

Inflamación y estrés oxidativo en el síndrome coronario agudo: ¿Dos fenómenos relacionados?

Alex Bittner^a, Pablo Castro^a, Osvaldo Pérez^a, Ramón Corbalán^a, 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

^a Departamento de Enfermedades Cardiovasculares, Pontificia Universidad Católica de Chile

^b Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile

^c Alumnos de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Antecedentes: Hemos descrito un incremento en el estrés oxidativo (EO) en pacientes con síndrome coronario agudo (SCA), relacionado con el fenómeno de isquemia-reperusión. La inflamación es otra potencial fuente de especies reactivas de oxígeno.

Objetivo: Evaluar la relación entre inflamación, determinada mediante proteína C reactiva ultrasensible (PCRus) y enzimas de la matriz extracelular, y el nivel de estrés oxidativo en el SCA.

Métodos: Se estudió en forma prospectiva a pacientes con SCA sin supradesnivel del segmento ST de alto riesgo. Se determinó niveles de PCRus al ingreso, actividad de metaloproteínasa-9 (MMP-9), niveles séricos de malondialdehído (MDA), y de péptido natriurético cerebral (proBNP), al primer y quinto día, estableciendo la correlación entre estas variables en el tiempo.

Resultados: Se incluyó a 10 pacientes: 7 hombres, edad 63±10 años (50–80 años), 8 con elevación de enzimas miocárdicas. El puntaje TIMI fue 5 (3-6). Todos presentaron elevación de PCRus antes de las 24 horas (26,5±51 mg/L). Los niveles de MMP-9 estaban normales y los niveles plasmáticos de MDA estaban elevados al ingreso (1,25±0,55 μM/L). Tanto MMP-9 como MDA disminuyeron en forma significativa al quinto día ($p=0,02$ y $p=0,009$ respectivamente). Hubo una estrecha correlación entre la disminución de MDA y MMP-9 ($r=0,95$, $p<0,05$). No hubo correlación entre la modificación de los valores de MDA y proBNP ($r=-0,36$) ni entre MMP-9 y proBNP ($r=-0,33$).

Conclusión: En el SCA habría inicialmente aumento de la inflamación y EO. Las reducciones de ambos fenómenos parecen estar relacionadas. Estos hechos apoyan la asociación entre inflamación y EO en el SCA.

Inflammation and oxidative stress in acute coronary syndromes: two related phenomena?

Background: We have described an increased oxidative stress in patients with acute coronary syndromes (ACS), which is related to the ischemia-reperfusion phenomenon. Inflammation is also a potential source of oxygen reactive molecules.

Aim: to study the relationship of inflammation, as estimated from ultra sensitive C reactive protein (US CRP) and extracellular matrix enzymes, with oxidative stress in patients with acute coronary syndromes.

Methods: A prospective study of high risk patients with non ST segment elevation ACS was conducted. US CRP, metalloproteinase 9 (MMP-9), serum malondialdehyde (MDA) and brain natriuretic peptide levels were determined at the first and 5th days of the ACS. Changes in variables were correlated over time.

Results: 10 patients (7 males) aged 63±10 years (range 50 to 80) were included. Myocardial enzyme levels were increased in 8 patients. The mean TIMI score was 5 (range 3 to 6). All patients showed increased US CRP levels within 24 hours (26,5±51 mg/L). MMP-9 levels were normal and MDA levels increased (1.250±55 pM/L) at the onset. Both MMP-9 and MDA decreased significantly by the 5th day ($p=0.02$ and 0.09 , respectively). MMP-9 and MDA changes were strongly

Correspondencia

Investigador Responsable: Dr. Alex Bittner Braemer
Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile
E-mail: abittner@entelchile.net

correlated ($r=0.95$, $p<0.05$). No significant correlations of changes between MDA and BNP or between MMP-9 and BMP were observed.

Conclusion: Indicators of inflammation and oxidative stress are increased at the beginning of ACS. The decrease in both phenomena are apparently related, suggesting an association of inflammation and oxidative stress in this syndrome.

Introducción

Durante los últimos años se ha hecho evidente que la inflamación juega un rol fundamental en el desarrollo de la placa aterosclerótica y sus manifestaciones clínicas¹. Asimismo, los síndromes coronarios agudos (SCA) se producen como complicación de placas infiltradas por macrófagos, que por fenómenos de fagocitosis, y estimulación de la producción de metaloproteinasas (MMP), asociado a la acción de otras células inflamatorias, debilitan la capa fibrosa de la placa y predisponen a la ruptura de ésta²⁻⁵. Marcadores inflamatorios como proteína C reactiva ultrasensible (PCRus), fibrinógeno y citoquinas proinflamatorias se encuentran elevados en el SCA⁶. Las metaloproteinasas corresponden a una familia de endoproteinasas que degradan componentes de la matriz extracelular. Estas enzimas se encuentran precozmente elevadas post-infarto en el plasma (durante las primeras 24 horas). 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)⁷⁻⁹.

Por otra parte, existe evidencia creciente que el estrés oxidativo (EO), definido como un desbalance entre oxidantes y antioxidantes endógenos, con predominio de los primeros, contribuye a la disfunción vascular y al proceso aterogénico¹⁰. 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 ruptura¹¹. En pacientes con infarto agudo al miocardio, nuestro grupo ha demostrado un aumento de la peroxidación lipídica, cuantificada mediante malondialdehído plasmático¹². Se ha postulado que podría deberse a fenómenos de isquemia-reperfusión de los miocitos. La inflamación es otra potencial fuente de radicales libres y a su vez, el EO puede perpetuar el fenómeno inflamatorio. Sin embargo, no se ha demostrado una asociación entre los fenómenos de inflamación y estrés oxidativo en el síndrome coronario agudo.

El objetivo del presente estudio es evaluar la relación entre la inflamación, determinada mediante niveles de proteína C reactiva ultrasensible y enzimas de degradación de la matriz extracelular (metaloproteinasa-9), y el estrés oxidativo en el síndrome coronario agudo.

Métodos

Se estudió en forma prospectiva a 10 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 cumplían 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 > a 3 puntos¹³.
- Cumplir con al menos uno de los siguientes:
- Cambios electrocardiográficos isquémicos, caracterizados por infradesnivel del segmento ST > 1mm en dos derivaciones contiguas, t negativa > 3mm o elevación transitoria del segmento ST en dos derivaciones contiguas.
- 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), enfermedades inflamatorias crónicas o agudas. Además, se excluyó del análisis a los pacientes que entre el primer y quinto día 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 planilla especialmente diseñada 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 para realizar determinaciones bioquímicas de: inflamación, mediante PCRus; degradación de matriz extracelular, midiendo actividad de metaloproteínasa 9 (MMP-9); estrés oxidativo, cuantificando malondialdehído (MDA) plasmático; y compromiso hemodinámico, con péptido natriurético cerebral (proBNP). Al quinto día se repitió la medición de MMP-9, MDA y proBNP. Se estudió la evolución de estos parámetros (la diferencia entre los valores del primer y quinto día) y la correlación entre las diferencias de cada una de 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^{14,15}.
- **Actividad plasmática de MMP-9:** Se determinó mediante zimografía en geles de 10% poli(acrilamida)-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 μM 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^{16,17}. 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)¹⁸. 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 ± desviación estándar. Las variables categóricas como mediana y rango.

Para determinar diferencias significativas en cada variable entre el primer y quinto día se usó test t de Student. Se usó correlación muestral de Pearson para evaluar la asociación entre las diferentes determinaciones, como también para evaluar las correlaciones entre las diferencias temporales para cada variable.

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

Resultados

De los 10 pacientes estudiados, 7 fueron hombres. La edad media fue de 63±10 años (50-80 años). 3 pacientes tenían el antecedente de infarto al miocardio previo, 5 eran portadores de angina crónica estable, 2 habían sido sometidos a angioplastia coronaria y uno era portador de insuficiencia cardiaca, compensada al momento del ingreso. 7 eran hipertensos, 8 dislipidémicos, 3 diabéticos y 6 de ellos eran fumadores. La duración del dolor fue de 120±106 min (10 a 360 min). El tiempo promedio desde el inicio del dolor hasta su ingreso a la unidad coronaria fue de 321±203 min (120 a 720 min). Todos los pacientes presentaron alteraciones del electrocardiograma al ingreso: infradesnivel del segmento ST en 7 pacientes, t negativa profunda en 2 y supradesnivel transitorio del segmento ST en un paciente. 6 de los 10 pacientes presentaron elevación de CK/CKMB. Todos tuvieron Troponina I sobre el valor normal para nuestro laboratorio (0,05 ng/ml), 8 de ellos con valor sobre 0,5 ng/ml, considerado diagnóstico para infarto y el valor promedio fue 3,47±3,15 ng/ml. Todos los pacientes tuvieron evidencia de inflamación, con PCRus elevada: 26,5±51 mg/L (valor normal < 3 mg/L). Los niveles de MDA también se encontraron elevados, con respecto a valores reportados previamente para sujetos sanos¹⁹: 1,25±0,55 μM/L vs 0,9±0,1 μM/L, reflejando un aumento de la peroxidación lipídica al ingreso. La actividad de MMP-9 plasmática se expresó como valor normalizado a la primera medición.

Al quinto día de evolución, tanto los niveles de MMP-9 como MDA cayeron en forma significativa (p=0,02 y p=0,009 respectivamente) (*Figuras N°1 y 2*). Se demostró una estrecha correlación entre la disminución de los niveles de MDA y de actividad de MMP-9 plasmática (r=0,95, p<0,001) (*Figura N°3*). No se demostró una correlación significativa entre los valores iniciales ni entre la modificación

de los valores del ingreso y del quinto día de evolución de MDA y BNP ($r=-0,36$) ni entre MMP-9 y BNP ($r=-0,33$). Tampoco encontramos una correlación estadísticamente

significativa entre niveles de inflamación al ingreso (PCRus) y grado de necrosis miocárdica (peak de Troponina I).

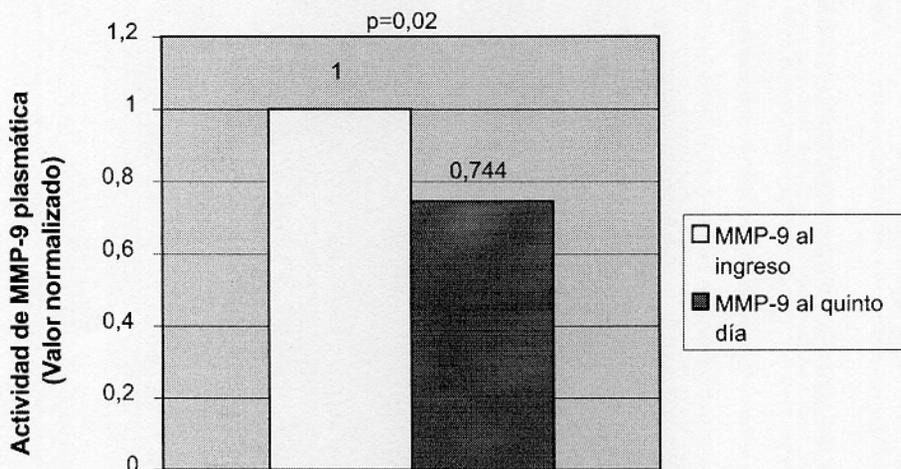


Figura 1. Actividad de MMP-9 plasmática al ingreso y al quinto día de evolución.

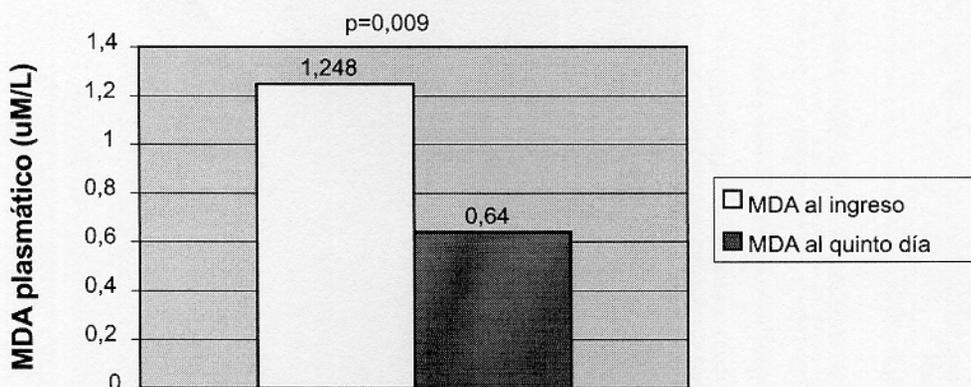


Figura 2. Estrés oxidativo cuantificado mediante MDA plasmático en SCA al ingreso y al quinto día de evolución.

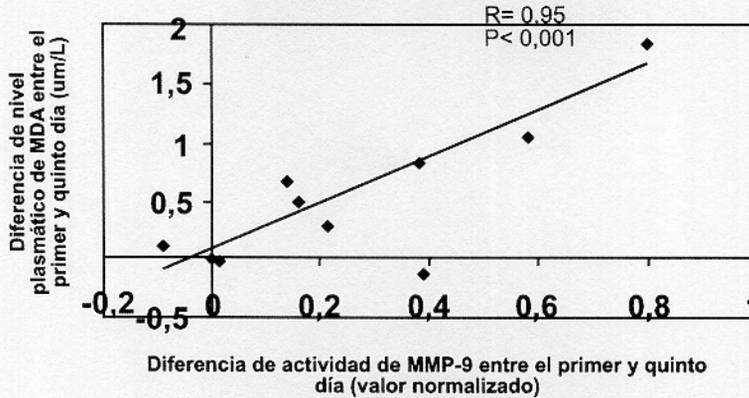


Figura N3. Correlación entre las diferencias de la actividad de MMP-9 plasmática y niveles plasmáticos de MDA entre el primer y quinto día de evolución del SCA.

Discusión

En el presente estudio se demuestra un aumento en la actividad inflamatoria sistémica en pacientes que ingresan al hospital con un síndrome coronario agudo sin supradesnivel del segmento ST de alto riesgo. Esto se evidencia por niveles de PCRus por sobre los normales en las primeras 24 horas de evolución, lo cual es concordante con lo reportado previamente por otros autores^{6, 20, 21}. 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 trombogénico, que es fundamental en la génesis del síndrome coronario^{1,22}. Por otra parte, la PCR parece no ser sólo un reflejo del estado proinflamatorio de los síndromes coronarios agudos, sino que 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 VCAM²³⁻²⁵.

Como se ha mencionado, algunas citoquinas proinflamatorias, como IL-1, IL-6 y TNF- α estimulan la

transcripción de las metaloproteinasas, sobre todo las del grupo de las gelatinasas, representadas por MMP-2 y MMP-9⁷⁻⁹. En las regiones de acumulación de células espumosas en las placas ateroscleróticas se ha encontrado presencia de MMP, por lo que éstas se han asociado a la vulnerabilidad de la placa²⁶. En este estudio no hemos determinado los niveles de metaloproteinasas, sino que su actividad plasmática, normalizada a los valores iniciales para cada paciente. Por lo anterior, no podemos afirmar categóricamente que exista un aumento en la actividad de estas enzimas en las primeras 24 horas de evolución del síndrome coronario agudo. 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.

En cuanto al estrés oxidativo, la mayor parte de las publicaciones han mostrado un aumento de éste durante el desarrollo del infarto agudo al miocardio. Fuji et al demostraron un aumento de las LDL oxidadas intracoronarias en el síndrome coronario agudo²⁷. 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

F_{2α} y malondialdehído^{28,29}. Esto se ha explicado por el fenómeno de isquemia-reperusión de los miocitos. Sin embargo, este 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 reperusión¹². 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 cuadros³⁰. En pacientes sometidos a cirugía de revascularización miocárdica se ha reportado recientemente un aumento del estrés oxidativo, cuantificado mediante 8-iso-PGF_{2α}, y de la actividad de MMP-2 y MMP-9 en líquido pericárdico, con una correlación positiva significativa entre ambos³¹.

En este estudio hemos demostrado por primera vez la asociación entre actividad de enzimas de degradación de la matriz extracelular (MMP-9) en plasma, como parte de un proceso inflamatorio sistémico, y estrés oxidativo, cuantificado en este caso por MDA como producto de peroxidación lipídica, lo que constituye el principal resultado de nuestro estudio. Analizando las modificaciones en la actividad de MMP-9 plasmática y niveles plasmáticos de MDA entre el primer y quinto día de evolución del síndrome coronario agudo, hemos encontrado un coeficiente de correlación "r" entre ambos fenómenos de 0,95, lo que ha resultado estadísticamente significativo, a pesar del reducido tamaño de la muestra utilizada. Si bien esto no permite establecer una relación de causa-efecto entre ambos procesos, la estrecha correlación demostrada habla fuertemente en favor de una participación conjunta en la cascada fisiopatológica que termina en la inestabilización de la placa aterosclerótica coronaria y en la ocurrencia del

síndrome clínico. No se demostró en el presente trabajo ninguna asociación entre los fenómenos de inflamación y la magnitud de la necrosis miocárdica ni entre inflamación o estrés oxidativo y compromiso hemodinámico, representado por los valores de proBNP. 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 sí solos pueden modificar las variables medidas, como es la elevación del estrés oxidativo en la insuficiencia cardíaca. De esta manera, no sorprende el hecho de haber demostrado una fuerte asociación entre inflamación y estrés oxidativo en el SCA, independiente de las otras variables estudiadas en este grupo de pacientes. Sin embargo, encontramos como limitante en el análisis de nuestros resultados el número pequeño de enfermos estudiados, lo que no nos permite excluir con certeza una asociación entre inflamación o estrés oxidativo, y la magnitud de elevación de enzimas miocárdicas o los valores de proBNP. Pensamos que se requiere de futuros estudios con un número más alto de pacientes, que otorguen mayor potencia estadística, para confirmar nuestros resultados, así como para evaluar la participación de otras metaloproteinasas en el desarrollo del síndrome coronario agudo.

Como conclusión, podemos afirmar que en los síndromes coronarios agudos de alto riesgo se encuentra un aumento precoz del grado de inflamación y estrés oxidativo en el plasma; que ambos fenómenos están estrechamente relacionados, y que esta asociación parece ser independiente de la magnitud de la necrosis miocárdica y de la repercusión hemodinámica del cuadro coronario. Estos hechos apoyan un rol conjunto de inflamación 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 Wal A, 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 I, et al. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *Circulation* 1994;90:775-8.
4. Matrisian L. The matrix degrading metalloproteinases. *Bioessays* 1992;14:455-63.
5. Rennick R, Ling K, Humphries S, et al. Effect of acetyl-LDL on monocyte/macrophage expression of matrix metalloproteinases. *Atherosclerosis* 1994;109:192.
6. Yamashita H, Shimada K, Seki E, et al. Concentrations of interleukins, interferon and C-reactive protein in stable and unstable angina pectoris. *Am J Cardiol*

- 2003;91:133-136.
7. 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.
 8. Malik N, Greenfield B, Wahl A, Kiener P. Activation of human monocytes through CD40 induces matrix metalloproteinases. *J Immunol*. 1996;156:3952-3960.
 9. 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.
 10. 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.
 11. Sorescu D, Weiss D, Lassegue B, et al. Superoxide production and expression of Nax family proteins in human atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1439-25.
 12. Díaz-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.
 13. 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.
 14. 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.
 15. Rifai N, Tracy R, Ridker P. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999;45:2136-2141.
 16. 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.
 17. 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.
 18. Díaz-Araya G, Godoy L, Naranjo L, Squella J, et al. Antioxidant effects of 1,4-dihydropyridine and nitroso aryl derivatives on the Fe+3/ascorbate-stimulated lipid peroxidation in rat brain slices. *Gen Pharmacol* 1998;31:285-391.
 19. Castro P, Pérez O, Greig D, Díaz-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.
 20. 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.
 21. 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.
 22. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91:2844-2850.
 23. Pasceri V, Willerson J, Yeh E. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000;102:2165-2168.
 24. Theroux P, Willerson J, Armstron P. Acute coronary syndromes. Fifty years of progress. *Circulation* 2000;102 (20 suppl 4):IV2-IV13.
 25. Zwaka T, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein mediated low density lipoprotein uptake by macrophages. Implication for atherosclerosis. *Circulation* 2001;103:1194-1197.
 26. 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.
 27. Fuji 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.
 28. 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.
 29. Muzakova V, Kandar R, Vojtisek P, Skalicky J, Cervinkova Z. Selective antioxidant enzymes during ischemia/reperfusion in myocardial infarction. *Physiol Res* 2000;49:315-322.

30. 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.
31. 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.