

La actividad de metaloproteinasa-9 se asocia a estrés oxidativo en el síndrome coronario agudo

Alex Bittner^a, Pablo Castro^a, Osvaldo Pérez^a, Ramón Corbalán^a, Hernán Alcaíno^b, Rodrigo Troncoso^b, Mario Chiong^b, Guillermo Díaz-Araya^b, José Miguel Vicencio^b, Francisco Moraga^b, Diego Zanolli^c, José L. Winter^c, Juan J. Zamorano^c, Sergio Lavandero^b.

^aDepartamento de Enfermedades Cardiovasculares, Pontificia Universidad Católica de Chile. ^bFacultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. ^cAlumnos de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Antecedentes: La metaloproteinasas (MMPs) son enzimas proteolíticas que participan en la inestabilidad de la placa aterosclerótica. En cultivos celulares, la actividad de metaloproteinasas-2 y 9 (MMP-2 y MMP-9) aumenta en presencia de radicales libres del oxígeno. En una experiencia preliminar en pacientes con síndrome coronario agudo (SCA) hemos encontrado una posible asociación entre ambos fenómenos.

Objetivo: Evaluar la relación entre actividad de enzimas de degradación de la matriz extracelular y estrés oxidativo (EO) en el SCA.

Métodos: Estudiamos en forma prospectiva a 40 pacientes con SCA sin supradesnivel del segmento ST, puntaje TIMI ≥ 3 y alteraciones al electrocardiograma o elevación de Troponina I, que no presentaran un proceso inflamatorio. Se midió actividad de MMP-2 y MMP-9 (por zimografía en geles), malondialdehído (MDA) (mediante sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico) y PCR ultrasensible (PCRus) (ELISA), al ingreso y al quinto día. Se utilizó test t de Student para muestras pareadas y correlación lineal de Pearson.

Resultados: De los 40 pacientes, 31 fueron hombres, la edad promedio fue 61 ± 12 (38-85) años, todos con elevación de Troponina I. El puntaje TIMI fue de 4 (3-7). El 85% de los pacientes presentaron elevación de PCRus al ingreso ($15,0 \pm 28,7$ mg/L) y ésta aumentó al día 5 ($35,3 \pm 38$ mg/L, $p=0,01$); los niveles plasmáticos de MDA se encontraron elevados al ingreso ($1,54 \pm 0,75$ μ M/L) y descendieron al quinto día ($1,04 \pm 0,32$ μ M/L, $p<0,0001$). Al quinto día, la actividad de MMP-9 cayó a un $74 \pm 27\%$ del valor basal ($p<0,0001$). No se observó cambio en la actividad de MMP-2. Se demostró una correlación positiva entre las fracciones de cambio de MDA y MMP-9 ($r=0,43$, $p<0,0001$).

Conclusiones: En pacientes con SCA se observa un aumento precoz en el grado de inflamación, actividad de MMP-9 y de EO. La asociación demostrada entre la actividad de MMP-9 y el nivel de EO sugiere un rol conjunto de estos fenómenos en la fisiopatología del SCA.

Correspondencia: Dr. Alex Bittner Braemer
Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile
Marcoleta 367 Santiago
Fono: 3543426 (Hospital). Fax: 2-2692037
Correo electrónico: agbittne@puc.cl

Metalloproteinase-9 activity is associated with oxidative stress in acute coronary syndrome

Background: Metalloproteinases are proteolytic enzymes that participate in atherosclerotic plaque instability. In cellular cultures there is increased activity of metalloproteinases-2 and 9 (MMP-2 and MMP-9) in the presence of free oxygen radicals. In a preliminary experience in patients with acute coronary syndrome (ACS) we have found a possible association between both phenomena.

Objective: To evaluate the relation between activity of matrix degradation proteins and oxidative stress (OS) in acute coronary syndrome.

Methods: Forty patients with non-ST segment elevation acute coronary syndrome were prospectively studied. All had a TIMI risk score ≥ 3 , ischemic changes on electrocardiogram or Troponin I elevation, without a concomitant inflammatory condition. We determined MMP-2 and MMP-9 activities (gel zymography), malondialdehyde (MDA) (thiobarbituric acid reactive species) and high sensitive C reactive protein (hsCRP) plasma levels at admission and 5 days later. Paired samples Student's t test and Pearson's lineal correlation were used for statistical analysis.

Results: Of the 40 patients, 31 were male, mean age 61 ± 12 years old (range 38-85), all of them with Troponin I elevation. The TIMI risk score was 4 (3-7). 85% presented hsCRP elevation ($15.0 \pm 28,7$ mg/L at admission and 35.3 ± 38 mg/L at day 5). MDA plasma levels were increased at admission ($1,54 \pm 0,75$ μ M/L) and diminished at day 5 ($1,04 \pm 0,32$ μ M/L, $p < 0,0001$). Compared to basal values, MMP-9 activity decreased to $74 \pm 27\%$ at day 5, ($p < 0,001$). No significant change was observed in MMP-2 activity between both measurements. A significant positive correlation was found between change fractions of MDA levels and MMP-9 activity ($r = 0,43$, $p < 0,0001$).

Conclusions: In patients with ACS we observed an early increase in inflammation markers, MMP-9 activity and OS. The correlation demonstrated between MMP-9 activity and OS suggests a common role of both phenomena in the pathophysiology of the ACS.

Introducción

Los síndromes coronarios agudos (SCA) se producen como consecuencia de inestabilidad y complicación de placas ateroscleróticas infiltradas por macrófagos que, por fenómenos de fagocitosis y estimulación de la producción de metaloproteinasas (MMP), asociados a la acción de otras células inflamatorias, debilitan la capa fibrosa de la placa y predisponen a la ruptura de ésta¹⁻⁴. Las metaloproteinasas corresponden a una familia de endoproteinasas que degradan componentes de la matriz extracelular. En placas ateroscleróticas de pacientes con SCA las concentraciones y actividad de metaloproteinasas se encuentran elevadas en regiones de acumulación de células espumosas, lo que se ha asociado a vulnerabilidad de la placa⁵⁻⁷. Niveles circulantes aumentados de MMP-2 y MMP-9 se han encontrado en las primeras horas del infarto, las cuales podrían ser liberadas durante la ruptura de la placa aterosclerótica⁸⁻⁹. La transcripción de las metaloproteinasas se ve estimulada por numerosas citoquinas inflamatorias, como interleuquinas 1 y 6, factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), CD-40 y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α)¹⁰⁻¹², por lo que su aumento en el SCA también podría explicarse como

parte de un proceso inflamatorio sistémico.

Por otra parte, el endotelio juega un rol clave en la regulación del tono vascular, agregación plaquetaria, adhesión de células inflamatorias y promoción de fibrinólisis, mediante elaboración de factores paracrinos, destacando el óxido nítrico derivado del endotelio. El estrés oxidativo (EO), con predominio de radicales libres del oxígeno (RLO) sobre antioxidantes endógenos, contribuye a la disfunción vascular y al proceso aterogénico¹³. Los RLO, que incluyen anión superóxido, radical hidróxilo y peróxido de hidrógeno, tienen la potencialidad de interactuar con proteínas, lípidos y DNA. Las lesiones ateroscleróticas en arterias coronarias se caracterizan por una mayor actividad de superóxido dependiente de NAD/NAD(P)H oxidasa, lo que podría estar relacionado con la inflamación de la placa y la tendencia a la ruptura¹⁴. En pacientes con infarto agudo al miocardio, nuestro grupo ha demostrado un aumento de la peroxidación lipídica, cuantificada mediante malondialdehído plasmático¹⁵.

En estudios in vitro se ha demostrado interacción entre RLO y metaloproteinasas: la transcripción de metaloproteinasas es la principal etapa de regulación en la actividad de la mayoría de estas enzimas. Xu et al han demostrado que LDL oxidadas aumentan la transcripción de MMP-9 en macrófagos humanos¹⁶. Además, se ha observado aumento en la actividad de metaloproteinasas

de la matriz de células musculares lisas y fibroblastos en presencia de RLO¹⁷⁻¹⁸. En una experiencia preliminar en 10 pacientes con SCA hemos encontrado recientemente una posible asociación entre la actividad de metaloproteínasa-9 plasmática con estrés oxidativo¹⁹, lo cual no ha sido reportado previamente en la literatura. El objetivo del presente estudio fue evaluar la relación entre la actividad de enzimas de degradación de la matriz extracelular y el estrés oxidativo en el síndrome coronario agudo.

Métodos

Se estudió en forma prospectiva a 40 pacientes ingresados a la Unidad Coronaria del Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile con diagnóstico de síndrome coronario agudo sin supradesnivel del segmento ST, que cumplieran con los siguientes criterios de inclusión:

- Ser mayor de 18 años de edad.
- Haber presentado dolor anginoso típico de reposo dentro de las 24 horas previas al ingreso.
- Presentar riesgo elevado, definido como puntaje en el Score de TIMI \geq a 3 puntos²⁰.
- Cumplir con al menos uno de los siguientes: Alteraciones electrocardiográficas de tipo isquémicas, caracterizadas por infradesnivel del segmento ST \geq 1mm en dos derivaciones contiguas, T negativa $>$ 3mm o elevación transitoria del segmento ST en dos derivaciones contiguas, o elevación del nivel plasmático de Troponina I por sobre el valor normal del laboratorio ($>$ 0,05 ng/ml).
- Consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la P. Universidad Católica de Chile.

Se excluyó, por su alteración en el estrés oxidativo o estado inflamatorio, a los pacientes con: insuficiencia cardíaca descompensada, cirugía en los últimos dos meses, infarto agudo al miocardio en los últimos dos meses, PTCA en las últimas cuatro semanas, neoplasia, insuficiencia renal (creatinina plasmática $>$ 2 mg/dl), y enfermedades inflamatorias crónicas o agudas. Además, se excluyó del análisis a los pacientes que entre el primer y quinto días de evolución presentaron infarto agudo al miocardio con supradesnivel del segmento ST, insuficiencia cardíaca descompensada, un cuadro infeccioso agudo, o que fueron sometidos a cirugía de revascularización miocárdica en ese período.

Evaluaciones:

Al ingreso del paciente a la Unidad Coronaria,

cumpliendo con los criterios estipulados, se registró en una ficha individual los factores de riesgo cardiovascular, las características clínicas y posteriormente la ocurrencia de eventos médicos-intrahospitalarios para cada paciente. Se tomó muestras de sangre periférica al ingreso y al quinto día de hospitalización para realizar determinaciones bioquímicas de: proteínas de degradación de matriz extracelular, midiendo actividad de MMP-2 y MMP-9; estrés oxidativo, cuantificando malondialdehído (MDA) plasmático y PCRus. Además se midió péptido natriurético cerebral (proBNP) para evaluar el compromiso hemodinámico. Se estudió la evolución de estos parámetros (las fracciones de cambio entre los valores del primer y quinto días) y la correlación entre las variables medidas en los primeros 5 días de evolución. Además, se estimó el grado de necrosis miocárdica realizando una curva enzimática con muestras cada 6 horas, hasta alcanzar el peak de Troponina I, de Creatinquinasa (CK) y su fracción MB (CKMB).

Determinaciones de inflamación:

- PCRus: Fue cuantificada en plasma mediante técnica de ELISA de competencia usando anti-PCR de conejo (Calbiochem-Novabiochem) y PCR biotinilado^{21,22}.
- Actividad plasmática de MMP-2 y MMP-9: Se determinó mediante zimografía en geles de 10% poliacrilamida-SDS copolimerizado con 1 mg/ml de gelatina. Luego de la electroforesis, los geles se lavaron con 2,5% Triton X-100 y luego se incubaron a 37°C por toda la noche en 50 mM Tris-HCl pH 8.0, 200 mM NaCl, 5 mM CaCl₂ y 20 μ M ZnCl₂. Los geles se tiñeron por 3 h en 0,5% azul de comassi, en 25% metanol y 10% ácido acético y destiñeron en la misma solución sin azul de comassi. Las actividades se evaluaron por densitometría^{23,24}. Estas determinaciones se realizaron en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la U. de Chile.

Cuantificación de estrés oxidativo:

- Malondialdehído: La formación de Malondialdehído (MDA) se determinó examinando el contenido de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)²⁵. Las muestras de sangre de los pacientes se recolectaron en tubos con heparina, se centrifugaron a 1.250 x g durante 10 min a 4°C. Los plasmas se almacenaron a -20°C para su posterior análisis de MDA. Estas determinaciones se realizaron en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la U. de Chile.

Cuantificación de compromiso hemodinámico:

- Péptido natriurético cerebral (proBNP): Los niveles de

proBNP se determinaron por la técnica de electroluminiscencia en el Laboratorio de Urgencia de la P. Universidad Católica de Chile.

Análisis estadístico:

Los resultados de las variables continuas se expresaron como promedio \pm desviación estándar. Las variables categóricas como mediana y rango. Para determinar diferencias significativas en cada variable entre el primer y quinto días se usó test t de Student para muestras pareadas. Se usó correlación muestral de Pearson para evaluar la asociación entre las diferentes determinaciones.

Se consideró significativo todo valor p inferior o igual a 0.05.

Resultados

Las características clínicas y los factores de riesgo de los 40 pacientes estudiados se especifican en la tabla 1. Las características del cuadro clínico y lo relevante de su manejo intrahospitalario se describen en la tabla 2. Destaca que el 96% presentó alteraciones electrocardiográficas sugerentes de isquemia, y todos presentaron alza de Troponina I. El 87,5% de los pacientes fue sometido a Coronariografía durante los primeros 5 días de hospitalización. De los pacientes estudiados, 2 (6%) tenían

arterias coronarias normales, 3 (9%) tenían lesiones < 70%, 13 (37%) tenían 1 vaso con estenosis > 70%, 4 (11%) presentaban estenosis > 70% en dos vasos, y 13 (37%) tenían lesiones de tres vasos. El 30% de los pacientes fue sometido a angioplastia percutánea durante los primeros 5 días de evolución. Una tasa baja de revascularización quirúrgica en este grupo (12,5%), se explica porque los aquí mencionados fueron aquellos operados después del quinto día de evolución. Los pacientes operados previo al quinto día de evolución fueron excluidos del análisis (de acuerdo a los criterios de exclusión definidos previamente). El 92% recibió estatinas desde el ingreso hospitalario y el 97% recibió ácido acetilsalicílico, drogas que potencialmente podrían alterar la respuesta inflamatoria sistémica. El 85% de los pacientes tuvo evidencia de inflamación, con PCRus elevada, con un promedio de $15,0 \pm 29$ mg/L (valor normal < 3 mg/L). Esta aumentó significativamente al quinto día: $35,3 \pm 38$ mg/L, $p = 0,01$. Los niveles de MDA también se encontraron elevados con respecto a valores reportados previamente para sujetos sanos²⁶: $1,54 \pm 0,75$ μ M/L vs $0,9 \pm 0,1$ μ M/L, reflejando un aumento de la peroxidación lipídica al ingreso. Las actividades plasmáticas de MMP-9 y MMP-2 plasmática se expresaron como valor normalizado al resultado correspondiente a la muestra de ingreso. En ausencia de grupo control o valor normal universalmente aceptado, no se puede afirmar categóricamente que éstas estuvieran aumentadas al ingreso.

Tabla 1. Características clínicas y factores de riesgo cardiovascular de los pacientes ingresados por SCA.

Edad	61 \pm 12 (38-85 años)
Sexo masculino	31 (78%)
Infarto previo	24%
Angina estable	18%
CRM previa	14%
PTCA previa	14%
IC compensada	3%
HTA	30%
DM 2	14%
Dislipidemia	56%
Tabaquismo	35%

Tabla 2. Caracterización del SCA y conducta terapéutica en los 40 pacientes estudiados.

Variable	Al ingreso	Día 5	Peak	Valor Normal
Troponina I (ng/ml)	-	-	6,4 \pm 6,9	<.005
PCR us (mg/L)	15,0 \pm 29	30,6 \pm 29*	-	<3
CK total (U/L)	-	-	462 \pm 404	<180
CKMB (U/L)	-	-	63 \pm 46	<30
proBNP (pg/ml)	1103 \pm 1366	638 \pm 1226**	-	<194H <222(M)

Al quinto día de evolución, tanto los niveles de MMP-9 como MDA cayeron en forma significativa ($p < 0,0001$) (figuras 1 y 2). En la actividad de MMP-2, si bien se observa una tendencia a la disminución al quinto día, ésta no alcanzó significación estadística ($p = 0,06$) (figura 3). Se demostró una correlación positiva entre las fracciones de cambio de MDA y de actividad de MMP-9 plasmática ($r=0,43$, $p < 0,0001$) (figura 4). Al incluir en el análisis sólo a los pacientes que no fueron sometidos a angioplastia percutánea ($n=27$), por ser potencialmente una fuente de modificación de las

variables estudiadas, la correlación se mantuvo ($r=0,41$, $p < 0,001$). No se demostró una correlación significativa entre las fracciones de cambio de MDA y MMP-2. Tampoco se demostró correlación entre los valores iniciales, ni entre la modificación de los valores del ingreso y del quinto día de evolución de MDA y BNP ($r=0,24$), ni entre MMP-9 y BNP ($r=-0,14$). No encontramos una correlación estadísticamente significativa entre niveles de inflamación al ingreso (PCRus) y grado de necrosis miocárdica (peak de Troponina I).

Actividad de MMP-9 en SCA al ingreso y al quinto día de evolución

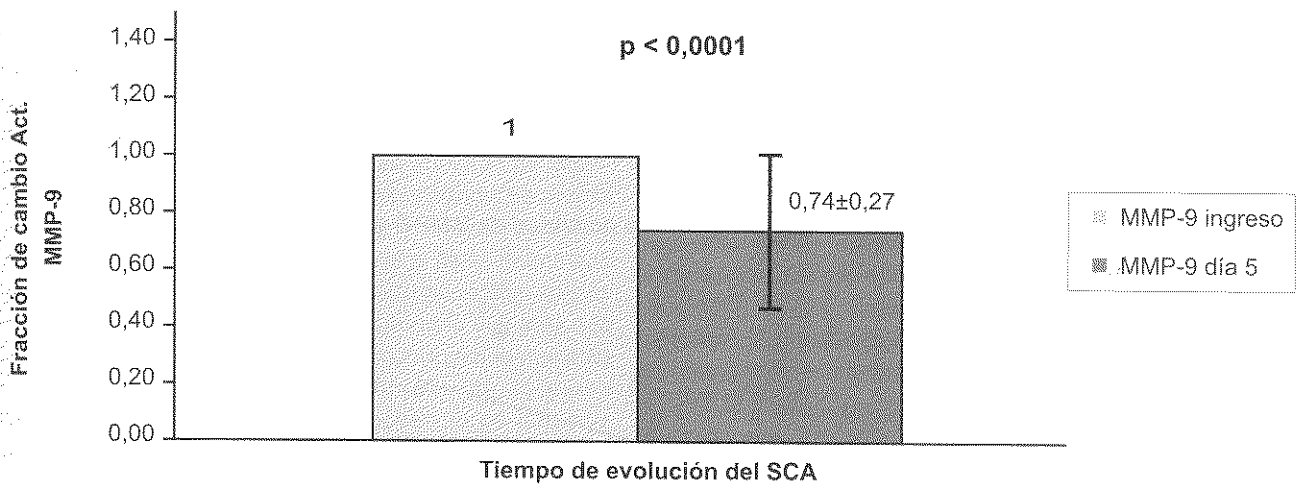


Figura 1. Actividad plasmática de metaloproteinasa-9 al ingreso y al quinto día de evolución.

MDA plasmático en SCA al ingreso y al quinto día de evolución

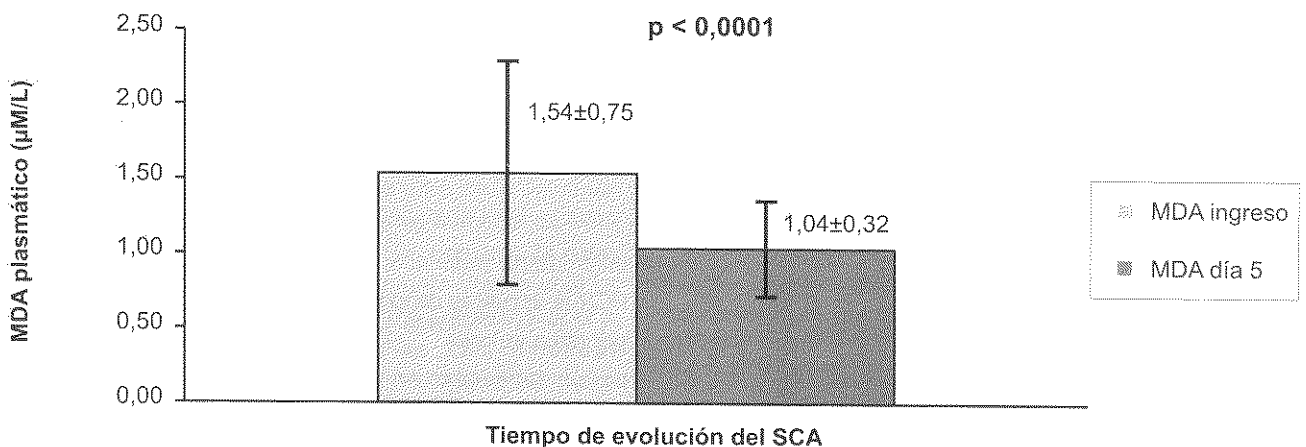


Figura 2. MDA plasmático en SCA al ingreso y al quinto día de evolución.

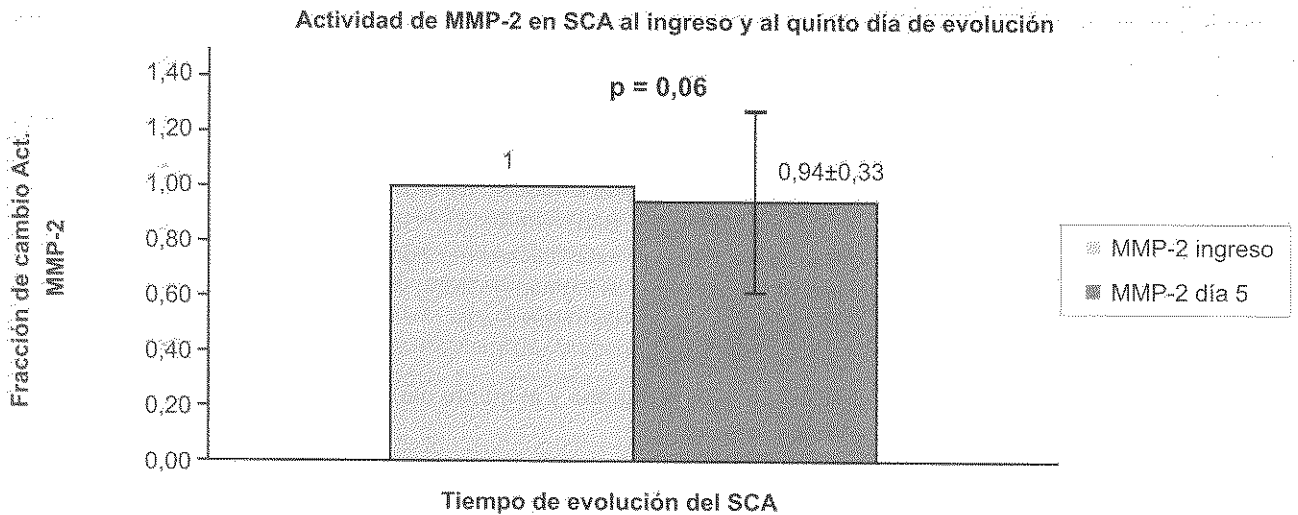


Figura 3. Actividad plasmática de metaloproteinasa-2 al ingreso y al quinto día de evolución.

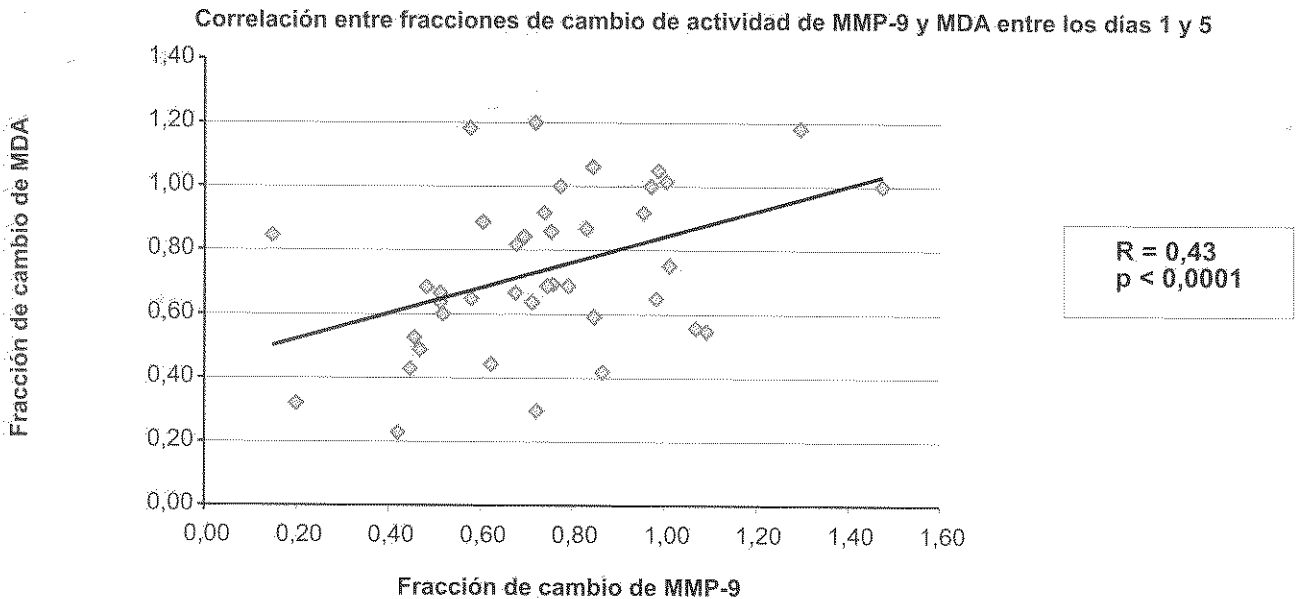


Figura 4. Correlación entre las fracciones de cambio de actividad de MMP-9 plasmática y niveles plasmáticos de MDA entre el primer y quinto día de evolución del SCA.

Discusión

En el presente estudio se incluyó a pacientes que presentaron un SCA sin supradesnivel del segmento ST de riesgo intermedio y alto, comprobándose en la gran mayoría de ellos la presencia de cardiopatía coronaria significativa mediante coronariografía precoz. En estos pacientes se demostró un aumento en la actividad

inflamatoria sistémica, cuantificado mediante niveles de PCRus, lo cual es concordante con lo reportado previamente por otros autores^{27,28}. El aumento de la PCRus se explica por un incremento en la síntesis de esta proteína por el hígado, como consecuencia de niveles aumentados de citoquinas proinflamatorias, que se relacionan a la inestabilidad de la placa aterosclerótica. Estas participan

en la atracción de macrófagos y otras células inflamatorias a la placa inestable, así como en la activación plaquetaria y en el proceso trombogénico²⁹. Por otra parte, se ha postulado que la PCR además generaría mayor inflamación a través de la amplificación del efecto de endotoxina, aumento de factor tisular y aumento de la producción de ICAM y VCAM³⁰⁻³².

Como se ha mencionado, algunas citoquinas proinflamatorias, como IL-1, IL-6 y TNF- α , estimulan la transcripción de metaloproteinasas¹⁰⁻¹². En el presente estudio no existió un grupo control ni hay valores universalmente aceptados de normalidad para la actividad plasmática de metaloproteinasas, por lo que no es posible asegurar que los valores de actividad medidos al ingreso estén elevados. Sin embargo, la reducción de la actividad plasmática de MMP-9 al quinto día con respecto a la inicial, apoya fuertemente la idea de una activación precoz de esta enzima de degradación de la matriz extracelular en el desarrollo del SCA. Por otra parte, un aumento de MMP-2 y MMP-9 en relación con pacientes portadores de angina crónica y voluntarios normales ya ha sido reportado previamente^{8,9}. Recientemente, Higo et al demostraron que en pacientes con infarto agudo al miocardio existen niveles más altos de MMP-9 en la arteria coronaria culpable que en seno coronario y arteria femoral, concluyendo que este incremento se debe a la disrupción de la placa aterosclerótica, y no como consecuencia de necrosis miocárdica³³. Nosotros hemos encontrado una disminución de la actividad de MMP-9 al quinto día, no así de MMP-2, que mantuvo actividad similar a la basal. Esto es concordante con lo reportado por Kai et al, quienes encontraron una disminución progresiva de los niveles plasmáticos de MMP-9 desde el primer día, mientras que MMP-2 permanecía elevada hasta el séptimo día⁸. La ausencia de asociación entre actividad de metaloproteinasas y PCRus también es concordante con lo previamente publicado, y probablemente se deba a cinéticas distintas de cada una de estas proteínas. En el presente estudio las mediciones iniciales fueron realizadas al ingreso del paciente, sin uniformidad en el lapso de tiempo desde el inicio del SCA, por lo que la medición de ingreso se pudo haber realizado en etapas de mayor o menor ascenso de PCRus para cada paciente.

Por otra parte, describimos un aumento de MDA plasmático en nuestros pacientes en las primeras 24 horas del SCA, con reducción hacia el quinto día, lo cual es compatible con lo publicado por otros autores. Fuji et al demostraron un aumento de las LDL oxidadas intracoronarias en el síndrome coronario agudo³⁴. En otros estudios, se ha evidenciado un incremento precoz post reperfusión miocárdica de los niveles locales y sistémicos de marcadores de estrés oxidativo, como prostaglandina F₂ α y malondialdehído^{35,36}. Esto se ha explicado por el

fenómeno de isquemia-reperfusión de los miocitos. Sin embargo, éste no parece ser el único mecanismo capaz de liberar radicales libres del oxígeno. En pacientes con infarto agudo al miocardio, nuestro grupo ha demostrado un aumento de los niveles plasmáticos de MDA antes de la angioplastia primaria, los cuales no se modificaron a los 30 minutos ni a las 24 horas de haber ocurrido la reperfusión¹⁵. Aukrust et al demostraron un aumento de los niveles séricos de citoquinas proinflamatorias, peroxidación lipídica y reducción de niveles de vitaminas antioxidantes en síndromes coronarios agudos, lo que sugiere una relación entre inflamación y estrés oxidativo en estos cuadros³⁷. En material obtenido por medio de aterectomía, se ha encontrado mayor actividad de RLO en material obtenido de pacientes con SCA que en pacientes con angina estable, lo que sugiere un rol patogénico de los RLO en la composición y comportamiento de la placa³⁸. En pacientes sometidos a cirugía de revascularización miocárdica se ha reportado recientemente un aumento del estrés oxidativo, cuantificado mediante 8-iso-PGF₂ α , y de la actividad de MMP-2 y MMP-9 en líquido pericárdico, con una correlación positiva significativa entre ambos³⁹. En un estudio en ratas, utilizando el modelo de trasplante cardíaco, la inhibición de sustancias oxidantes como ion superóxido redujo tanto la concentración como la actividad de MMP-9, observándose mejoría en la función vasomotora coronaria⁴⁰.

En este estudio hemos demostrado la asociación entre actividad de enzimas de degradación de la matriz extracelular (MMP-9) en plasma y estrés oxidativo, cuantificado en este caso por MDA como producto de peroxidación lipídica, confirmando los hallazgos de nuestra experiencia preliminar¹⁹. Esta correlación no ha sido previamente descrita in vivo en humanos. Si bien esto no permite establecer una relación de causa-efecto entre ambos procesos, en presencia de evidencia básica que soporta esta teoría, pensamos que la correlación demostrada es reflejo de una participación conjunta en la cascada fisiopatológica que termina en la inestabilización de la placa aterosclerótica coronaria, y en la ocurrencia del síndrome coronario. No se demostró en el presente trabajo ninguna asociación entre inflamación, actividad de metaloproteinasas o nivel de MDA y la magnitud de la necrosis miocárdica, ni entre inflamación o estrés oxidativo y proBNP como marcador de compromiso hemodinámico, lo que hace menos probable que la mayor actividad de metaloproteinasa-9 o estrés oxidativo durante las primeras 24 horas de evolución del SCA obedecieran a necrosis miocárdica o insuficiencia cardíaca. Al excluir a los pacientes con infarto agudo al miocardio con supradesnivel del segmento ST y a los que cursaron con insuficiencia cardíaca

descompensada, pretendimos aislar el proceso fisiopatológico del accidente de placa de otros elementos que por si solos pueden modificar las variables medidas. Llama la atención los niveles elevados de pro-BNP en el grupo estudiado, a pesar de excluir expresamente a pacientes con insuficiencia cardíaca clínica. Probablemente esto sea reflejo de disfunción diastólica ventricular como consecuencia de la isquemia.

En cuanto a las limitaciones de nuestro estudio, el diseño no permite establecer relaciones causales entre los fenómenos descritos. Por otra parte, los tratamientos farmacológicos no fueron protocolizados y quedaron a criterio del tratante. Sin embargo, al ser pacientes tratados en un único centro, con condición clínica semejante, la administración de los fármacos más importantes en términos de una potencial influencia en los resultados ocurrió en forma homogénea en la gran mayoría de los enfermos. La

realización de angioplastia coronaria en un subgrupo de los pacientes es otro potencial elemento de alteración de los resultados. Sin embargo, excluyendo a este subgrupo del análisis, se mantuvo la correlación entre actividad de MMP-9 y MDA, con un coeficiente de correlación similar al encontrado para el grupo total.

En resumen, en los síndromes coronarios agudos de alto riesgo se encuentra un aumento precoz del grado de inflamación sistémica, actividad de metaloproteinasas y estrés oxidativo en el plasma; la actividad plasmática de MMP-9 se asocia a niveles plasmáticos de MDA como reflejo de estrés oxidativo, y esta asociación es independiente de la magnitud de la necrosis miocárdica y de la repercusión hemodinámica del evento coronario. Estos hechos apoyan un rol conjunto de metaloproteinasas y estrés oxidativo en la fisiopatología del síndrome coronario agudo.

Referencias

1. ROSS R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *New Engl J Med* 1999;340:115-26.
2. VAN DER WALA, BECKER A, VAN DER LOOS C, et al. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 1994;89:36-44.
3. MORENO P, FALK E, PALACIOS J, et al. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *Circulation* 1994;90:775-8.
4. RENNICK R, LING K, HUMPHRIES S, et al. Effect of acetyl-LDL on monocyte/macrophage expression of matrix metalloproteinases. *Atherosclerosis* 1994;109:192.
5. BROWN D, HIBBS M, KEARNEY M, et al. Identification of 92-kD gelatinase in human coronary atherosclerotic lesions: association of active enzyme synthesis with unstable angina. *Circulation* 1995;91:2125-2131.
6. GALIS ZS, SUKHOVA GK, LARK MW, LIBBY P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 94:2493-503.
7. LI Z, LI L, ZIELKE HR, CHENG L, XIAO R, CROW MT, et al. Increased expression of 72 kd type IV collagenase (MMP-2) in human aortic atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1996; 148:121-8.
8. KAI H, IKEDA H, YASUKAWA H, KAI M, SEKI Y, KUWAHARA F, et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases -2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:368-72.
9. INOKUBO Y, HANADA H, ISHAZAKA H, FUKUSHI T, KAMADA T, OKUMURA K. Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are increased in the coronary circulation in patients with acute coronary syndrome. *Am Heart J* 2001; 141:211-17.
10. CREEMERS E, CLEUTJENS J, SMITS J, DAEMEN M. Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction, a new approach to prevent heart failure? *Circ Res* 2001;89:201-210.
11. MALIK N, GREENFIELD B, WAHL A, KIENER P. Activation of human monocytes through CD40 induces matrix metalloproteinases. *J Immunol*. 1996;156:3952-3960.
12. SCHONBECK U, MACH F, SUKHOVA G, MURPHY C, et al. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes. *Circ Res* 1997;81:448-454.
13. KOJDA G, HARRISON D. Interactions between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc Res* 1999;43:562-71.
14. SORESCU D, WEISS D, LASSEGUE B, et al. Superoxide production and expression of Nax family proteins in human atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1439-25.
15. DIAZ-ARAYA G, NETTLE D, CASTRO P, et al. Oxidative stress after reperfusion with primary angioplasty: Lack of effect of glucose-insulin-potassium infusion. *Crit Care Med* 2002;30:417-421.
16. XU P, MEISEL SR, ONG JM, et al. Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 1999; 99:993-998.
17. RAJAGOPALAN S, MENG XP, RAMASAMY S, HARRISON

- DG, GALIS ZS. Reactive oxygen species produced by macrophage derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases in vitro. *J Clin Invest* 1996; 98:2572-2579.
18. SIWIK D, PAGANO P, COLUCCI S. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280:C53-C60.
 19. BITTNER A, CASTRO P, PEREZ O, CORBALAN R, TRONCOSO R, CHIONG M, et al. Inflamación y estrés oxidativo en el síndrome coronario agudo: ¿Dos fenómenos relacionados? *Rev Chilena Cardiol* 2005; 24: 63-70.
 20. ANTMAN E, COHEN M, BERNINCK P, et al. The TIMI risk score for unstable angina/non-ST elevation MI: A method for prognostication and therapeutic decision making. *JAMA* 2000;284:835-42.
 21. MACY E, HAYES T, TRACY R. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem* 1997;43:52-58.
 22. RIFAIN, TRACY R, RIDKER P. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999;45:2136-2141.
 23. MANANTIA L, PAGANONIA P, FLORIANIB I, LANDONIC F, et al. Expression levels of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 and 2 in the plasma of patients with ovarian carcinoma. *Eur J Cancer* 2003;39:1948-1956.
 24. OLIVER G, LEFERSON J, STETLER-STEVENSON W, KLEINER D. Cuantitativa reverse zymography: analysis of picogram amounts of metalloproteinase inhibitors using gelatinase A and B reverse zymograms. *Anal Biochem* 1997;244:161-166.
 25. DIAZ-ARAYA G, GODOY L, NARANJO L, SQUELLA J, et al. Antioxidant effects of 1,4-dihydropyridine and nitroso aryl derivatives on the Fe²⁺/ascorbate-stimulated lipid peroxidation in rat brain slices. *Gen Pharmacol* 1998;31:285-391.
 26. CASTRO P, PEREZ O, GREIG D, DIAZ-ARAYA G, et al. Efectos del carvedilol en la capacidad funcional, función ventricular izquierda, catecolaminas y estrés oxidativo en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica. *Rev Esp Cardiol* 2004;57:1053-1058.
 27. HEESCHEN C, HAMM C, BRUEMMER J, SIMOONS M. Predictive value of C-reactive protein and Troponin T in patients with unstable angina: a comparative analysis, CAPTURE Investigators. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:1535-42.
 28. BIASUCCI L, LIUZZO G, GRILLO R, et al. Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. *Circulation* 1999;99:855-60.
 29. LIBBY P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91:2844-2850.
 30. PASCERI V, WILLERSON J, YEH E. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000;102:2165-2168.
 31. THEROUX P, WILLERSON J, ARMSTRON P. Acute coronary syndromes. Fifty years of progress. *Circulation* 2000;102 (20 suppl 4):IV2-IV13.
 32. ZWAKA T, HOMBACH V, TORZEWSKI J. C-reactive protein mediated low density lipoprotein uptake by macrophages. Implication for atherosclerosis. *Circulation* 2001;103:1194-1197.
 33. HIGO S, UEMATSU M, YAMAGISHI M, ISHIBASHI-UEDA H, AWATA M, MOROZUMI T, et al. Elevation of plasma matrix metalloproteinase-9 in the culprit coronary artery in patients with acute myocardial infarction. *Circ J* 2005; 69:1180-1185.
 34. FUJII H, SHIMIZU M, INO H, et al. Acute increases in plasma oxidized low-density lipoprotein immediately after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 2001;87:102-103, A8.
 35. KIJIMA Y, HASHIMURA K, MATSU-URA Y, et al. Transcardiac 8-iso-prostaglandin F(2 alpha) generation from acute myocardial infarction heart: insight into abrupt reperfusion and oxidant stress. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2001;64:161-166.
 36. MUZAKOWA V, KANDAR R, VOJTISEK P, SKALICKY J, CERVINKOVA Z. Selective antioxidant enzymes during ischemia/reperfusion in myocardial infarction. *Physiol Res* 2000;49:315-322.
 37. AUKRUST P, BERGE R, UELAND T, AASER E, et al. Interaction between chemokines and oxidative stress: possible pathogenic role in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:485-91.
 38. AZUMI H, INOUE N, OHASHI Y, et al. Superoxide generation in directional coronary atherectomy specimens of patients with angina pectoris. Important role of NAD(P)H oxidase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:1838-48.
 39. KAMEDA K, MATSUNAGA T, ABE N, et al. Correlation of oxidative stress with activity of matrix metalloproteinase in patients with coronary artery disease. *European Heart Journal* 2003;24:2180-2185.
 40. EGI K, CONRAD N, KWAN J, SCHULZE C, SCHULZ R, WILDHIRT S. Inhibition of inducible nitric oxide synthase and superoxide production reduces matrix metalloproteinase-9 activity and restores coronary vasomotor function in rat cardiac allografts. *Eur J of Cardio-thorac Surg* 2004; 26:262-269.