

INDICE

Introduzione	Pag. 2
Scopo dello studio	Pag. 9
Metodi	Pag. 10
Risultati	Pag. 18
Discussione	Pag. 22
Bibliografia	Pag. 30
Legenda alle figure	Pag. 38
Figure	Pag. 40

INTRODUZIONE

Al contrario delle forme croniche della cardiopatia ischemica (rappresentate sostanzialmente dall'angina stabile da sforzo), le sindromi coronariche acute (angina instabile, angina variante, infarto miocardico, morte improvvisa) sono solitamente causate da una riduzione assoluta dell'apporto ematico al miocardio (1-3). In particolare, nell'ultimo decennio l'ipotesi della trombosi intracoronarica, superimposta ad una placca ulcerata o fissurata come causa primaria di riduzione del flusso coronarico, ha ottenuto sempre più larghi consensi da parte dei ricercatori; ciò nonostante, tuttavia, gli esatti meccanismi fisiopatologici responsabili della formazione del trombo intracoronarico rimangono ancora poco chiari e in larga misura elusivi.

Il substrato anatomopatologico comune alle varie forme cliniche di cardiopatia ischemica sia croniche che acute è rappresentato dalla placca aterosclerotica che protrude più o meno significativamente all'interno del lume vascolare; tuttavia, mentre nei pazienti con angina stabile la sintomatologia ischemica è tipicamente causata da un aumento delle richieste metaboliche del miocardio non accompagnate da un parallelo aumento del flusso coronarico, nei pazienti con sindromi coronariche acute la sintomatologia ischemica compare di solito a riposo ed è correlata a riduzioni assolute del flusso coronarico. Appare evidente quindi che la placca aterosclerotica da sola non rappresenta l'elemento fisiopatologico determinante per quanto riguarda tali sindromi. Infatti, i pazienti con sindromi coronariche acute presentano in una elevata percentuale di casi placche coronariche complesse,

caratterizzate cioè da lesioni di vario grado del rivestimento esterno della placca, ulcerazioni della stessa e presenza di trombosi intraluminale (4). La presenza di trombosi intraluminale non occludente all'angioscopia coronarica è un segno molto frequente in questi pazienti, essendo presente in oltre il 70-80% dei pazienti con angina instabile (4, 5) e nella quasi totalità dei pazienti con infarto miocardico non-Q (6-8).

La trombosi coronarica superimposta a rottura e/o fissurazione della placca aterosclerotica è ritenuto attualmente il meccanismo patogenetico fondamentale responsabile delle manifestazioni cliniche delle sindromi coronariche acute.

Recenti studi sottolineano l'importanza dei processi infiammatori nella genesi, progressione e rottura della placca aterosclerotica. Qualsiasi stimolo infiammatorio (LDL ossidate, radicali dell'ossigeno, diabete, infezioni etc) può

perturbare il naturale equilibrio dell'endotelio conferendogli un fenotipo "infiammato" (9). Il risultato di questi processi è l'aumentata espressione di molecole di adesione (ICAM, VCAM), proteine chemotattiche (MCP-1), interleuchine, proteina C-reattiva, fenomeni apoptotici e "tissue factor" che nell'insieme favoriscono i fenomeni di trombosi intravascolare (10,11).

Dati accumulati a riguardo suggeriscono che la rottura di placca, il cambiamento geometrico che essa subisce, la conseguente trombosi e l'organizzazione del trombo svolgono anch'essi un ruolo importante nella *progressione* dell'aterosclerosi, sia in pazienti asintomatici che in quelli con angina stabile (12).

L'ulcerazione della placca sembrerebbe legata sia a processi attivi che passivi. Questi ultimi dipendono da forze fisiche

(shear stress) che esercitano la loro azione nei punti in cui il cappuccio fibroso è più friabile e più soggetto allo shear stress stesso (zona “shoulder” o spalla). Tali forze fisiche possono influenzare la vulnerabilità della placca dipende in rapporto a tre fattori principali: 1) lo stress di parete circonferenziale che determina il cosiddetto affaticamento della placca o “cap fatigue”; 2) la localizzazione, la grandezza e la consistenza del core ateromasico; 3) le caratteristiche del flusso, con particolare riguardo all’impatto del flusso stesso sulla placca, in rapporto alla sua turbolenza ed angolazione e alla presenza di eventuali biforcazioni del vaso (13).

Appare chiaro, tuttavia, da numerosi studi che la rottura di placca non è un fenomeno puramente meccanico. L’inflammazione, ad esempio, può giocare un ruolo importante nel favorire la complicità della placca. E’ noto infatti che

alcuni markers di infiammazione sistemica, come la proteina C-reattiva, si associano ad una cattiva prognosi, in termini di eventi cardiovascolari maggiori, sia in pazienti con cardiopatia ischemica nota, che in soggetti asintomatici e apparentemente sani. Tuttavia, al momento non è chiaro se la PCR rappresenti un semplice marker prognostico o se, piuttosto, contribuisca in maniera attiva alla fisiopatologia dell'aterosclerosi attraverso una diretta modulazione della risposta immunologica ed infiammatoria. E' dimostrato infatti che la PCR, lega i tessuti danneggiati, gli antigeni nucleari, le lipoproteine e le cellule apoptotiche. Essa inoltre partecipa all'attivazione del complemento, contribuendo quindi al danno tissutale. Recentemente, è stato poi dimostrato che tale proteina può indurre l'espressione di molecole di adesione e la produzione di alcune chemochine in cellule endoteliali umane, suggerendo

quindi che essa non solo rappresenta un marker dell'inflammation ma ne è anche un importante modulatore.

Numerosi studi hanno poi dimostrato che la placca aterosclerotica instabile, prelevata tramite aterectomia direzionale, è molto ricca di macrofagi (14), cellule capaci di degradare la matrice extracellulare attraverso la secrezione di enzimi proteolitici come le metalloproteasi (MMPs), in particolare le isoforme -2 e -9, che possono indebolirne il cappuccio fibroso predisponendo quindi alla rottura e alla destabilizzazione della placca stessa (15). In questo contesto, è possibile ipotizzare che la proteina C-reattiva eserciti un effetto diretto su alcune cellule infiammatorie, come i macrofagi, le quali, a loro volta, rilasciano nel mezzo circostante elevate quantità di MMPs che possono quindi rappresentare l'evento finale in grado di favorire la rottura della placca. A sostegno di

questa teoria è il lavoro di Kai et al. nel quale tali autori hanno dimostrato che, nel sangue periferico, i livelli sierici di MMP-2, costitutivamente espressa dalle cellule muscolari lisce della parete vascolare di arterie normali, ed i livelli plasmatici di MMP-9 risultano aumentati in pazienti con ACS (16). Questo studio, tuttavia, possiede l'importante limitazione di aver misurato le concentrazioni sieriche di MMP-2 nel sangue periferico; in queste condizioni, pertanto, è impossibile stabilire con certezza il ruolo fisiopatologico della MMP-2 all'interno del circolo coronarico.

SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo del presente studio è stato pertanto di valutare il ruolo fisiopatologico delle MMPs, in particolare della isoforma MMP-2, nel contribuire all'insorgenza della

complicanza della placca. Per dimostrare inquivocabilmente tale ruolo, i prelievi di sangue venivano effettuati contemporaneamente dal seno coronarico e dall'aorta ascendente in pazienti sottoposti a cateterismo cardiaco diagnostico, valutando in tal modo se i livelli *transcardiaci* di MMP-2 risultano aumentati nei pazienti affetti da sindromi coronariche acute. Inoltre, un altro obiettivo del presente studio è stato di correlare i livelli transcardiaci di MMP-2 con quelli di PCR, allo scopo di dimostrare un ruolo diretto della PCR in questo fenomeno. La correlazione della produzione intracoronarica di PCR con l'aumentato rilascio di MMPs *all'interno del circolo coronarico* potrebbe rappresentare un importante meccanismo fisiopatologico responsabile dell'instabilità della placca e dell'insorgenza delle sindromi coronariche acute.

METODI

Pazienti

Venivano inclusi nello studio 39 pazienti, di età compresa tra 56 ed 82 anni (27 maschi e 12 femmine), pervenuti presso il nostro Istituto per eseguire un esame coronarografico e/o una procedura di rivascularizzazione percutanea. Dieci pazienti presentavano coronarie epicardiche angiograficamente indenni ed hanno costituito, pertanto, il gruppo di controllo; 14 pazienti presentavano una storia tipica di angina stabile, 15 pazienti venivano ricoverati per sindrome coronarica acuta. Sono stati esclusi dall'arruolamento pazienti con patologie concomitanti di tipo neoplastico, infettivo, autoimmune, epatico, con disordini vascolari periferici o che avessero eseguito un

qualsiasi intervento chirurgico nei sei mesi precedenti. Il consenso informato scritto è stato richiesto e ottenuto da tutti i soggetti arruolati.

La diagnosi di sindrome coronarica acuta veniva posta sulla base della presenza di precordialgia a riposo nelle ultime 24 ore, anomalie transitorie del tracciato elettrocardiografico standard con tratto ST non persistentemente sopralivellato, e aumento dei livelli sierici dei marcatori di danno miocardico (CK-MB massa, troponina I) occorsi nelle 24 ore precedenti al ricovero.

I pazienti con angina stabile da sforzo venivano selezionati nel nostro ambulatorio sulla base della positività del test ergometrico e/o scintigrafico. Tutti i pazienti infatti, presentavano una storia tipica di dolore toracico da sforzo, in assenza di eventi acuti registrati nei 6 mesi precedenti,

con test ergometrico al treadmill e/o miocardioscintigrafia
positiva per ischemia indotta dal carico lavorativo.

Protocollo Sperimentale

In tutti i pazienti la procedura di rivascolarizzazione veniva effettuata attraverso incannulazione dell'arteria e della vena femorale con introduttori 6 o 7 F. I prelievi di sangue, per le successive misurazioni della MMP-2 e della PCR, venivano ottenuti dal seno venoso coronarico (mediante un catetere "multipurpose" opportunamente posizionato in seno coronarico) e dall'aorta ascendente (attraverso il catetere guida successivamente usato per eseguire l'angioplastica) prima della dilatazione con palloncino. I prelievi venivano effettuati in sodio citrato 0.9% (9:1 v/v) e immediatamente posti in ghiaccio. Successivamente, i campioni venivano centrifugati a

1500 x g per 15 min. Il plasma veniva separato e congelato a -80 C° fino al suo utilizzo (vedi sotto).

Misurazione delle concentrazioni e dell'attività della metalloproteinasi 2 e della proteina C-reattiva.

Le metalloproteasi sono enzimi in grado di degradare vari componenti della matrice extracellulare; esse vengono normalmente secrete in forma inattiva (zimogeni) e vengono successivamente attivate attraverso l'azione di diverse sostanze. Pertanto, quando si valuta il rilascio di tali enzimi, è importante misurare, oltre alla quantità totale dell'enzima rilasciato, anche il grado di attivazione dello stesso. Quindi, nei campioni di plasma ottenuti come descritto precedentemente, venivano valutate sia le concentrazioni totali che l'attività catalitica della MMP-2 mediante metodica

zimografica. Le concentrazioni plasmatiche di PCR venivano invece misurate mediante saggio ELISA ad alta sensibilità, disponibile commercialmente.

Zimografia. I campioni di plasma (20 μ l) venivano mescolati con Laemmli buffer 2x (20 μ l) in assenza di β -mercaptoetanololo e riscaldati per 30 minuti a 37 °C. Venti μ l caricato di questa soluzione venivano quindi caricate nel gel da zimografia insieme agli standard di peso molecolare noto e a quantità note di MMP-2 ricombinante e quindi sottoposti ad elettroforesi in gel di poliacrilamide al 10% contenente 1% di gelatina. La MMP-2 ricombinante sia in forma inattiva che attiva (Calbiochem, La Jolla, CA) veniva caricata nel gel come controllo positivo e per ottenere la curva di calibrazione. Al termine della corsa elettroforetica, il gel veniva sottoposto a 3 lavaggi in 2.5% Triton X-100 per rimuovere l'SDS,

incubato a 37 °C per 48 ore in 200 mM NaCl contenente 40 mM Tris-HCl e 10 mM CaCl₂, pH 7.5, e colorato con Coomassie Blue. La presenza di attività gelatinolitica veniva identificata, dopo decolorazione, dalla presenza di bande chiare su uno sfondo uniforme blu. Le quantità di MMP-2, sia totale che in forma attiva, venivano quantificate usando una curva di taratura ottenuta da quantità note di MMP-2 ricombinante.

Analisi statistica

Tutti i valori sono espressi come media \pm deviazione standard.

Per l'analisi statistica dei livelli plasmatici dei vari indici valutati nel presente studio veniva utilizzato un test ANOVA per misurazioni ripetute, seguito, quando necessario, da un t-

test di Student. Un valore di p minore di 0.05 definiva una differenza significativa tra le popolazioni.

RISULTATI

Caratteristiche demografiche dei pazienti. Non vi erano significative differenze per età, sesso e fattori di rischio cardiovascolare tra i tre gruppi inclusi nello studio. Inoltre, non vi erano differenze significative anche per quanto riguarda la terapia farmacologica cui erano sottoposti i tre diversi gruppi di pazienti. Il numero di lesioni coronariche e i vasi interessati erano simili nel gruppo dei pazienti stabili e nel gruppo con sindromi coronariche acute (Tabella 1).

Misurazione delle concentrazioni e dell'attività della metalloproteinasi 2 e della proteina C-reattiva. Nei pazienti con coronarie angiograficamente esenti da lesioni aterosclerotiche (controlli), le concentrazioni di MMP-2 nel

seno coronarico e nell'aorta ascendente erano pari a 385 ± 89 e 359 ± 61 ng/ml, $p=NS$. Analogamente, le concentrazioni di MMP-2 nei pazienti con angina stabile erano pari a 310 ± 75 e 345 ± 54 ng/ml, rispettivamente nell'aorta ascendente e nel seno coronarico, $p=NS$. Al contrario, nei pazienti affetti da sindromi coronariche acute, si riscontravano concentrazioni sieriche di MMP-2 significativamente più alte nei campioni prelevati dal seno coronarico, rispetto a quelli ottenuti dall'aorta ascendente, 442 ± 60 e 300 ± 56 ng/ml, $p<0.001$ (Figura 1). I valori di MMP-2 riscontrati nel seno coronarico dei pazienti con sindromi coronariche acute erano significativamente maggiori anche dei valori corrispondenti misurati nei pazienti di controllo e in quelli affetti da angina instabile. Risultati simili, anche se le concentrazioni assolute

erano minori, sono stati riscontrati quando venivano valutati i livelli sierici della forma attiva della MMP-2 (Figura 2).

Le concentrazioni sieriche di PCR non differivano significativamente nei campioni prelevati dal seno coronarico e dall'aorta sia dei pazienti di controllo senza stenosi coronariche, che in pazienti con angina stabile, anche se in quest'ultimo gruppo i livelli assoluti di PCR erano maggiori rispetto a quelli osservati nei pazienti di controllo (Figura 3).

Al contrario, nei pazienti con sindromi coronariche acute, si osservava un aumento significativo delle concentrazioni di PCR nel seno coronarico rispetto ai valori osservati nell'aorta ascendente, 2.13 ± 0.43 vs 1.24 ± 0.31 $\mu\text{g/ml}$, rispettivamente, $p < 0.001$ (Figura 3).

E' interessante notare la stretta correlazione esistente tra le concentrazioni transcadiache di MMP-2, espresse come

rapporto tra le concentrazioni misurate in seno coronarico e quelle misurate in aorta, e le concentrazioni trancardiache di PCR (Figura 4), indicando una stretta dipendenza tra i due fenomeni.

DISCUSSIONE

La rottura della placca aterosclerotica e la conseguente attivazione della cascata coagulativa con la formazione del trombo è considerato un evento fondamentale nella fisiopatologia delle sindromi coronariche acute. Anche se interpretati come distinti sino a pochi anni orsono, i processi di aterosclerosi e trombosi vengono oggi considerati strettamente intercorrelati, tanto che spesso vengono integrati sotto il nome di “*aterotrombosi*” (17-19). Nell’ ultimo decennio ha acquisito sempre più consensi scientifici l’ipotesi che l’aterosclerosi sia una malattia infiammatoria cronica della parete arteriosa, con differenti possibilità evolutive, risultante dall’interazione tra vari componenti cellulari (monociti, macrofagi, linfociti, piastrine, cellule endoteliali e muscolari lisce), struttura della parete arteriosa, background genetico del paziente e fattori

ambientali (fattori di rischio per malattie cardiovascolari, infezioni croniche, etc). Una volta formatesi, le placche aterosclerotiche possono andare incontro a diversi percorsi evolutivi; esse possono rimanere silenti - soprattutto se non sono emodinamicamente significative - o dare luogo ad una sintomatologia clinica quanto mai variabile che va dalle manifestazioni croniche dell'angina stabile da sforzo ai caratteri imprevedibili e repentini delle sindromi coronariche acute. Queste ultime trovano il loro meccanismo fisiopatologico principale nell'erosione dell'endotelio, nella rottura o fissurazione del cappuccio fibroso della placca e conseguente esposizione del tessuto sottoendoteliale protrombotico, a sua volta responsabile della formazione del trombo intracoronarici che causa una interruzione più o meno prolungata del flusso coronarico (6).

A tale proposito, grande attenzione è stata rivolta all'identificazione di quei fattori potenzialmente responsabili della complicità della placca; infatti, la placca si va sempre più definendo come una struttura dinamica nella quale l'intervento di numerosi fattori (infiammatori, genetici, ambientali) possono essere in grado di condizionare il destino della stessa, causando un viraggio verso una fase di instabilità. Più specificamente, nella placca instabile sono stati riscontrati una considerevole quota lipidica, grandi quantità di citochine infiammatorie, e di macrofagi.

Recentemente, grande importanza è stata data al ruolo della proteina C reattiva come marker infiammatorio in grado di stratificare dal punto di vista prognostico non solo i pazienti con nota coronaropatia, ma anche soggetti apparentemente sani. Infatti, importanti studi epidemiologici hanno

chiaramente evidenziato il ruolo della PCR come marker predittivo in grado di determinare il rischio di eventi cardiovascolari maggiori, non solo in pazienti già affetti da cardiopatia ischemica, ma anche in soggetti apparentemente sani. Tuttavia, al momento non è chiaro se la PCR sia un semplice marker prognostico o se, piuttosto, agisca direttamente sulla parete vascolare, contribuendo in tal modo in maniera attiva alla storia naturale dell'aterosclerosi attraverso una diretta amplificazione della risposta immunologica ed infiammatoria. E' infatti dimostrato che la PCR, originariamente isolata come proteina che lega il polisaccaride C della parete cellulare del pneumococco (20), si associa ai tessuti danneggiati, agli antigeni nucleari, alle lipoproteine e alle cellule apoptotiche. Essa inoltre partecipa all'attivazione del complemento, contribuendo quindi al danno

tissutale (21). A rafforzare tale ipotesi esistono evidenze che la PCR si accumula nelle placche aterosclerotiche ma non nella parete dei vasi normali (22, 23) e che depositi di PCR sono riscontrabili nelle lesioni aterosclerotiche precoci prima della comparsa dei monociti (24). Recentemente, è stato poi dimostrato che tale proteina può indurre l'espressione di molecole di adesione e la produzione di alcune chemochine in cellule endoteliali umane (25, 26), suggerendo quindi che essa non solo rappresenta un marker dell'infiammazione ma ne è anche un importante amplificatore. Infine, è stato anche dimostrato come la PCR possa anche agire sinergicamente con il lipopolisaccaride batterico nell'indurre l'espressione del tissue factor (TF) da parte dei monociti in coltura (27), suggerendo per la prima volta un suo ruolo come anello di

congiunzione tra la risposta immune, l'infiammazione e la trombosi (28-43).

I dati del nostro studio confermano queste osservazioni preliminari sul ruolo diretto della PCR come molecola effettrice dell'aterotrombosi e suggeriscono per la prima volta un ruolo diretto della PCR nel favorire la rottura della placca aterosclerotica: infatti, nei pazienti con sindromi coronariche, abbiamo osservato una correlazione molto stretta tra i livelli transcardiaci di PCR e quelli di MMP-2, a dimostrazione che i due fenomeni sono interdipendenti. Inoltre, il nostro gruppo ha recentemente osservato che la PCR è in grado di stimolare la secrezione di MMP-2 da parte delle cellule muscolari lisce in coltura (Ragni et al, osservazioni non pubblicate); questo fenomeno, congiuntamente alle osservazioni riportate nel presente studio, indica che la PCR, attraverso l'espressione di

MMP-2 all'interno del circolo coronarico, sia in grado di favorire la complicità della placca e quindi l'insorgenza delle sindromi coronariche acute.

In conclusione, l'aumento dei livelli di MMP-2 nel circolo coronarico di pazienti affetti da sindromi coronariche acute, causato dall'aumento della produzione transcardiaca di PCR, come evidenziato dal nostro studio, identifica un nuovo meccanismo fisiopatologico che potrebbe giocare un ruolo chiave nei processi di destabilizzazione della placca e di trombosi intracoronarica. Anche se molto ancora resta da chiarire riguardo tale fenomeno – ad esempio, quali tipi cellulari sono coinvolti nella produzione sia della PCR che delle MMPs – l'identificazione del coinvolgimento delle MMPs nella fisiopatologia delle sindromi coronariche acute

potrebbe indicare un nuovo bersaglio terapeutico di potenziale
interesse in questi pazienti.

BIBLIOGRAFIA

- 1.** Maseri A, L'Abbate A, Pisola A, Marziali M, De Servi S, Parodi O, Balestra AM, Mattini G, Dense DM, Biagini A: Coronary vasospasm in angina pectoris. *Lancet* 1977; 1:713-717.
- 2.** Ambrose JA, Winters SL, Arora R, Eng A, Riccio A, Gorlin R, Fuster V: Angiographic evolution of coronary artery morphology in unstable angina. *J Am Coll Cardiol* 1986; 7:472-478.
- 3.** Willerson JT, Hillis LD, Winniford MD, Buja ML: Speculations regarding mechanisms responsible for acute ischemic heart disease syndromes. *J Am Coll Cardiol* 1986; 8:245-250.
- 4.** Sherman CT, Litvak F Grundfest W, Lee M, Hickey A, Chaux A, Kass R, Blanche C, Matloff J, Morgenstern L, Ganz W, Swan HJC, Forrester J: Coronary angioscopy in patients with unstable angina pectoris. *N Engl J Med* 1986; 315:913-919.
- 5.** Gotoh K, Minamino T, Katoh O, Hamano Y, Fukui S, Hori M, Kusuoka H, Mishima M, Inoue M, Kamada T: The role of intracoronary thrombus in unstable angina:

angiographic assessment and thrombolytic therapy during ongoing anginal attacks. *Circulation* 1988; 77:526-534.

6. DeWood MA, Spores J, Notske R, Mouser LT, Burroughs R, Golden MS, Lang HT: Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *N Engl J Med* 1980; 303:897-902.

7. Buja LM, Willerson JT: Clinicopathologic correlates of acute ischemic heart disease syndromes. *Am J Cardiol* 1981; 47:343-356.

8. Willerson JT, Golino P, Eidt J, Campbell WB, Buja LM. Specific platelet mediators and unstable coronary artery lesions: Experimental evidence and clinical implications. *Circulation* 1989; 80:198-205.

9. Ley K, Huo Y. VCAM-1 is critical in atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001;107:1209 –1210.

10. Reynolds GD, Vance RP. C-reactive protein immunohistochemical localization in normal and atherosclerotic human aortas. *Arch Pathol Lab Med* 1987;111:265–269.

11. Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, et al. C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein

receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20: 2094–2099.

12. Fernandez-Ortiz A, BadimonJJ, Falk E, et al. Characterization of the relative thrombogenicity of atherosclerotic plaque components: implications for consequences of plaque rupture. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:1562-9.

13. Fuster V. Lewis A. Conner Memorial Lecture. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation* 1994;90:2126-46

14. Moreno PR, Falk E, Palacios IF, Newell JB, Fuster V, Fallon JT. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes. Implications for plaque rupture. *Circulation* 1994;90:775-8

15. Libby P, Aikawa M. Evolution and stabilization of vulnerable atherosclerotic plaques. *Jpn Circ J* 2001;65:473-9.

16. Kai H, Ikeda H, Yasukawa H et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:368-372.

- 17.** Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1992;326:310-8.
- 18.** Fuster V, Fayad ZA, Badimon JJ. Acute coronary syndromes: biology. *Lancet* 1999;353 Suppl 2:SII5-9.
- 19.** Ross R. Atherosclerosis - An inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
- 20.** Tillett WS, Francis T Jr. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med* 1930;52:561–571.
- 21.** Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med* 2000;32: 274–278.
- 22.** Lagrand WK, Visser CA, Hermens WT, et al. C-reactive protein as a cardiovascular risk factor: more than an epiphenomenon? *Circulation* 1999;100:96 –102.
- 23.** Reynolds GD, Vance RP. C-reactive protein immunohistochemical localization in normal and atherosclerotic human aortas. *Arch Pathol Lab Med* 1987;111:265–269.
- 24.** Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, et al. C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein

receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20: 2094–2099.

25. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000;102: 2165–2168.

26. Pasceri V, Chang J, Willerson JT, et al. Modulation of c-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation* 2001;103: 2531–2534.

27. Nakagomi A, Freedman SB, Geczy CL. Interferon-gamma and lipopolysaccharide potentiate monocyte tissue factor induction by C-reactive protein: relationship with age, sex, and hormone replacement treatment. *Circulation* 2000;101:1785–1791.

28. Rauch U, Osende JJ, Fuster V, Badimon JJ, Fayard Z, Chesebro JH. Trombus formation on atherosclerotic plaques: pathogenesis and clinical consequences. *Ann Intern Med* 2001;134:224-38.

29. Moreno PR, Purushothaman RK, Fuster V. Internal elastic lamina in the process of plaque disruption. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:288A-9.

- 30.** Stary HC. Composition and classification of human atherosclerotic lesion. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1992;421:277-90.
- 31.** Davies MJ. Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture 1995; *Circulation* 1996;94:2013-20.
- 32.** Toschi V, Gallo R, Lettino M, et al. Tissue Factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 1997; 95:594-9.
- 33.** Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *Am Heart J* 1999;138:S421-S425.
- 34.** Creemers EEJM, Cleutjens JPM, Smits JFM, Daemen MJAP. Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction: a new approach to prevent heart failure? *Circ Res* 2001;89:201-210.
- 35.** Hahn-Dantona EA, Aimes RT, Quigley JP. The isolation, characterization, and molecular cloning of a 75-kDa gelatinase B-like enzyme, a member of the matrix metalloproteinase (MMP) family. An avian enzyme that is MMP-9-like in its cell expression pattern but diverges from mammalian gelatinase B in sequence and biochemical properties. *J Biol Chem* 2000;275:40827-40838.

- 36.** Brown DL, Hibbs MS, Kearney M, Loushin C, Isner JM. Identification of 92-kDa gelatinase in human coronary atherosclerotic lesions. Association of active enzyme synthesis with unstable angina. *Circulation* 1995;91:2125-31.
- 37.** Sawicki G, Sanders EJ, Salas E et al. Localization and translocation of MMP-2 during aggregation of human platelets. *Thromb Haemost* 1998;80:836-839.
- 38.** Radomski A, Stewart MW, Jurasz P, Radomski MW. Pharmacological characteristics of solid-phase von Willebrand factor in human platelets. *Br J Pharmacol* 2001;134:1013-1020.
- 39.** Sawicki G, Salas E, Murat J, Misztal-Lane H, Radomski MW. Release of gelatinase A during platelet activation mediates aggregation. *Nature* 1997;386:616-619.
- 40.** Fernandez-Patron C, Martinez-Cuesta MA, Salas E et al. Differential regulation of platelet aggregation by matrix metalloproteinases-9 and-2. *Thromb Haemost* 1999;82:1730-1735.
- 41.** Cheng L, Mantile G, Pauly R et al. Adenovirus-mediated gene transfer of the human tissue inhibitor of metalloproteinase-2 blocks vascular smooth muscle cell

invasiveness in vitro and modulates neointimal development in vivo. *Circulation* 1998;98:2195-2201.

42. Southgate KM, Fisher M, Banning AP et al. Upregulation of basement membrane-degrading metalloproteinase secretion after balloon injury of pig carotid arteries. *Circ Res* 1996;79:1177-1187.

43. Jenkins GM, Crow MT, Bilato C et al. Increased expression of membrane-type matrix metalloproteinase and preferential localization of matrix metalloproteinase-2 to the neointima of balloon-injured rat carotid arteries. *Circulation* 1998;97:82-90.

LEGENDA ALLE FIGURE

Figura 1. Livelli sierici transccardiaci totali (seno coronarico e aorta) di metalloproteasi-2 (MMP-2) in pazienti con coronarie angiograficamente normali (CON), pazienti con angina stabile da sforzo (SA) e pazienti con sindromi coronariche acute (ACS). Solo in quest'ultimo gruppo di pazienti, è possibile osservare un aumento delle concentrazioni di MMP-2 nel sangue prelevato dal seno coronarico. $*=p<0.001$.

Figura 2. Livelli sierici transccardiaci della forma attiva della metalloproteasi-2 (MMP-2) in pazienti con coronarie angiograficamente normali (CON), pazienti con angina stabile da sforzo (SA) e pazienti con sindromi coronariche acute (ACS). Solo in quest'ultimo gruppo di pazienti, è possibile osservare un aumento delle concentrazioni di MMP-2 nel sangue prelevato dal seno coronarico. $*=p<0.001$.

Figura 3. Livelli sierici transccardiaci (seno coronarico e aorta) di proteina C-reattiva (PCR) in pazienti con

coronarie angiograficamente normali (CON), pazienti con angina stabile da sforzo (SA) e pazienti con sindromi coronariche acute (ACS). Anche in questo caso, solo in quest'ultimo gruppo di pazienti, è possibile osservare un aumento delle concentrazioni di PCR nel sangue prelevato dal seno coronarico. *=p<0.001.

Figura 4. Correlazione tra le concentrazioni transcadiache di PCR e MMP-e in pazienti affetti da sindromi coronariche acute. I dati sono espressi come delta % del rapporto concentrazioni in seno coronarico/concentrazioni in aorta. E' possibile osservare una stretta relazione tra i due parametri misurati.

FIGURE

Figura 1

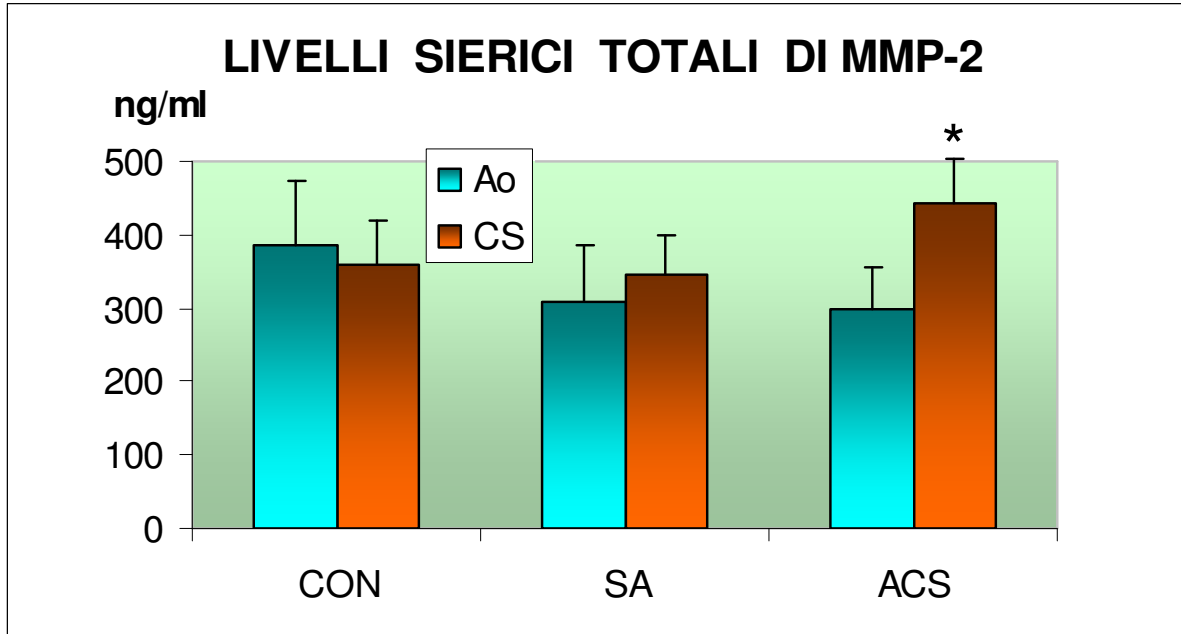


Figura 2

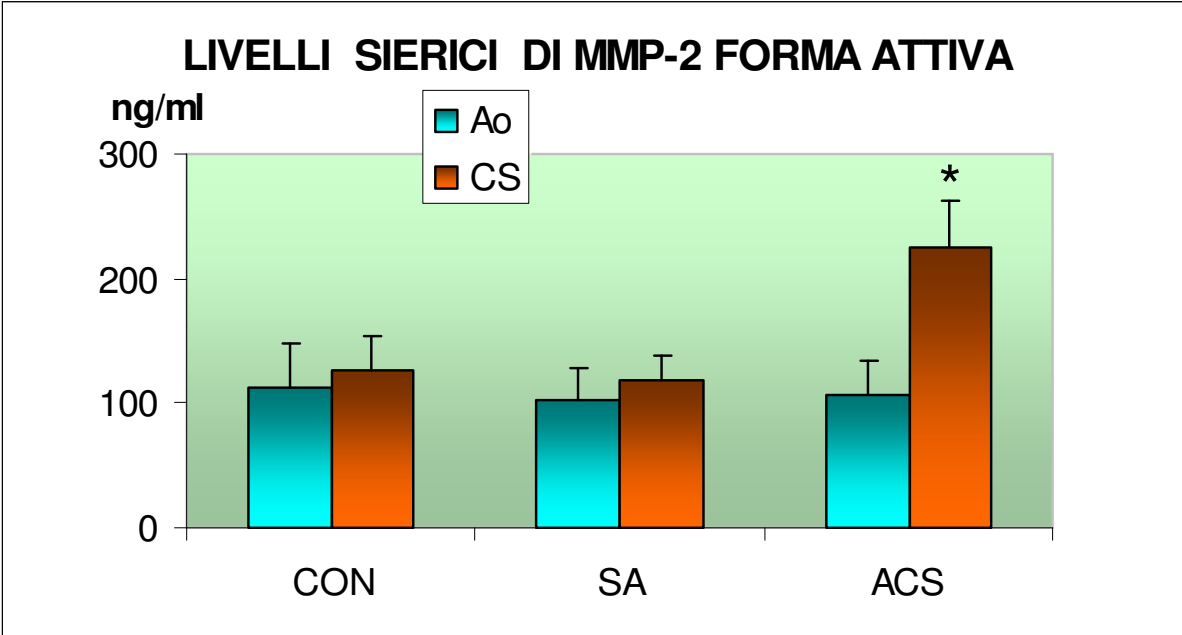


Figura 3

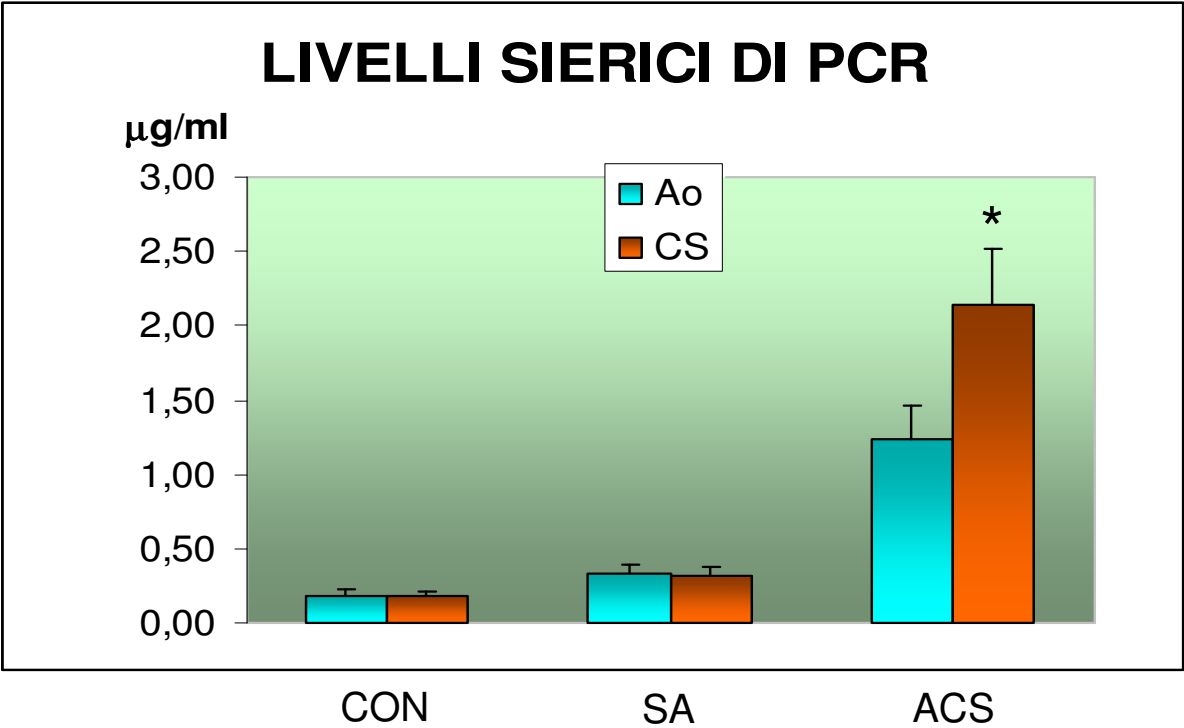


Figura 4

