

# Proteine e Rischio Cardiovascolare

L.M. Biasucci, G. Giubilato, M. Pinnelli, M. Piro

Dipartimento di Medicina Cardiovascolare, Istituto di Cardiologia,  
Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

Questo lavoro è stato presentato nel corso del Convegno Interregionale di Studio: **Patologia Clinica del Cuore**, Altavilla Vicentina, 26-27 maggio 2005.

## Introduzione

Negli ultimi anni i markers sierologici stanno assumendo sempre maggiore importanza nella stratificazione del rischio nelle sindromi coronariche acute (SCA) sia a breve che a lungo termine. Elevati livelli di Proteina C-Reattiva (PCR), indice di uno stato infiammatorio alterato, identificano i pazienti ad alto rischio di morte cardiaca, infarto miocardico, rivascolarizzazione urgente. Dati sempre più consistenti identificano anche il Brain Natriuretic Peptide (BNP) come marker di stratificazione del rischio e indice di danno miocardico soprattutto in pazienti con disfunzione ventricolare sinistra. Le continue ricerche sui meccanismi fisiopatologici alla base delle SCA hanno fatto emergere nel panorama dei markers sierologici (SAA, PAPP-A, PIGF...) ulteriori markers di stratificazione del rischio come HSP60, CD40 Ligand ecc.

## Proteina C-reattiva

I markers sierologici di infiammazione hanno assunto un ruolo ben definito nell'ambito delle SCA solo negli ultimi anni, con l'accumularsi di dati sempre più numerosi sulla PCR il prototipo di proteina di fase acuta. La PCR non è un marker di recente scoperta, fu infatti nel 1930 che Oswald Avery la isolò durante lo studio di pazienti affetti da *Streptococcus Pneumoniae*<sup>1</sup>. Si tratta di una proteina plasmatica altamente conservata dal punto di vista filogenetico, con omologhi in altri vertebrati e in molti invertebrati e il cui gene è localizzato sul braccio corto del cromosoma 1. Negli uomini i livelli di PCR possono aumentare rapidamente e anche fino a 1000 volte rispetto ai livelli basali, in seguito ad uno stimolo infiammatorio acuto che riflette un'umentata sintesi da parte degli epatociti. I livelli trascrizionali di PCR nel fegato sono principalmente regolati dalla interleuchina-6 (IL-6) il cui effetto può anche essere potenziato dall'interleuchina-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ )<sup>2</sup>. Il rapido aumento della PCR a poche ore di distanza da danni o infezioni ai tessuti suggerisce che essa contribuisce alle difese dell'ospite ed ha un ruolo nella risposta immunitaria innata. Per diversi anni livelli sierici di PCR inferiori a 10 mg/L sono stati ritenuti non clinicamente significativi, tuttavia recentemente una gran numero di studi ha dimo-

strato un'associazione tra livelli plasmatici di PCR, compresi tra 3 e 10 mg/L, e il rischio di sviluppare malattie cardiovascolari, sindrome metabolica e cancro del colon. Lievi aumenti nei livelli di PCR sono stati ritenuti anche associati a condizioni mediche non infiammatorie, come diversi polimorfismi genetici della PCR, etnie, diverse abitudini alimentari, e obesità<sup>3</sup>.

Recenti evidenze suggeriscono un possibile ruolo svolto dalla PCR nella patogenesi dell'aterosclerosi. La PCR, infatti, si lega alla fosfolipina delle LDL-ox, up-regola l'espressione di molecole di adesione nelle cellule endoteliali, aumenta l'up-take delle LDL nei macrofagi, inibisce l'espressione della ossido-nitrico sintetasi endoteliale aortica, e aumenta l'espressione e l'attività del PAI-1

Il nostro gruppo ha dimostrato che circa il 70% dei pazienti con angina instabile severa (Braunwald IIIB) è riscontrabile un aumento di PCR e IL-6 (principale stimolo induttore della sintesi epatica di PCR) all'ingresso, nel 50% alla dimissione e nel 45% a sei mesi di follow-up; tale aumento si associa ad un aumento del rischio di instabilità ricorrente e di infarto del miocardio<sup>4,5</sup>.

La risposta di fase acuta osservata in questi pazienti risulta non correlata alla necrosi miocardica o allo stimolo ischemico; essa pertanto non dovrebbe essere considerata un evento secondario al danno ischemico miocardico o alla formazione del trombo, ma un indice di attivazione infiammatoria basale preesistente<sup>6,7</sup>. Inoltre la PCR è stata identificata come un forte predittore di eventi cardiaci avversi e morte in soggetti sani ed in pazienti con angina cronica stabile<sup>8</sup>. L'aumento dei livelli di IL-1Ra (un marker della produzione di IL-1) nelle prime 48 ore di ospedalizzazione nei pazienti con angina instabile si associa ad un aumento del rischio di complicanze intraospedaliere<sup>9</sup>; tale dato è coerente con il comportamento dell'IL-1Ra nella sepsi severa e nella sindrome da reazione infiammatoria sistemica<sup>10</sup>. Recentemente abbiamo riscontrato che nei pazienti con infarto acuto del miocardio la risposta di fase acuta è indipendente dall'estensione dell'area di necrosi, ma correlata ai livelli basali di PCR<sup>11</sup>; in questo studio livelli elevati di PCR sono stati riscontrati nell'85% dei pazienti con infarto miocardico preceduto da angina instabile e nel 45% dei pazienti con infarto miocardico non preceduto da angina instabile, suggerendo l'esistenza di diversi meccanismi fisiopatologici alla base dei due quadri clinici. Uno studio prospettico ha dimostrato che nei pazienti con

coronaropatia documentata, i livelli plasmatici di IL-18, potente citochina pro-infiammatoria in grado di stimolare la sintesi linfocitaria di IFN- $\alpha$ , costituiscono un forte predittore indipendente di morte cardiovascolare a prescindere dalla presentazione clinica (angina stabile o instabile)<sup>12</sup>.

L'impiego della PCR nella stratificazione prognostica sta assumendo sempre maggiore importanza. Nello studio FRISC livelli di PCR >10 mg/L nei pazienti con angina instabile o infarto miocardico non Q si associano ad un aumento significativo di rischio di morte ad un follow-up a 2 anni<sup>13</sup>. Il nostro gruppo ha dimostrato, nei pazienti con angina instabile, livelli elevati di PCR (>3 mg/L) alla dimissione costituiscono un predittore indipendente di morte, infarto miocardico e ricorrenza della sintomatologia anginosa ad un anno di follow up<sup>14</sup>.

Sia per la prognosi a breve termine sia per quella a lungo termine esistono diverse evidenze che supportano il valore additivo della PCR rispetto alle troponine cardiache (T ed I): l'associazione di elevati livelli di PCR con elevati livelli di troponina costituisce un forte predittore di eventi coronarici avversi mentre l'associazione di bassi livelli di PCR e bassi livelli di troponina indica una prognosi eccellente<sup>15</sup>.

### CD40 ligand solubile

Pur considerando il potenziale aterogenico e protrombotico della PCR, nessuno dei markers citati è in grado di spiegare e di predire in maniera accurata la suscettibilità individuale alle Sindromi coronariche acute (SCA). In considerazione del ruolo cardine della trombosi nelle SCA, si è suggerito<sup>16</sup> che un marker d'attivazione piastrinica, il CD40 ligand solubile (sCD40L), abbia un potenziale ruolo prognostico nei pazienti con SCA. Il sCD40L è rilasciato da parte delle piastrine attivate e possiede effetti proinfiammatori su diverse linee cellulari, come le cellule endoteliali e i monociti. E' inoltre espresso sulla membrana dei linfociti e gioca un ruolo cruciale nell'interazione tra diverse linee cellulari e nella produzione del fattore tissutale<sup>17</sup>. Pertanto il sCD40L rappresenta sia un marker di attivazione piastrinica sia un marker infiammatorio.

Inoltre è stata avanzata l'ipotesi che il sCD40L rappresenti un link tra uno stato protrombotico e l'ipercolesterolemia e che la terapia con statine possa ridurre in maniera significativa i livelli di sCD40L<sup>18</sup>. Lo stesso gruppo ha in seguito dimostrato che un incremento preprocedurale dei livelli di sCD40L risulta predittivo di restenosi tardiva dopo Angioplastica coronarica percutanea transluminale (PTCA)<sup>19</sup>. Se Heeschen ha recentemente dimostrato il ruolo predittivo del sCD40L nei pz con SCA, non è chiaro il ruolo di questo marker in prevenzione primaria. Un recente studio presentato all'American College of Cardiology (ACC) meeting 2004 non ha messo in luce nessun ruolo predittivo del sCD40L in soggetti sani, probabilmente dovuto alla principale origine piastrinica del sCD40L e al ruolo limitato delle piastrine negli stadi più precoci dell'aterosclerosi<sup>20</sup>.

D'altra parte, in accordo con l'evidenza sperimentale di un ruolo cardine dell'infiammazione - includendo l'attivazione dei neutrofili e la sintesi delle metalloproteasi nella rottura di placca - molti autori si sono concentrati su markers in-

fiammatori di rottura di placca<sup>21,22</sup>. Nei pz con SCA è stato descritto un incremento dei livelli plasmatici e una riduzione di quelli intracellulari di mieloperossidasi<sup>23-24</sup>.

### PAPP-A

La PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein A) è una metalloproteasi zinco-relata, ad alto peso molecolare, originariamente isolata dal plasma periferico delle donne in gravidanza<sup>25</sup> e ampiamente utilizzata nello screening della trisomia fetale durante il primo trimestre di gestazione<sup>26</sup>. Recentemente è stata documentata un'abbondante espressione della PAPP-A, sia a livello cellulare sia a livello della matrice extracellulare, nelle placche coronariche instabili ma non in quelle stabili. Ciò ha suggerito che la PAPP-A possa essere un marker di instabilità di placca. Bayes-Genis ha dimostrato che livelli di PAPP-A maggiori di 10 mIU/L identificano le SCA con una sensibilità dell'89% e con una specificità dell'81%<sup>27</sup>.

Recentemente è stato dimostrato che nei pz con angina cronica stabile livelli elevati di PAPP-A risultano correlati con la complessità angiografica di placca<sup>28</sup>. La PAPP-A e la pro-MBP (proforma della proteina eosinofila basica maggiore) sarebbero coinvolte nel processo di rottura della placca coronarica. Inoltre in questo studio all'analisi multivariata sia la PAPP-A sia il PAPP-A/proMBP ratio risultano predittori del numero di stenosi angiograficamente complesse indipendentemente dall'età, dal sesso maschile e dalla severità della malattia coronarica.

I livelli di PAPP-A correlano con quelli di PCR ma non con i markers di danno miocardico come la TnI e la CKMB<sup>27</sup>. Nei pazienti con infarto miocardico il pattern di rilascio della PAPP-A è molto variabile; di solito un incremento dei livelli della PAPP-A si registra solo 30 ore dopo la comparsa di dolore toracico<sup>29</sup>; pertanto la PAPP-A non può essere considerato un marker precoce di infarto miocardico<sup>30</sup>.

Lund e coll. hanno dimostrato che la PAPP-A è un forte predittore indipendente di eventi ischemici cardiaci nei pz con sospetto infarto miocardico e con TnT negativa<sup>31</sup>. Infatti livelli di PAPP-A >2,9 mUI/L si associano ad un rischio di 4,6 volte più alto di infarto miocardico, mortalità cardiovascolare o rivascolarizzazione a 6 mesi di follow up rispetto a livelli < 2,9 mUI/L. Questo studio è stato il primo a dimostrare un ruolo prognostico della PAPP-A nella stratificazione del rischio dei pz con SCA. Alla luce di questi studi un incremento dei livelli di PAPP-A non è solo un marker di instabilità di placca ma si presenta anche come un utile indicatore prognostico.

In linea con questi risultati si pone il recente lavoro di Heeschen che ha dimostrato il ruolo della PAPP-A come predittore indipendente di eventi cardiovascolari nei pz con SCA<sup>32</sup>. Pertanto la PAPP-A riveste un importante significato nella stratificazione del rischio anche nei pz con SCA a TnT negativa in cui nella prima settimana dalla comparsa dei sintomi il rischio di infarto fatale e non fatale varia dal 5 all'8%<sup>33</sup>.

La correlazione tra PAPP-A e PCR suggerisce che la produzione e il rilascio della PAPP-A all'interno delle placche aterosclerotiche sono correlate ad un processo infiammatorio coinvolgente la parete vasale. A conferma di questo dato, il valore predittivo della PAPP-A è confinato ai pz

con bassi livelli di IL-10, suggerendo che uno dei principali determinanti della prognosi nelle SCA è un delicato bilancio tra fattori pro- e fattori antinfiammatori.

Inoltre ad un'analisi multivariata la PAPP-A, il sCD40 L, l'IL-10 e la TnT sono risultati predittori indipendenti di prognosi nelle SCA.

Tra i pz con dolore toracico giunti al dipartimento di emergenza livelli elevati di PAPP-A identificano un sottogruppo di pz ad alto rischio, indipendentemente dalla TnT e dal CD40L.

In considerazione dei dati attualmente esistenti in letteratura si può ampiamente accettare il ruolo della PAPP-A non solo come marker di instabilità di placca ma anche come utile strumento nella stratificazione diagnostica e prognostica delle SCA senza evidenza di infarto miocardico.

## PIGF

Il Placental Growth Factor (PIGF), che appartiene alla famiglia del Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), in virtù del suo forte potenziale angiogenico nel cuore ischemico<sup>34</sup>, è stato presentato come marker specifico di danno vascolare e come marker sensibile predittivo di futuri eventi in un ampio numero di pazienti con SCA del CAPTURE study<sup>35</sup>.

In realtà, nonostante sia intrigante lo studio di markers direttamente associati con la formazione e con la rottura di placca, sono ancora necessari larghi studi di popolazione prima che i markers suddetti possano essere considerati in grado di spiegare l'imprevedibile incidenza delle SCA e di definire la loro potenziale utilità clinica.

## Altri markers

Recentemente abbiamo dimostrato che la sieropositività per la Chlamydia pneumoniae (Cp) heat shock protein 60 (HSP60) risulta un marker altamente sensibile e specifico di SCA, indipendentemente dal titolo anticorpale anti Cp IgG e dai livelli di PCR e di TnT, suggerendo l'ipotesi di un possibile mimetismo antigenico come potenziale meccanismo di destabilizzazione acuta della placca<sup>41</sup>.

L'HSP60, appartenente alla famiglia delle chaperonine, in virtù delle forti proprietà antigeniche, può rappresentare un link tra infezione, infiammazione e SCA. Sia quella umana sia la Cp-HSP60 sono capaci di attivare l'espressione di E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 sulle cellule endoteliali e la secrezione di IL-6 da parte delle cellule endoteliali, dalle cellule muscolari lisce e dai macrofagi<sup>42</sup>. Inoltre l'evidenza di una colocalizzazione dell'HSP60 umana e della Cp-HSP60 a livello delle placche aterosclerotiche<sup>43</sup> suggerisce la possibile produzione di queste proteine a livello della placca stessa, dove potrebbero contribuire ad esacerbare la cascata infiammatoria tramite la stimolazione dell'immunità innata.

L'adiponectina è una proteina prodotta e rilasciata dal tessuto adiposo con potenziali funzioni antiaterogene e riparative. Può influenzare l'espressione di molecole di adesione e di scavenger receptors, contribuendo ad una riduzione dell'accumulo lipidico nella placca. Inoltre l'adiponectina potrebbe rappresentare un fondamentale link tra obesità ed aterosclerosi<sup>44</sup>. L'espressione di adiponectina è ridotta nell'obesità, nell'insulino-resistenza e nel diabete di tipo 2 e la sua concentrazione plasmatica è inversamente

correlata al peso corporeo e ai livelli di insulina. I livelli plasmatici di adiponectina risultano spesso ridotti nei pz coronaropatici e nei pz con IMA<sup>45</sup>. L'adiponectina potrebbe ridurre il rischio cardiovascolare migliorando la sensibilità all'insulina e il pattern di lipidi plasmatici (riducendo i livelli di trigliceridi e aumentando i livelli del colesterolo HDL). Inoltre potrebbe modulare la risposta vascolare ai lipidi e agli stimoli infiammatori, tramite l'inibizione del fattore di trascrizione NF-kB che media gli effetti del TNF $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ ) e di altre citochine.

In alcuni modelli animali la mancanza di adiponectina si associa ad una precoce aterogenesi e ad un incremento della formazione di neointima<sup>46</sup>. In un recente studio caso-controllo bassi livelli plasmatici di adiponectina sono stati associati ad un incremento del rischio di infarto miocardico fatale e non fatale fino a 6 mesi di follow up in soggetti di sesso maschile senza precedenti cardiovascolari appartenenti al Health Professionals Follow-up Study (HPFS)<sup>47</sup>. Tale associazione è risultata indipendente dai tradizionali fattori di rischio, dallo status glicemico e dalla PCR.

## Conclusioni

Un gran numero di proteine, soprattutto implicate nei processi infiammatori, giocano un ruolo importante nella patogenesi delle sindromi coronariche acute e possono essere usate come marcatori di rischio o di attività della malattia. Tuttavia nella pratica clinica bisogna valutare quali di queste sono pronte per l'uso pratico e possono fornire indicazioni utili ed aggiuntive. Al di fuori della PCR, il cui metodo di misurazione è ben standardizzato e sulla quale esistono moltissimi studi, gli altri potenziali marcatori non sono ancora validati in ampi studi e utilizzano metodi di laboratorio complessi e costosi, per cui al momento non sono adatti all'uso clinico.

## Ringraziamenti

Questo studio è stato possibile grazie al grant 7021526 della Università Cattolica.

## Bibliografia

1. Tillet WS, Francis T Jr. Serological reactions in pneumonia with a nonprotein fraction from pneumococcus. *J Exp Med* 1930; 52:561-85.
2. Kushner I, Jiang SL, Zhang D, Lozanski G, Samols D. Do post-transcriptional mechanisms participate in induction of C-reactive protein and serum amyloid A by IL-6 and IL-1? *Ann NY Acad Sci* 1995; 762:102-4.
3. Verma S, Yeh ET. C-reactive protein and atherothrombosis—beyond a biomarker: an actual partaker of lesion formation. *Am J Physiol* 2003; 285:R1253-R1256, R1257-R1258.
4. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo R, Rebuzzi AG, Pepys MB, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994; 331:417-24.
5. Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G, Altamura S, Caligiuri G, Monaco C, et al. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina 1996; 94:874-7.
6. Liuzzo G, Biasucci LM, Rebuzzi AG, Gallimore JR, Caligiuri G, Lanza GA, et al. Plasma protein acute phase

- response in unstable angina is not induced by ischemic injury. *Circulation* 1996; 94:2374-80.
7. Biasucci LM, Liuzzo G, Caligiuri G, van de Greef W, Quaranta G, Monaco C, et al. Episodic activation of the coagulation system in unstable angina doesn't elicit an acute phase reaction. *Am J Cardiol* 1996; 77:85-7.
  8. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SDM, Gallimore JR, Pepys MB. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. *Lancet* 1997; 349:462-6.
  9. Biasucci LM, Liuzzo G, Fantuzzi G, Caligiuri G, Rebuzzi AG, Ginnetti F, et al. Increasing levels of IL-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in hospital coronary events. *Circulation* 1999; 99: 2079-84.
  10. Fisher E, van Zee KJ, Marana MA, Roch CS, Kenney JS, Poutsika DD, et al. Interleukin-1 receptor antagonist circulates in experimental inflammation and in human disease. *Blood* 1992; 79: 2196-200.
  11. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Caligiuri G, Buffon A, Rebuzzi AG, et al. Enhanced inflammatory response in patients with pre-infarction unstable angina. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34:1696-703.
  12. Blankenberg S, Tiret L, Bickel C, Peetz D, Cambien F, Meyer J, et al. Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina. *Circulation* 2002; 105:143-9.
  13. Toss H, Lindhal B, Siegbahn A, Wallentin L. Prognostic influence of increased fibrinogen and C-reactive protein levels in unstable coronary artery disease. FRISC Study Group. *Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease. Circulation* 1997; 96:4204-10.
  14. Biasucci LM, Liuzzo G, Grillo RL, Caligiuri G, Rebuzzi AG, Buffon A, et al. Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. *Circulation* 1999; 99:855-60.
  15. Rebuzzi AG, Quaranta G, Liuzzo G, Caligiuri G, Lanza GA, Gallimore JR, et al. Incremental prognostic value of serum levels of troponin T and C-reactive protein on admission in patients with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1998; 82:715-9.
  16. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, van den Brand MJ, Boersma E, Zeiher AM, et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes *N Engl J Med* 2003; 348:1104-11.
  17. Libby P. Bone marrow: a fountain of vascular youth? *Circulation*, 2003; 108:1049-52.
  18. Cipollone F, Mezzetti A, Porreca E, Di Febbo C, Nutini M, Fazio M, et al. Association between enhanced soluble CD40L and prothrombotic state in hypercholesterolemia: effects of statin therapy. *Circulation* 2002; 106:399-402.
  19. Cipollone F, Ferri C, Desideri G, Paloscia L, Materazzo G, Mascellanti, et al. Preprocedural level of soluble CD40L is predictive of enhanced inflammatory response and restenosis after coronary angioplasty. *Circulation* 2003; 108:2776-82.
  20. Horne BD, Lappe JM, Heath U. Abstract ACC 2004.
  21. Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G, D'Onofrio G, Crea F, Maseri A I. Widespread coronary inflammation in unstable angina *N Engl J Med* 2002; 347:5-12.
  22. Dollery CM, Owen CA, Sukhova GK, Krettek A, Shapiro SD, Libby PL. Neutrophil elastase in human atherosclerotic plaques: production by macrophages. *Circulation* 2003; 107:2829-36.
  23. Biasucci LM, D'Onofrio G, Liuzzo G, Zini G, Monaco C, Caligiuri G, et al. Intracellular neutrophil myeloperoxidase is reduced in unstable angina and acute myocardial infarction, but its reduction is not related to ischemia. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27:611-6.
  24. Brennan ML, Penn MS, Van Lente F, Nambi V, Shishehbor MH, Aviles RJ et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain. *N Engl J Med* 2003; 349:1595-604.
  25. Oxvig C, Sand O, Kristensen T, Kristensen L, Sottrup-Jensen L, et al. Isolation and characterization of circulating complex between human pregnancy-associated plasma protein-A and proform of eosinophil major basic protein. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1201, 415-23.
  26. Lin TM, Galbert SP, Kiefer D, Spellacy WN, Gall S. Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. *Am J Obstet Gynecol* 1974; 118:223-6.
  27. Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, Bailey KR, Christiansen M, Holmes DR Jr, et al. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes *N Engl J Med* 2001; 345:1022-9.
  28. Cosin-Sales J, Christiansen M, Kaminski P, Oxvig C, Overgaard MT, Cole D, et al. Pregnancy-associated plasma protein A and its endogenous inhibitor, the proform of eosinophil major basic protein (proMBP), are related to complex stenosis morphology in patients with stable angina pectoris. *Circulation* 2004; 109:1724-8.
  29. Qin QP, Laitinen P, Majamaa-Voltti K, Eriksson S, Kumpulainen EK, Pettersson K. Release patterns of pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) in patients with acute coronary syndromes *Scan Cardiovasc J* 2002; 35:531-8.
  30. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Garcia-Gonzalez M, Ferrer J, Vargas M. Circulating pregnancy-associated plasma protein A is not an early marker of acute myocardial infarction. *Clin. Biochem* 2005; 38:180-2.
  31. Lund J, Qin QP, Ilva T, Pettersson K, Voipio-Pulkki LM, Porela P, et al. Circulating pregnancy-associated plasma protein A predicts outcome in patients with acute coronary syndrome but no troponin I elevation. *Circulation* 2003; 108:1924-6.
  32. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Fichtlscherer S, Simoons ML, Zeiher AM; CAPTURE Study Investigators. Pregnancy-associated plasma protein-A levels in patients with acute coronary syndromes: comparison with markers of systemic inflammation, platelet activation, and myocardial necrosis. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45:229-37.
  33. Heeschen C, Hamm CW, Bruemmer J, Simmons ML.

- Predictive value of C-reactive protein and troponin T in patients with unstable angina: a comparative analysis. CAPTURE Investigators. Chimeric c7E3 AntiPlatelet Therapy in Unstable angina REfractory to standard treatment trial. *J. Am Coll Cardiol* 2000; 35:1535-42.
34. Luttun A, Tjwa M, Carmeliet P. Placental growth factor (PlGF) and its receptor Flt-1 (VEGFR-1): novel therapeutic targets for angiogenic disorders. *Ann NY Acad Sci* 2002; 979:80-93.
  35. Heeschen C, Dimmeler C, Fichtlscherer S, Hamm CW, Berger J, Simoons ML, et al. Prognostic value of placental growth factor in patients with acute chest pain. *JAMA* 2004; 291:435-41.
  36. Biasucci LM, Liuzzo G, Ciervo A, Petrucca A, Piro M, Angiolillo DJ, et al. Antibody response to chlamydial heat shock protein 60 is strongly associated with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 107:3015-7.
  37. Kol A, Bourcier T, Lichtman A, Libby P. Chlamydial and human heat shock protein 60s activate human vascular endothelium, smooth muscle cells, and macrophages. *J Clin Invest* 1999;103:571-7.
  38. Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, Libby P. Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase expression. *Circulation* 1998; 98:300-7.
  39. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation* 1999; 100:2473-6.
  40. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y, et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 2001; 103:1057-63.
  41. Maeda N, Shinmomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med* 2002; 8:731-7.
  42. Pischon T, Girman CJ, Gokhan SH. Plasma adiponectin levels and risk of myocardial infarction in men. *JAMA* 2004; 291:1730-7.