywood AE, Kooor P, Ridda I, Seale H, Tan T, et al. Ischaemic heart disease, influenza and influenza vaccination: a prospective case control study. *Heart*. 15 déc 2013;99(24):1843-8.
93. Hsu S-Y, Chen F-L, Liaw Y-P, Huang J-Y, Nfor ON, Chao D-Y. A Matched Influenza Vaccine Strain Was Effective in Reducing the Risk of Acute Myocardial Infarction in Elderly Persons: A Population-Based Study. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(10):e2869.
94. Siriwardena AN, Gwini SM, Coupland CAC. Influenza vaccination, pneumococcal vaccination and risk of acute myocardial infarction: matched case-control study. *Can Med Assoc J*. 2010;182(15):1617-23.
95. Phrommintikul A, Kuanprasert S, Wongcharoen W, Kanjanavanit R, Chaiwarith R, Sukonthasarn A. Influenza vaccination reduces cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome. *Eur Heart J*. 2011;32(14):1730-5.
96. Clar C, Oseni Z, Flowers N, Keshtkar-Jahromi M, Rees K. Influenza vaccines for preventing cardiovascular disease (Review). *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;(Issue 5):Art. No.:CD005050.

97. Udell JA, Zawi R, Bhatt DL, Keshtkar-Jahromi M, Gaughran F, Phrommintikul A, et al. Association Between Influenza Vaccination and Cardiovascular Outcomes in High-Risk Patients: A Meta-analysis. *JAMA*. 2013;310(16):1711.
98. Madjid M, Litovsky S, Vela D, Casscells SW. Influenza vaccination: an emerging opportunity to prevent cardiovascular disease. *Int Control Influenza V Proc Int Conf Options Control Influenza V*. 2004;1263:678-81.
99. Epstein SE, Zhou YF, Zhu J. Infection and Atherosclerosis : Emerging Mechanistic Paradigms. *Circulation*. 1999;100(4):e20-8.
100. Visseren FLJ, Bouwman JJM, Bouter KP, Diepersloot RJA, de Groot PG, Erkelens DW. Procoagulant Activity of Endothelial Cells after Infection with Respiratory Viruses. *Thromb Haemost*. 2000;84(08):319-24.
101. Visseren FLJ, Verkerk MSA, Bouter KP, Diepersloot RJA, Erkelens DW. Interleukin-6 production by endothelial cells after infection with influenza virus and cytomegalovirus. *J Lab Clin Med*. 1999;134(6):623-30.
102. Bouwman JJM, Visseren FLJ, Bosch MC, Bouter KP, Diepersloot RJA. Procoagulant and inflammatory response of virus-infected monocytes. *Eur J Clin Invest*. 2002;32(10):759-66.
103. Keller TT, van der Sluijs KF, de Kruif MD, Gerdes VEA, Meijers JCM, Florquin S, et al. Effects on Coagulation and Fibrinolysis Induced by Influenza in Mice With a Reduced Capacity to Generate Activated Protein C and a Deficiency in Plasminogen Activator Inhibitor Type 1. *Circ Res*. 2006;99(11):1261-9.
104. Wang S, Quang Le T, Chida J, Cisse Y, Yano M, Kido H. Mechanisms of matrix metalloproteinase-9 upregulation and tissue destruction in various organs in influenza A virus infection. *J Med Invest*. 2010;57(1,2):26-34.
105. Ciszewski A. Cardioprotective effect of influenza and pneumococcal vaccination in patients with cardiovascular diseases. *Vaccine*. 2018;36(2):202-6.
106. Gurevich VS, Pleskov VM, Levaya MV. Autoimmune Nature of Influenza Atherogenicity. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1050(1):410-6.
107. Salonen JT, Korpela H, Salonen R, Nyyssonen K, Yla-Herttuala S, Yamamoto R, et al. Autoantibody against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis. *The Lancet*. 1992;339(8798):883-7.
108. Laczik R, Szodoray P, Veres K, Szomják E, Csípo I, Sipka S, et al. Assessment of IgG antibodies to oxidized LDL in patients with acute coronary syndrome. *Lupus*. 2011;20(7):730-5.
109. Ravandi A, Boekholdt SM, Mallat Z, Talmud PJ, Kastelein JJP, Wareham NJ, et al. Relationship of IgG and IgM autoantibodies and immune complexes to oxidized low density lipoprotein with markers of oxidation and inflammation and cardiovascular events: Results from the EPIC-Norfolk Study. *J Lipid Res*. 2011;52(11):M015776.
110. Bermúdez-Fajardo A, Oviedo-Orta E. Influenza vaccination promotes stable atherosclerotic plaques in apoE knockout mice. *Atherosclerosis*. 2011;217(1):97-105.
111. Keshtkar-Jahromi M, Ouyang M, Keshtkarjahromi M, Almed S, Li H, Walston JD, et al. Effect of influenza vaccine on tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) in older adults. *Vaccine*. 2018;36(16):2220-5.
112. Kim S-H, Kang Y-J, Kim W-J, Woo D-K, Lee Y, Kim D-I, et al. TWEAK Can Induce Pro-Inflammatory Cytokines and Matrix Metalloproteinase-9 in Macrophages. *Circ J*. 2004;68(4):396-9.
113. Blanco-Colio L M. TWEAK and Fn14. New players in the pathogenesis of atherosclerosis. *Front Biosci*. 2007;12:3648-55.
114. Winkles JA. The TWEAK–Fn14 cytokine–receptor axis: discovery, biology and therapeutic targeting. *Nat Rev Drug Discov*. 2008;7(5):411-25.
115. Wiley SR, Winkles JA. TWEAK, a member of the TNF superfamily, is a multifunctional cytokine that binds the TweakR/Fn14 receptor. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2003;14(3-4):241-9.
116. Møller HJ, Aerts H, Grønbæk H, Peterslund NA, Petersen PH, Hornung N, et al. Soluble CD163: a marker molecule for monocyte/macrophage activity in disease. *Scand J Clin Lab Invest*. 2002;62(7):29-33.
117. Severson JJ, Richards KR, Moran JJM, Hayney MS. Persistence of influenza vaccine-induced antibody in lung transplant patients and healthy individuals beyond the season. *Hum Vaccines Immunother*. 2012;8(12):1850-3.
118. Madjid M. Influenza and Cardiovascular Disease: A New Opportunity for Prevention and the Need for Further Studies. *Circulation*. 2003;108(22):2730-6.
119. Veljkovic V, Glisic S, Veljkovic N, Bojic T, Dietrich U, Perovic VR, et al. Influenza vaccine as prevention for cardiovascular diseases: Possible molecular mechanism. *Vaccine*. 2014;32(48):6569-75.

120. Sharma JN, AL-Sherif GJ. Pharmacologic Targets and Prototype Therapeutics in the Kallikrein-Kinin System: Bradykinin Receptor Agonists or Antagonists. *Sci World J.* 2006;6:1247-61.
121. Chao J, Chao L. Kallikrein-kinin in stroke, cardiovascular and renal disease: Kallikrein in cardiovascular and renal disease. *Exp Physiol.* 2005;90(3):291-8.
122. Bascands, Jean-Loup, and Jean-Pierre Girolami. « La bradykinine. » (1996). [Internet]. Disponible sur : http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/787/MS_1996_5_582.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
123. Zhou X, Caligiuri G, Hamsten A, Lefvert AK, Hansson GK. LDL Immunization Induces T-Cell-Dependent Antibody Formation and Protection Against Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(1):108-14.
124. George J, Afek A, Gilburd B, Levkovitz H, Shaish A, Goldberg I, et al. Hyperimmunization of apo-E-deficient mice with homologous malondialdehyde low-density lipoprotein suppresses early atherogenesis. *Atherosclerosis.* 1998;138(1):147-52.
125. Caligiuri G, Nicoletti A, Poirier B, Hansson GK. Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercholesterolemic mice. *J Clin Invest.* 2002;109(6):745-53.
126. Wu R, Nityanand S, Berglund L, Lithell H, Holm G, Lefvert AK. Antibodies against cardiolipin and oxidatively modified LDL in 50-year-old men predict myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(11):3159-63.
127. Holvoet P, Stassen J-M, Cleemput JV, Collen D, Vanhaecke J. Oxidized Low Density Lipoproteins in Patients With Transplant-Associated Coronary Artery Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(1):100-7.
128. Ehara S, Ueda M, Naruko T, Haze K, Itoh A, Otsuka M, et al. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation.* 2001;103(15):1955-60.
129. Virella G, Lopes-Virella MF. Lipoprotein Autoantibodies. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003;10(4):499-505.
130. Lopes-Virella MF, Virella G. Clinical significance of the humoral immune response to modified LDL. *Clin Immunol Orlando Fla.* 2010;134(1):55-65.
131. Iseme RA, McEvoy M, Kelly B, Agnew L, Walker FR, Handley T, et al. A role for autoantibodies in atherogenesis. *Cardiovasc Res.* 2017;113(10):1102-12.
132. Virella G, Atchley D, Koskinen S, Zheng D, Lopes-Virella MF. Proatherogenic and Proinflammatory Properties of Immune Complexes Prepared with Purified Human oxLDL Antibodies and Human oxLDL. *Clin Immunol.* 2002;105(1):81-92.
133. Samson S, Mundkur L, Kakkar VV. Immune response to lipoproteins in atherosclerosis. *Cholesterol.* 2012;2012:571846.
134. Cox RJ, Brokstad KA, Zuckerman MA, Wood JM, Haaheim LR, Oxford JS. An early humoral immune response in peripheral blood following parenteral inactivated influenza vaccination. *Vaccine.* 1994;12(11):993-9.
135. Brokstad KA, Cox RJ, Olofsson J, Jonsson R, Haaheim LR. Parenteral Influenza Vaccination Induces A Rapid Systemic And Local Immune Response. *J Infect Dis.* 1995;171(1):198-203.
136. El-Madhun AS, Cox RJ, Søreide A, Olofsson J, Haaheim LR. Systemic and Mucosal Immune Responses in Young Children and Adults after Parenteral Influenza Vaccination. *J Infect Dis.* 1998;178(4):933-9.
137. Björkbacka H, Alm R, Persson M, Hedblad B, Nilsson J, Fredrikson GN. Low Levels of Apolipoprotein B-100 Autoantibodies Are Associated With Increased Risk of Coronary Events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016;36(4):765-71.
138. McLeod O, Silveira A, Fredrikson GN, Gertow K, Baldassarre D, Veglia F, et al. Plasma autoantibodies against apolipoprotein B-100 peptide 210 in subclinical atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2014;232(1):242-8.
139. Ascitutto G, Wigren M, Fredrikson GN, Mattisson IY, Grönberg C, Alm R, et al. Apolipoprotein B-100 Antibody Interaction With Atherosclerotic Plaque Inflammation and Repair Processes. *Stroke.* 2016;47(4):1140-3.
140. Schiopu A, Bengtsson J, Söderberg I, Janciauskiene S, Lindgren S, Ares MPS, et al. Recombinant human antibodies against aldehyde-modified apolipoprotein B-100 peptide sequences inhibit atherosclerosis. *Circulation.* 2004;110(14):2047-52.
141. Fredrikson GN, Andersson L, Söderberg I, Dimayuga P, Chyu K-Y, Shah PK, et al. Atheroprotective immunization with MDA-modified apo B-100 peptide sequences is associated with activation of Th2 specific antibody expression. *Autoimmunity.* 2005;38(2):171-9.
142. Shah PK, Chyu K-Y, Dimayuga PC, Nilsson J. Vaccine for Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64(25):2779-91.
143. Fredrikson GN, Söderberg I, Lindholm M, Dimayuga P, Chyu K-Y, Shah PK, et al. Inhibition of atherosclerosis in apoE-null mice by immunization with apoB-100 peptide sequences. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(5):879-84.

144. Chyu K-Y, Zhao X, Reyes OS, Babbidge SM, Dimayuga PC, Yano J, et al. Immunization using an Apo B-100 related epitope reduces atherosclerosis and plaque inflammation in hypercholesterolemic apo E (-/-) mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;338(4):1982-9.
145. « L'état de santé de la population en France - Rapport 2017 - Drees - Ministère des Affaires sociales et de la Santé ». [En ligne]. Disponible sur: <http://drees.solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/esp2017.pdf> [Consulté le :8-nov-2017].
146. Larson HJ, de Figueiredo A, Xiahong Z, Schulz WS, Verger P, Johnston IG, et al. The State of Vaccine Confidence 2016: Global Insights Through a 67-Country Survey. *EBioMedicine.* 2016;12:295-301.

Vu, le Directeur de Thèse

**Vu, le Doyen
De la Faculté de Médecine de Tours
Tours, le**

AIDOUUD Amal

116 pages – 4 tableaux – 17 figures – 4 annexes

Titre : Grippe et syndrome coronarien aigu : analyse d'une association clinique et effet potentiel de la vaccination antigrippale. Pistes biologiques et possibles mécanismes en jeu. Revue de la littérature.

Résumé

Les causes de l'athérosclérose sont diverses et l'émergence récente de son mécanisme immuno-inflammatoire a mis au jour de nouvelles pistes étiopathogéniques. Les preuves s'accumulent quant à l'implication d'agents pathogènes dans ce processus, parmi lesquels le virus de la grippe. Un nombre croissant d'études épidémiologiques ont suggéré une association temporelle entre l'infection grippale et la survenue des syndromes coronariens aigus (SCA) faisant du virus grippal, un potentiel acteur dans l'athérosclérose. Par la suite, de nouvelles preuves, basées sur des études observationnelles et des essais cliniques, suggèrent que la vaccination anti grippale protègerait du SCA.

Sur ces bases, nous avons réalisé une revue de la littérature afin de résumer les différentes pistes biologiques pouvant expliquer cet effet athéroprotecteur porté par le vaccin antigrippal.

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées. Il peut indirectement prévenir l'infection et donc ces complications, mais également, orienter la réponse inflammatoire dans les plaques d'athérome vers un profil anti-inflammatoire et antithrombotique, contribuant ainsi à stabiliser ces lésions et éviter les complications athéro-thrombotiques. Une autre approche possible peut être le rôle protecteur porté par les anticorps induits par la vaccination, comme le suggère les bénéfices soutenus observés à distance de la saison grippale.

Bien qu'aucune relation causale ne puisse être établie, et que les études sur le sujet gardent des limites certaines, ces résultats mettent en avant les potentiels bienfaits de la vaccination et soutiennent les efforts visant à augmenter les taux de vaccinations dans les groupes à risque.

Mots clés : athérosclérose, syndrome coronarien aigu, grippe, vaccination, immunité.

Jury :

Président du Jury : Professeur Bertrand FOUGERE, Gériatrie, Faculté de Médecine – Tours

Directeur de thèse : Docteur Cédric DE LA PORTE DES VAUX, Médecine Générale – Ligueil

Membres du Jury :

Pr Théodora BEJAN-ANGOULVANT, Pharmacologie clinique, Faculté de Médecine – Tours

Pr Catherine GAUDY-GRAFFIN, Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière, Faculté de Médecine – Tours

Pr Philippe ROINGEARD, Biologie cellulaire, Faculté de Médecine – Tours

Pr Thierry CONSTANS, Gériatrie, Professeur Honoraire, PH, Faculté de Médecine – Tours

Date de soutenance : 24 octobre 2018