

PARTICIPAÇÃO DA CICLOXIGENASE-2 NO PROCESSO INFLAMATÓRIO DA PLACA ATEROSCLERÓTICA

ANTONIO CARLOS PALANDRI CHAGAS, ALBERTO CARNIETO JÚNIOR

Instituto do Coração (InCor) — HC-FMUSP

Endereço para correspondência: Av. Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, 44 — CEP 05403-001 — São Paulo — SP

A expressão da enzima cicloxigenase eleva-se frente a fatores como, por exemplo, citocinas, fatores de crescimento, lipopolissacarídeos e “shear-stress” nas células vasculares. A presença da cicloxigenase-2 é identificada em excesso nas células musculares lisas e nas células espumosas da placa de ateroma.

Apesar das evidências de que a cicloxigenase-2 participa da gênese da aterosclerose, mais informações são necessárias para se estabelecer seus efeitos sobre o sistema cardiovascular. O papel da cicloxigenase-2 dentro da aterosclerose não pode ser visto como uma simples relação de causa-efeito, pois muitas vias de seu metabolismo não estão esclarecidas.

Permanece uma questão: A inibição da cicloxigenase-2 protege contra a doença aterosclerótica? Essa questão ainda está sem resposta, necessitando de maiores informações para respondê-la.

Palavras-chave: cicloxigenase-2, aterosclerose, disfunção endotelial, óxido nítrico, citocinas.

(Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 2002;4:530-40)

RSCESP (72594)-1242

INFLAMAÇÃO E DOENÇA ARTERIAL CORONÁRIA

A doença arterial coronária possui fisiopatologia multifatorial, e, dentre as mais significantes, podem ser citadas a hipertensão arterial, a dislipidemia e o tabagismo. O processo inflamatório vascular está, também, relacionado à coronariopatia. A atividade inflamatória vascular é o meio pelo qual ocorre lesão endotelial e em outras camadas da artéria coronária. No processo de formação da aterosclerose, a inflamação participa significativamente da progressão das placas. A inflamação é determinada pelas enzimas cicloxigenase e lipoxigenase (Fig. 1). A forma cicloxigenase-2 é a enzima envolvida na disfunção endotelial^(1, 2). O processo inflamatório, sistêmico ou localizado na parede do vaso, acelera a progressão da aterosclerose e desestabiliza as placas, rompendo-as e causando atero-

trombose. Como evidência disso, diversos fatores de risco pró-inflamatórios estão relacionados à formação e à progressão da doença arterial coronária, e a dislipidemia atua como um de seus principais fatores⁽³⁾.

Vários estudos demonstram que a elevação do colesterol total plasmático, particularmente o colesterol de lipoproteína de baixa densidade oxidado (LDL-colesterol oxidado) atua como potente estímulo gerador do processo inflamatório, o qual irá se desenvolver nos vasos, levando à disfunção do metabolismo endotelial e originando ou agravando a aterotrombose⁽⁵⁻¹¹⁾.

A proteína C-reativa é um marcador de inflamação sistêmica e sua elevação no plasma também está relacionada com a presença e a severidade da aterosclerose arterial coronária, e com o aumento do risco de eventos agudos cardiovasculares⁽¹²⁻¹⁴⁾. Corroborando essa idéia, a transição da angina estável para instável está asso-

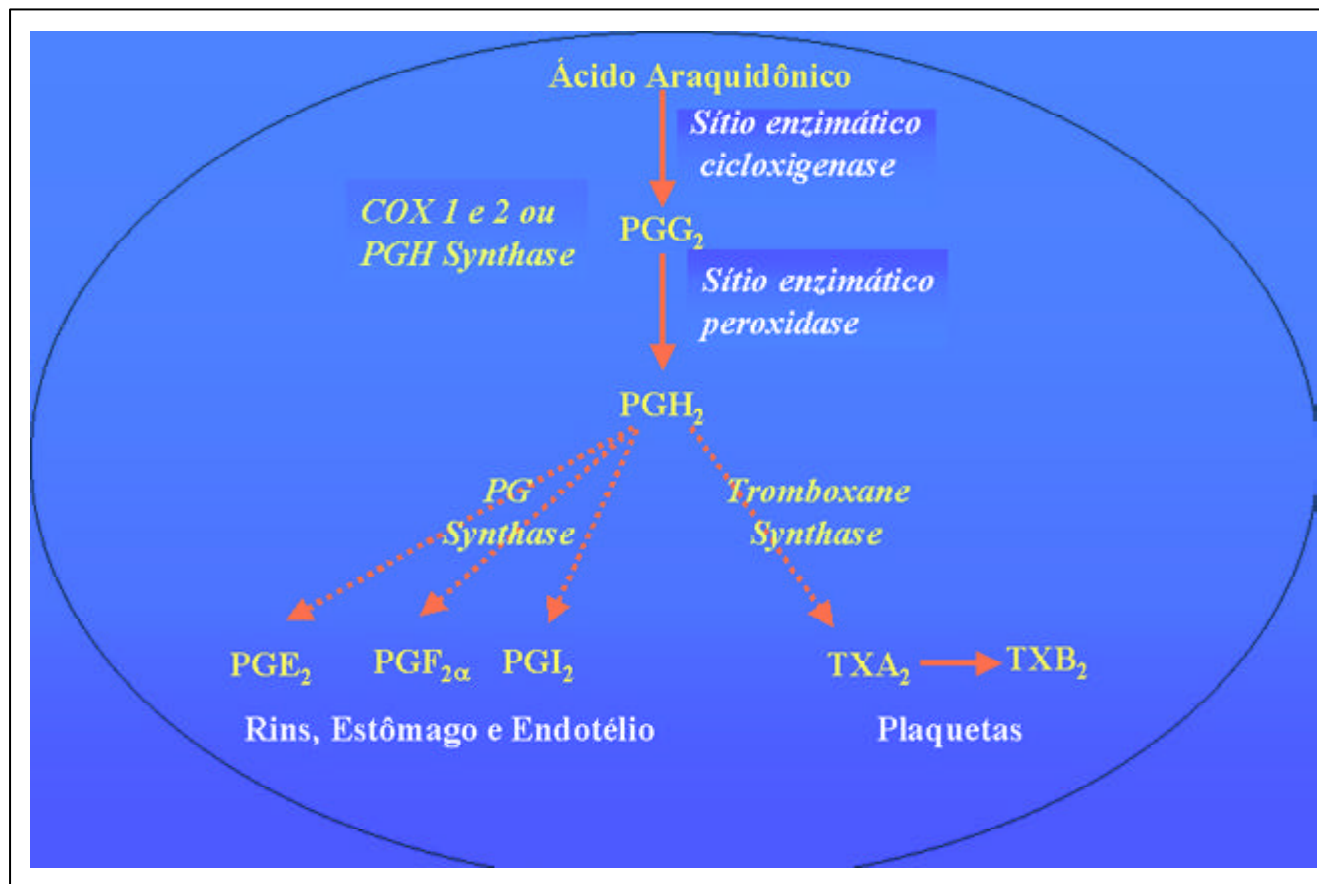


Figura 1. Adaptado de Cryer e Dubois.⁽⁴⁾

ciada ao aumento da atividade inflamatória, verificada pela elevação dos níveis plasmáticos de proteína C-reativa, citocinas e leucócitos^(15, 16). Adicionalmente, os linfócitos CD4 e CD8 também estão elevados nos episódios de angina instável, confirmando a presença da inflamação durante a instabilização da placa de aterosclerose⁽¹⁷⁾. Saliente-se que a instabilidade do ateroma não está confinada a apenas uma placa, podendo ocorrer concomitantemente em outros lugares do leito vascular, ativando o processo inflamatório sistêmico e levando à progressão e à instabilização de outras placas até então consideradas estáveis⁽¹⁸⁾.

ATIVIDADE INFLAMATÓRIA ENDOTELIAL DESENCADEADA PELA DISLIPIDEMIA

O endotélio é uma monocamada de células pavimentosas alongadas, que recobre a super-

fície luminal de todos os vasos sanguíneos. Possui funções autócrinas, parácrinas e endócrinas, que atuam na regulação do tônus vascular, na ativação plaquetária, na aderência de monócitos, na trombogênese, na inflamação, no metabolismo lipídico, e na remodelação e no crescimento dos vasos⁽¹⁹⁾. Observações pautadas em estudos clínicos evidenciam a associação de hipercolesterolemia com atividade inflamatória endotelial sistêmica⁽²⁰⁾, particularmente na microcirculação coronária⁽²¹⁾. Segundo Chin-Dusting e Dart⁽³⁾, os lipídeos alteram as funções endoteliais pela modificação do metabolismo do óxido nítrico, do "shear-stress", das moléculas de adesão celular e plaquetas, da oxidação de lipoproteínas, e pela geração de espécies reativas de oxigênio tóxicas às células. Todos esses fatores atuam como componentes do processo inflamatório vascular frente à dislipidemia.

A oxidação do LDL-colesterol altera a dispo-

nibilidade de óxido nítrico na medida em que diminui a atividade e a expressão da enzima óxido nítrico sintase e aumenta a produção do ânion superóxido, o que resulta na destruição do óxido nítrico. O LDL-colesterol oxidado é mais lesivo ao endotélio que o LDL-nativo, pois possui o componente lisolecitina, que potencializa a capacidade de lesão celular⁽²²⁾. A molécula de LDL-oxidada diminui a expressão da óxido nítrico sintase em cultura de célula⁽²³⁾. A oxidação da LDL ocorre na placa aterosclerótica e induz a geração de anticorpos para a LDL-oxidada. A produção de tais anticorpos pode refletir o aumento da capacidade de oxidação na parede dos vasos em decorrência da inflamação. Esses anticorpos estão relacionados com aumento do risco de eventos coronários^(24, 25).

A hipercolesterolemia, como fator pró-inflamatório, aumenta a expressão das moléculas de adesão endotelial^(26, 27), e induz não só a agregabilidade e a adesão plaquetárias^(28, 29), bem como a vasoconstrição. Confirmando a idéia da hipercolesterolemia como fator desencadeante da atividade inflamatória vascular, um estudo realizado por Zhu e colaboradores⁽³⁰⁾, utilizando cultura de células de veias umbilicais humanas, constatou que a LDL, quando incubada com as células, leva à formação de citocinas inflamatórias e ao aumento dos níveis de RNAm de VCAM-1, tornando o endotélio propenso à adesão de monócitos e sua diferenciação em macrófagos. Em estudo utilizando dieta hipercolesterolêmica para coelhos, Cybulsky e Gimbrone⁽³¹⁾ observaram, no estudo anatomopatológico da aorta desses animais, em que se localizavam as lesões ateroscleróticas, maior expressão de moléculas de adesão do tipo VCAM-1 sobre o endotélio que recobria as células espumosas e significativa quantidade de cicloxigenase-2.

INFLAMAÇÃO E PRODUÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO VASCULAR

O endotélio íntegro atua como mediador da reatividade vascular, produzindo fatores de relaxamento do sistema vascular (EDRF). Dentre esses fatores, o principal é o óxido nítrico. A produção basal contínua de óxido nítrico confere o tônus vasodilatado ao sistema cardiovascular, inibe a adesão plaquetária e de leucócitos na parede dos vasos, previne a agregação intravascular de plaquetas, e inibe a proliferação de células musculares lisas dos vasos.

Fatores que causam lesão endotelial ou que prejudiquem a via metabólica do óxido nítrico podem diminuir a função fisiológica do endotélio, favorecendo, assim, episódios aterotrombóticos. Estudos epidemiológicos indicam que entre os principais fatores lesivos à integridade endotelial destacam-se a dislipidemia, o diabetes, a hipertensão arterial, o tabagismo, o climatério, a idade avançada e a lipoproteína A, também chamados de fatores de risco de doença cardiovascular^(32, 33), atuando como agentes pró-inflamatórios do endotélio (Fig. 2). Entretanto, outros fatores que levam à doença coronária, pouco elucidados mas não menos importantes, são as endotoxinas bacterianas e as citocinas pró-inflamatórias (como, por exemplo, o fator de necrose tumoral-alfa [TNF-alfa]), pois tais fatores podem inibir a geração de óxido nítrico pelo endotélio^(34, 35). Sabe-se que o TNF-alfa reduz a meia-vida do RNAm da enzima endotelial óxido nítrico sintase (ENOs)⁽³⁶⁾ e diminui a expressão gênica da enzima cicloxigenase 1 sintase⁽³⁷⁾.

Estudos em animais sugerem que, nos estágios iniciais tanto da inflamação como da infecção, ocorre vasodilatação pelo aumento da produção basal de óxido nítrico e prostanóides, por meio de suas isoformas indutíveis (óxido nítrico sintase e cicloxigenase sintase), expressas pelas células endoteliais em resposta às citocinas. Nesse caso, o óxido nítrico em excesso pode inibir a respiração aeróbica mitocondrial, danificando o DNA. Em decorrência da respiração anaeróbica que se instala, forma-se o ânion superóxido (O_2^-), o qual transforma o óxido nítrico (NO) em peroxinitrito (ONOO⁻). Dependendo do sítio endotelial em que essas reações ocorrem e da concentração de compostos tióis, o peroxinitrito pode tanto ser revertido para óxido nítrico como formar mais radicais tóxicos à célula. No primeiro caso, a reversão a óxido nítrico prejudica a célula por dois motivos: formação de compostos de nitrogênio (nitrosação) ou inibição irreversível da respiração mitocondrial^(38, 39). Contudo, na sequência desse processo, quando persiste o estímulo inflamatório por um longo tempo cronologicamente indefinido, a propriedade da célula endotelial em gerar óxido nítrico e prostanóides a partir de suas enzimas constitutivas parece estar atenuada⁽⁴⁰⁾, constituindo o chamado endotélio "stunning". Tal processo permanece mesmo após a resolução da fase inicial da inflamação, mantendo o estado pró-aterotrombótico e de vasoespasma. Os mecanismos

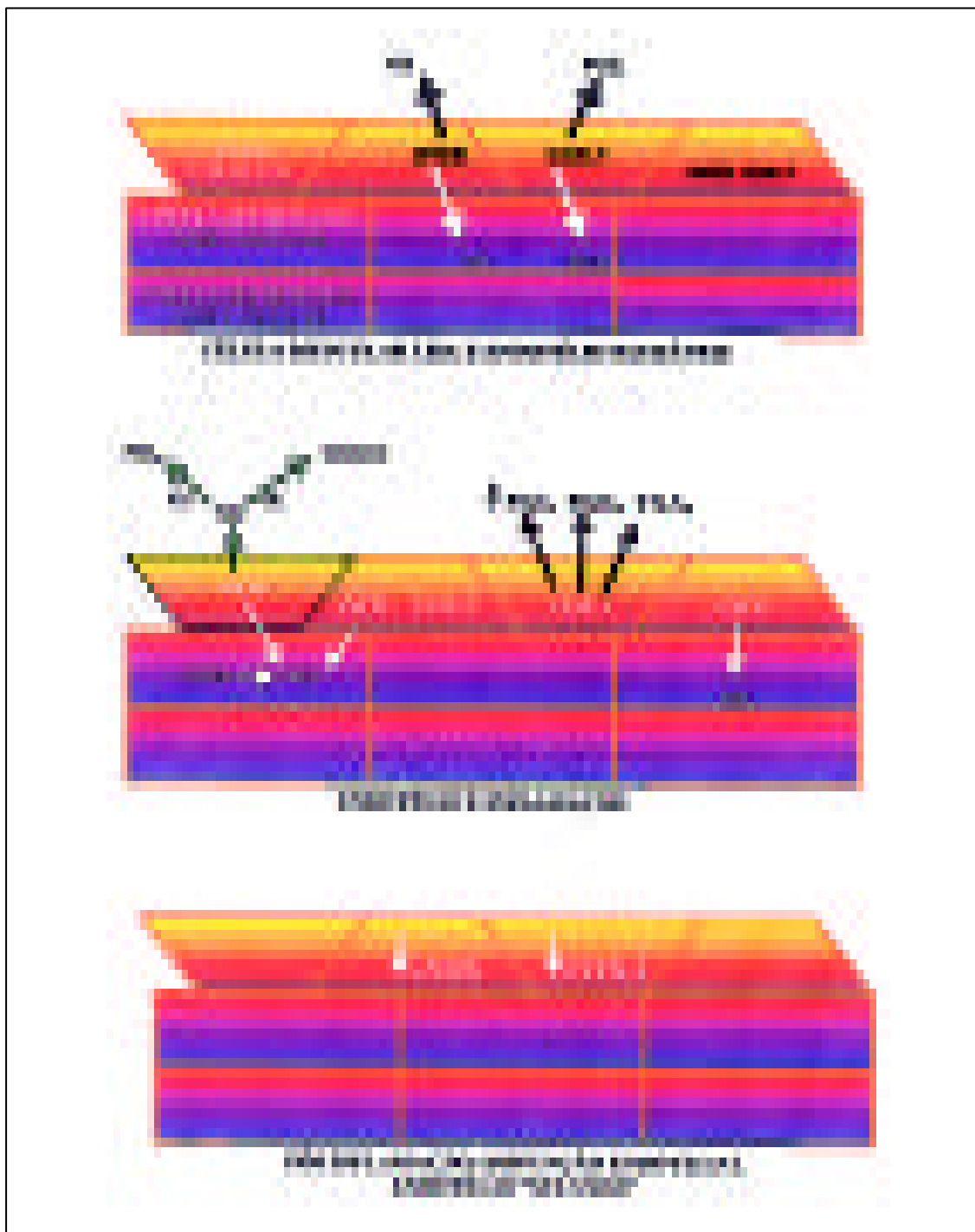


Figura 2. Resposta bifásica do endotélio à inflamação.

envolvidos nessa disfunção endotelial desencadeada pela inflamação não estão completamente esclarecidos.

A infecção e a inflamação estão relacionadas à disfunção endotelial e se expressam em todas as fases da aterosclerose^(40, 41). A disfun-

ção endotelial causa deterioração do fluxo sanguíneo e espasmo vascular, e impede a expressão dos mecanismos de tromborresistência naturais do endotélio. Sinisalo e colaboradores⁽¹⁾, em avaliação clínica de 31 pacientes, observando a resposta vascular por meio do fluxo da artéria braquial com pletismografia e do cateter intra-arterial, e medindo seus valores bioquímicos séricos de inflamação e colesterol, encontraram resultados significativos, sugestivos de deterioração do vasorrelaxamento, mediado por fatores inflamatórios, predispondo a isquemia e aterosclerose.

O processo inflamatório é um componente importante nas síndromes coronárias agudas e no infarto agudo do miocárdio, principalmente durante a reperfusão arterial^(40, 42, 43). Os leucócitos são os primeiros elementos que contribuem significativamente para a lesão vascular, aderindo-se ao endotélio da microvasculatura e originando radicais livres de oxigênio. Esse processo, sobre a superfície do endotélio, é inicialmente mediado por moléculas de adesão do tipo selectina e proteínas de adesão celular da classe das imunoglobulinas (ICAM-1, molécula de adesão intercelular-1; VCAM-1, molécula de adesão vascular-1). E sobre a superfície dos leucócitos estão as integrinas. Durante episódio de infarto agudo do miocárdio, há significativa correlação proporcional entre os níveis de creatinquinase e ICAM-1⁽⁴³⁾.

Estudos experimentais^(44, 45) demonstram que as citocinas são importantes mediadoras da reação inflamatória durante a reperfusão do miocárdio, levando ao aumento da expressão da cicloxigenase-2 endotelial. Dentre as citocinas, as mais observadas são o fator de necrose tumoral-alfa (TNF-alfa) e a interleucina-1 beta (IL-1 beta), as quais são capazes de ampliar a reação inflamatória, induzindo a formação de outras citocinas, como a interleucina-6 (IL-6) e a interleucina-8 (IL-8)^(46, 47).

A IL-6, a IL-1 beta e o TNF-alfa possuem respostas sistêmicas. A IL-1 beta estimula células inflamatórias, como leucócitos, fibroblastos e células endoteliais, modulando a adesão das moléculas⁽⁴⁷⁾. A IL-8 possui potente ação de quimiotaxia para neutrófilos, funções pró-inflamatórias, reparativas pós-lesão e ativação de neutrófilos. A IL-8 também é produzida pelo endotélio, sob condições de hipoxia. Neumann e colaboradores⁽⁴⁸⁾ também observaram a presença de IL-6 e de IL-8 durante a reperfusão do mio-

cárdio e durante procedimentos coronários, como angioplastia. A IL-6 é a citocina encontrada no plasma em maior quantidade durante angina instável e infarto agudo do miocárdio, segundo Biasucci e colaboradores⁽⁴⁹⁾. O TNF-alfa está envolvido na adesão neutrófilo-miócito⁽⁴⁴⁾. Neumann e colaboradores⁽⁴⁸⁾ observaram a significativa contribuição do TNF-alfa na modulação da resposta inflamatória após a reperfusão.

As reações que participam da atividade inflamatória são participantes desde a geração da aterosclerose, atuando sobre a instabilização das placas e culminando com o evento isquêmico coronário e, inclusive, sua reparação.

CICLOXIGENASE-2: FATOR DETERMINANTE DA INFLAMAÇÃO ENDOTELIAL

Sob a ação da fosfolipase A2 (enzimas lisossomais dos leucócitos), os fosfolípidos das membranas celulares são transformados em ácido araquidônico, que sofre a ação da cicloxigenase, originando as prostaglandinas. Essas prostaglandinas são responsáveis pelo desencadeamento da inflamação endotelial. Por meio de uma segunda via metabólica, mediada pela 5-lipoxigenase, o ácido araquidônico é convertido em uma série de leucotrienos, potentes mediadores da resposta inflamatória, que se manifestam clinicamente e laboratorialmente como aumento da permeabilidade vascular e adesão de leucócitos às paredes dos vasos⁽⁵⁰⁾.

No início da década de 90, descobriu-se que a cicloxigenase existe sob duas isoformas: cicloxigenase-1 (COX-1) e cicloxigenase-2 (COX-2). A cicloxigenase-1 está continuamente presente nas células e nos tecidos; entretanto, a cicloxigenase-2 manifesta-se como mediador nos processos inflamatórios, isto é, é induzida a agir frente a determinados estímulos que alteram a homeostase. A diferença entre as duas enzimas está em suas formas estruturais moleculares do sítio ativo dessas enzimas: a cicloxigenase-1 possui o aminoácido isoleucina e a cicloxigenase-2 possui a valina⁽⁵¹⁾. A cicloxigenase-1, produzida continuamente, fica armazenada, em sua maior parte, no retículo endoplasmático, enquanto a cicloxigenase-2 localiza-se no envoltório nuclear.

A cicloxigenase-1 é expressa continuamente na célula, denominada constitutiva, e exerce a função de manter a homeostase celular por meio da síntese de certas prostaglandinas. A ci-

cicloxigenase-1, que atua sobre o endotélio vascular produzindo prostaglandinas, mantém condição favorável à tromborresistência. Portanto, sob condições normais, agindo sobre o endotélio íntegro, a cicloxigenase-1 atua mantendo o equilíbrio entre tromborresistência e trombogênese. É a única cicloxigenase presente nas plaquetas e todos os prostanóides produzidos pelas plaquetas refletem a atividade da cicloxigenase-1; portanto, a inibição seletiva da cicloxigenase-2 não interfere na agregação plaquetária⁽⁴⁾.

Sua outra isoforma, a cicloxigenase-2, é considerada uma enzima indutível, embora exista, na forma constitutiva, nos rins, nos ossos, no cérebro, na próstata, nos pulmões e no sistema reprodutor feminino. Frente a determinados estímulos, aumenta sua concentração, variando em 10 a 80 vezes. Os estímulos são, em sua maioria, citocinas pró-inflamatórias; contudo, destacam-se a interleucina-1, o fator de necrose tumoral, os lipopolissacarídeos, os mitógenos e os radicais livres derivados do oxigênio (O_2 ; OH ; H_2O_2)⁽⁴⁾.

Os metabólitos formados pela cicloxigenase-2 (prostaglandinas), por estímulo das citocinas, estão relacionados diretamente com a ampliação da resposta inflamatória. Os antiinflamatórios não-esteróides diminuem a inflamação por bloquear a formação da cicloxigenase-2 e suas prostaglandinas, as quais aumentam a permeabilidade vascular, possibilitando a diapedese de células pró-inflamatórias, proteínas e enzimas que participam da resposta inflamatória local. Uma das prostaglandinas formadas a partir da cicloxigenase-2 é a prostaglandina E_2 (PGE_2), liberada pelas células polimorfonucleares durante a fagocitose, que atua como fator quimiotático para leucócitos e está envolvida no mecanismo de diapedese, quimiotaxia dos neutrófilos e ampliação das reações inflamatórias.

Em estudos realizados com animais⁽⁵²⁾, nos que foram submetidos a estímulo inflamatório observou-se correlação proporcional no aumento dos níveis de RNAm da cicloxigenase-2, proteína da cicloxigenase-2 e PGE_2 ; entretanto, os níveis de cicloxigenase-1 não apresentaram alterações significativas. Domoki e colaboradores⁽⁵³⁾, em estudo com animais de experimentação, utilizando o método de isquemia vascular cerebral induzida nesses animais, observaram que a parede das artérias da área acometida pela isquemia apresentava maior expressão da enzima cicloxigenase-2, quando comparada à

área sem isquemia. Essas observações sugerem a participação da cicloxigenase-2 no mecanismo de lesão vascular. Nesse estudo, não foram observadas alterações da expressão da cicloxigenase-1.

Nas doses terapêuticas convencionais, os antiinflamatórios não-esteróides exercem seus efeitos por meio da inibição da cicloxigenase-2; porém, ao mesmo tempo, bloqueiam os efeitos benéficos da cicloxigenase-1. Como resultado, esses agentes farmacológicos alteram as funções homeostáticas, modificando as funções plaquetárias e assumindo potencial capacidade de lesão renal e gastrointestinal⁽⁵⁰⁾.

A explicação para as diferenças estruturais das isoformas da cicloxigenase e suas funções está amparada em seus respectivos genes, os quais estão em dois diferentes cromossomos. O gene da cicloxigenase-2 contém regiões características de genes de resposta rápida, permitindo imediata ativação em resposta a estímulo específico. O RNAm da cicloxigenase-2 também possui características estruturais que o permitem obter labilidade de ação frente à presença ou à ausência de estímulo específico, ou seja, nas situações em que não se mantém o estímulo específico para a cicloxigenase-2, após a síntese da referida enzima, seu respectivo RNAm apresenta rápida degradação da mensagem e rápida diminuição da expressão gênica. Essa rápida e pronta resposta do gene da cicloxigenase-2, frente à atividade inflamatória, é observada apenas em determinadas células, como, por exemplo: sinoviócito, macrófagos, células endoteliais e condrócitos. Assim, a ativação do gene de cicloxigenase-2 é imediata após estímulos inflamatórios mediados por citocinas (interleucina-1 e fator de necrose tumoral), e sofre inativação em resposta a fármacos antiinflamatórios, tais como os glicocorticóides. Inversamente, o gene da cicloxigenase-1 é continuamente expresso nos tecidos normais e não sofre a ação inibidora dos glicocorticóides nem a ação estimuladora dos mediadores inflamatórios.

A importância da cicloxigenase-2 no sistema cardiovascular reside no fato de essa enzima estar presente na placa de ateroma, principalmente no endotélio e nos macrófagos. Contudo, o uso de fármacos antiinflamatórios esteróides e não-esteróides a longo prazo mostra-se deletério, por causa dos inúmeros efeitos adversos. Baker e colaboradores⁽⁵⁴⁾, avaliando

fragmentos de artéria coronária em pacientes transplantados e retransplantados por aterosclerose, observaram a presença da cicloxigenase-2 no endotélio desses vasos e principalmente na placa de ateroma: no endotélio, nas células espumosas e nas células musculares lisas da placa. Nesse estudo, os autores observaram que as placas de ateroma estavam relacionadas à maior expressão da cicloxigenase-2 e com a óxido nítrico sintase na forma indutível (iNOS).

A enzima cicloxigenase-2 é produzida nas lesões ateroscleróticas. Num estudo realizado por Schönbeck e colaboradores⁽⁵⁵⁾ utilizando cultura de endotélio de veia safena humana, foi observada maior expressão da cicloxigenase-2 durante a aterosclerose; porém, sabe-se que tal enzima é responsável pela síntese de prostaciclina, um potente vasodilatador e inibidor da agregação plaquetária. Por outro lado, foi observada correlação entre a expressão de cicloxigenase-2 e a presença de células espumosas e proliferação de células musculares lisas vasculares nas placas, sugerindo haver significativa

participação na formação do ateroma.

Em outro estudo, realizado por Belton e colaboradores⁽⁵⁶⁾ (Fig. 3), analisando amostras de tecido de artéria femoral e aórtica de pacientes submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio, foi observada maior expressão da cicloxigenase-2 nas lesões ateroscleróticas, comparativamente aos vasos normais, confirmando os resultados do estudo anteriormente citado.

Recentemente, em um estudo experimental, Hernández-Presa e colaboradores⁽⁵⁷⁾, utilizando coelhos submetidos a lesão vascular e dieta aterogênica em uso de vastatina, observaram que as lesões vasculares no grupo em uso de vastatina possuíam reduzido nível de lípidos, pouca proliferação de células musculares lisas e menor quantidade de macrófagos e de metaloproteinases, comparativamente ao grupo controle. Concomitantemente a essas observações, verificaram que, no grupo tratado com vastatina, as lesões ateroscleróticas possuíam menor expressão da cicloxigenase-2, em comparação com o grupo controle, sugerindo uma associa-



Figura 3. Expressão da cicloxigenase-2 (COX-2) nas células de músculo liso vascular da placa aterosclerótica.⁽⁵⁶⁾

ção entre vastatina, proteção vascular e inibição da cicloxigenase-2.

CONCLUSÃO

Em conclusão, a expressão da cicloxigenase-2 está aumentada nos tecidos submetidos a estímulos pró-inflamatórios. A camada endotelial após esses estímulos (como, por exemplo, dislipidemia, "shear-stress" e inflamação sistêmica) passa a apresentar elevada expressão da enzima cicloxigenase-2. Nas placas ateroscleróticas instaladas, encontra-se grande quantidade dessa enzima nos macrófagos em diapedese vascular, células espumosas e endotélio adjacente.

Foi observado, também, que a quantidade de cicloxigenase-2 intravascular está associada com maior proliferação de células musculares lisas vasculares.

A atividade inflamatória vascular é um dos grandes fatores determinantes da aterosclerose. A cicloxigenase-2 é um dos componentes da inflamação e determina o caráter evolutivo da doença aterosclerótica. Apesar de os estudos demonstrarem a participação da cicloxigenase-2 em vários aspectos da fisiopatologia vascular, em especial na aterosclerose, ainda não há informações suficientes para afirmar que a inibição da cicloxigenase-2 seja benéfica para a evolução da aterosclerose.

CYCLOOXYGENASE-2 RELATED TO THE INFLAMMATORY PROCESS OF THE ATHEROSCLEROTIC PLAQUE

ANTONIO CARLOS PALANDRI CHAGAS, ALBERTO CARNIETO JÚNIOR

The expression of cyclooxygenase-2 is increased by cytokines, growth factors, lipopolysaccharide and shear-stress in the endothelial and vascular smooth-muscle cells. Expression of cyclooxygenase-2 is up-regulated in the foam cells and smooth-muscle cells of atherosclerotic plaque.

Despite the evidence that cyclooxygenase-2 participates in the atherosclerosis, more information is needed about the cardiovascular effect. The role of cyclooxygenase-2 in the atherosclerosis, however, may not represent a simple cause-and-effect scenario.

There is a question: Does the inhibition of the cyclooxygenase-2 protect against atherosclerosis? This answer is up to now unclear. And we need more information about it.

Key words: cyclooxygenase-2, atherosclerosis, endothelial dysfunction, nitric oxide, cytokines.

(Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 2002;4:530-40)

RSCESP (72594)-1242

REFERÊNCIAS

1. Sinisalo J, Paronen J, Mattila KJ, Syrjälä M, Alfthan G, Palosuo T, et al. Relation of inflammation to vascular function in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2000;149:403-11.
2. Ross R. Mechanism of disease: atherosclerosis, an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-21.
3. Chin-Dusting JPF, Dart AM. Lipids and the endothelium. *Cardiovasc Res* 1999;43:308-22.
4. Cryer B, Dubois A. The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase — a review. *Prostaglandin Lip Mediat* 1998;56:341-61.
5. Busse R, Fleming I. Endothelial dysfunction in atherosclerosis. *J Vasc Res* 1996;33:181-

- 94.
6. Kugiyama K, Doi H, Motoyama T, et al. Association of remnant lipoprotein levels with impairment of endothelium-dependent vasomotor function in human coronary arteries. *Circulation* 1998;97:2519-26.
7. Kugiyama K, Ohgushi M, Sugiyama S, et al. Lysophosphatidylcholine inhibits surface receptor-mediated intracellular signals in endothelial cells by a pathway involving protein kinase C. *Circ Res* 1992;71:1422-8.
8. Liao JK, Shin WS, Lee WY, Clark SL. Oxidized low-density lipoprotein decreases the expression of endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 1995;270:319-24.
9. Vidal F, Colome C, Martinez-Gonzalez J, Badimon L. Atherogenic concentration of native low-density lipoproteins down-regulate nitric-oxide-synthase mRNA and protein levels in endothelial cells. *Eur J Biochem* 1998;252:378-84.
10. Abe Y, El-Masri B, Kimball KT, et al. Soluble cell adhesion molecules in hypertriglyceridemia and potential significance on monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:723-31.
11. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone Jr MA, Libby P. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb* 1993;13:197-204.
12. Koenig W, Sund M, Frolich M, Fischer HG, Lowel H, Doring A, et al. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (monitoring trends and determinants in cardiovascular disease) Augsburg cohort study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999;99:237-42.
13. 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.
14. Mendall M, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *Br Med J* 1996;312:1061-5.
15. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, 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.
16. Brody JI, Pickering NJ, Capuzzi DM, Fink GB, Can CA, Gomez F. Interleukin-1 alpha as a factor in occlusive vascular disease. *Am J Clin Pathol* 1992;97:8-13.
17. Neri Serneri G, Prisco D, Martini F, Gori AM, Brunelli T, Poggesi L, et al. Acute T-cell activation is detectable in unstable angina. *Circulation* 1997;95:1806-12.
18. Gates P, Marwood S, Jelinek M, Scott M. Unreported symptomatic and asymptomatic ischaemic heart disease in patients presenting with TIA or minor stroke detected by the London School of Hygiene Cardiovascular Questionnaire and Minnesota coding of a routine ECG. *Clin Exp Neurol* 1987;24:21-5.
19. Vogel RA. Cholesterol lowering and endothelial function. *Am J Med* 1999;107:479-87.
20. Celermayer DS. Endothelial dysfunction: Does it matter? Is it reversible? *J Am Coll Cardiol* 1997;30:325-33.
21. Selke FW, Armstrong ML, Harrison DG. Endothelium-dependent vascular relaxation is abnormal in the coronary microcirculation of atherosclerotic primates. *Circulation* 1990;81:1586-93.
22. Galle J, Bengen J, Schollmeyer P, Wanner C. Impairment of endothelium-dependent dilation in rabbit renal arteries by oxidized lipoprotein (a). Role of oxygen-derived radicals. *Circulation* 1995;92:1582-9.
23. Simon BC, Cunningham LD, Cohen RA. Oxidized low density lipoproteins cause contraction and inhibit endothelium-dependent relaxation in the pig coronary artery. *J Clin Invest* 1990;86:75-9.
24. Holvoet P, Vanhaecke J, Lanssens S, Van der Werf F, Collen D. Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation* 1998;98:1487-94.
25. Puurunen M, Mänttari M, Manninen V, Alfthan G, Ehnholm C, Vaarala O, et al. Antibodies to oxidized low-density lipoprotein predicting myocardial infarction. *Arch Intern Med* 1994;154:2605-9.
26. Hacknman A, Abe Y, Insull W, et al. Levels of soluble adhesion molecules in patients with dyslipidemia. *Circulation* 1996;93:1334-8.
27. Sampietro T, Tuomi M, Ferdeghini M, et al.

- Plasma cholesterol regulates soluble cell adhesion molecule expression in familiar hypercholesterolemia. *Circulation* 1997;96:1381-5.
28. Lacoste L, Lam JYT, Hung L, et al. Hyperlipidemia and coronary disease. Correction of the increased thrombogenic potential with cholesterol reduction. *Circulation* 1995;92:3172-7.
 29. Nofer J-R, Tepel M, Kehrel B, et al. Low-density lipoproteins inhibit the Na⁺/H⁺ antiport in human platelets. A novel mechanism enhancing platelet activity in hypercholesterolemia. *Circulation* 1997;95:1370-7.
 30. Zhu Y, Liao H-L, Lin JH-C, Verna L, Stermerman MB. Low-density lipoprotein augments interleukin-1-induced vascular adhesion molecule expression in human endothelial cells. *Atherosclerosis* 1999;144:357-65.
 31. Cybulsky MI, Gimbrone MAJ. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1991;251:788-91.
 32. Vallance P, Collier J, Bhagat K. Infection, inflammation, and infarction: does acute endothelial dysfunction provide a link? *Lancet* 1997;349:1391-2.
 33. Brown BG, Zhao X-Q. Importance of endothelial function in mediating the benefits of lipid-lowering therapy. *Am J Cardiol* 1998;82:49T-52T.
 34. Wang P, Ba ZE, Chaudry IH. Administration of tumor necrosis factor- α in vivo depresses endothelium-dependent relaxation. *Am J Physiol (Heart)* 1994;266:H2535-H2541.
 35. Chowienzyk PJ, Watts CF, Cockcroft JR, Ritter JM. Impaired endothelium-dependent vasodilatation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemia. *Lancet* 1992;340:1430-2.
 36. Yoshizumi M, Perrella MA, Burnett Jr JC, Lee ME. Tumor necrosis factor downregulates an endothelial nitric oxide synthase mRNA by shortening its half-life. *Circ Res* 1993;73:205-9.
 37. Smith CJ, Sun D, Hoegler C, et al. Reduced gene expression of vascular endothelial NO synthase and cyclooxygenase-1 in heart failure. *Circ Res* 1996;78:58-64.
 38. Moncada S, Higgs EA. Molecular mechanisms and therapeutic strategies related to nitric oxide. *FASEB J* 1995;9:1319-30.
 39. Habib A, Creminon C, Frobert Y, Grassi J, Predelles P, Maclouf J. Demonstration of an inducible cyclooxygenase in human endothelial cells using antibodies raised against the carboxyl-terminal region of the cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 1993;268:23448-54.
 40. Bhagat K, Vallance P. Inflammatory cytokines impair endothelium-dependent dilatation in human veins in vivo. *Circulation* 1997;96:3042-7.
 41. Noll G. Pathogenesis of atherosclerosis: a possible relation to infection. *Atherosclerosis* 1998;140(suppl I):S3-S9.
 42. Marx N, Neumann FJ, Ott I, Gawaz M, Koch W, Pinkau T, et al. Induction of cytokine expression in leukocytes in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:165-70.
 43. Yi-Heng Li, Jeng-Kai Teng, Wei-Chun Tsai, Liang-Miin Tsai, Li-Jen Lin, Jyh-Hong Chen. Elevation of soluble adhesion molecules is associated with the severity of myocardial damage in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1997;80:1218-21.
 44. Ikeda U, Ikeda M, Kano S, Shimada K. Neutrophil adherence to rat cardiac myocytes by proinflammatory cytokines. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;23:647-52.
 45. Ivey CL, Williams FM, Collins PD, Jose PJ, Williams TJ. Neutrophil chemoattractants generated in two phases during reperfusion of ischemic myocardium in the rabbit. *J Clin Invest* 1995;95:2720-8.
 46. Dinarello CA. The biological properties of interleukin-1. *Eur Cytokine Netw* 1994;5:517-31.
 47. Sica A, Matsushima K, Van Damme J, et al. IL-1 transcriptionally activates the neutrophil chemotactic factor/IL-8 gene in endothelial cells. *Immunology* 1990;69:548-53.
 48. Neumann FJ, Ott I, Gawaz M, et al. Cardiac release of cytokines and inflammatory responses in acute myocardial infarction. *Circulation* 1995;92:748-55.
 49. Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G, et al. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation* 1996;94:874-7.
 50. Simon LS. Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. *Am J Med* 1999;106(5B):37S-42S.
 51. Kurumbail RG, Stevens AM, Gierse JK, et al. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Nature* 1996;384:644-8.
 52. Anderson GD, Hauser SD, McGarity KL, et

-
- al. Selective inhibition of cyclooxygenase (COX-2) reverses inflammation and expression of COX-2 and interleukin 6 in rat adjuvant arthritis. *J. Clin Invest* 1996;97:2672-9.
53. Domoki F, Veltkamp R, Thrikawala N, Robins G, Bari F, Louis T, et al. Ischemia-reperfusion rapidly increases COX-2 expression in piglet cerebral arteries. *Am J Physiol* 1999;46: H1207-H1214.
54. Baker CSR, Hall RJC, Evans TJ, Pomerance A, Maclouf J, Creminon C, et al. Cyclooxygenase-2 is widely expressed in atherosclerotic lesions affecting native and transplanted human coronary arteries and colocalizes with inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine particularly in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:646-55.
55. Schönbeck U, Sukhova GK, Graber P, Coulter S, Libby P. Augmented expression of cyclooxygenase-2 in human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1999;155:1281-91.
56. Belton O, Byrne D, Kearney D, Leahy A, Fitzgerald D. Cyclooxygenase-1 and -2-dependent prostacyclin formation in patients with atherosclerosis. *Circulation* 2000;102:840-5.
57. Hernández-Presa MA, Martín-Ventura JL, Ortego M, Gómez-Hernández A, Tuñón J, Hernández-Vargas P, et al. Atorvastatin reduces the expression of cyclooxygenase-2 in a rabbit model of atherosclerosis and in cultured vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 2002;160:49-58.