

# Niveles séricos de ceruloplasmina y mieloperoxidasa en pacientes con enfermedad coronaria crónica

*Serum levels of ceruloplasmin and myeloperoxidase in patients with stable coronary artery disease*

*Níveis séricos de ceruloplasmina e mieloperoxidase em pacientes com doença coronariana crônica*

- Viviana Mónica Yapur<sup>1a</sup>, María Fernanda Bustos<sup>1a</sup>, María Beatriz Di Carlo<sup>4a</sup>, Fabiana Norma López Mingorance<sup>1a</sup>, Manuel Vázquez Blanco<sup>2b</sup>, Gustavo Alberto Negri<sup>3a</sup>

---

<sup>1</sup> Bioquímico.

<sup>2</sup> Médico.

<sup>3</sup> Doctor en Bioquímica.

<sup>4</sup> Doctor de la Universidad de Buenos Aires.

<sup>a</sup> Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, INFIBIOC, UBA, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

<sup>b</sup> Servicio de Cardiología, Hospital de Clínicas "José de San Martín", UBA, Córdoba 2351, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

## Resumen

La ceruloplasmina (CP) es una proteína que participa en el metabolismo del hierro y transporta el 95% del cobre plasmático. Se considera un inhibidor fisiológico de la mieloperoxidasa (MPO), enzima leucocitaria que forma parte del sistema inmune innato. Ambas se postulan como biomarcadores de la enfermedad cardiovascular. El objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad de CP y la concentración de MPO en pacientes con enfermedad coronaria crónica (ECC) y analizar su asociación con otros parámetros de inflamación. Se estudiaron 22 pacientes con ECC y 22 controles sanos. La actividad de CP fue determinada por el método de Ozcan Erel y las concentraciones de MPO, proteína C- reactiva ultrasensible (PCR-us) e Interleuquina 6 (IL-6) por métodos estandarizados. La concentración de MPO y la actividad de CP fueron mayores en pacientes con ECC que en sujetos sanos; (417±295 vs. 179±145 ng/mL,  $p=0,0018$ ); (891±179 vs. 630±115 IU/L,  $p<0,0001$ ) respectivamente y la asociación entre las variables fue estadísticamente significativa ( $r=0,47$ ,  $p=0,0272$ ). La liberación sistémica de MPO que conduce a valores incrementados de su concentración sérica, y la hiperceruloplasmia podrían considerarse un rasgo característico de ECC asintomática e indicarían aterosclerosis en pacientes que eventualmente desarrollen ECC.

**Palabras clave:** ceruloplasmina \* mieloperoxidasa \* inflamación \* proteína C reactiva \* enfermedad coronaria crónica \* interleuquina \* aterosclerosis

## Summary

*Ceruloplasmin (CP) was reported to be an independent risk factor for cardiovascular disease. It has been identified as an acute phase protein and it carries about 95% of plasma copper. Myeloperoxidase (MPO), a leukocyte enzyme, has been listed as a potentially useful risk marker in acute coronary*

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

syndrome (ACS). More recently, it has been suggested that CP could be a physiological inhibitor of MPO. The aim of this study was to evaluate CP activity, MPO concentration, high sensitive C-reactive protein (CRP-hs) and Interleukine-6 (IL-6) in 22 patients with coronary arterial disease (CAD) and 22 control subjects and to analyze the association with other inflammatory parameters. CP activity was determined evaluating ferroxidase activity and MPO concentration, CRP-hs and IL-6 were measured by standardized methods. CP activity and MPO concentration were significantly higher in CAD patients than in healthy subjects ( $891 \pm 179$  versus  $630 \pm 115$  IU/L,  $p < 0.0001$ ); ( $417 \pm 295$  versus  $179 \pm 145$  ng/mL,  $p = 0.0018$ ), respectively. Significant association was found between MPO levels and CP activity ( $r = 0.47$ ,  $p = 0.0272$ ). Elevated MPO levels suggest that systemic release of MPO is a characteristic feature of asymptomatic coronary artery disease (CAD) and high CP activity could reflect subclinical atherosclerosis burden in patients who eventually develop symptomatic CAD.

**Key words:** ceruloplasmin \* myeloperoxidase \* inflammatory parameters \* high sensitive C-reactive protein \* coronary artery disease \* interleukine \* atherosclerosis

## Resumo

Ceruloplasmina é uma proteína envolvida no metabolismo do ferro e transporta 95% do cobre plasmático. Considera-se um inibidor fisiológico da mieloperoxidase (MPO), enzima leucocitária que faz parte do sistema imunológico inato. Ambas são postuladas como biomarcadores da doença cardiovascular. O objetivo deste estudo foi determinar a atividade de ceruloplasmina e a concentração de MPO em pacientes com doença coronariana crônica e analisar sua associação com outros marcadores de inflamação. Foram estudados 22 pacientes com ECC e 22 controles saudáveis. A atividade da CP foi determinada pelo método de Ozcan Erel e as concentrações de MPO, proteína C-reativa ultrasensível (PCR-us) e a interleucina 6 (IL-6) por meio de métodos padronizados. A concentração de MPO e a atividade de CP foram maiores em pacientes com ECC do que em indivíduos saudáveis ( $417 \pm 295$  vs.  $179 \pm 145$  ng/mL,  $p = 0,0018$ ); ( $891 \pm 179$  vs.  $630 \pm 115$  IU/L,  $p < 0,001$ ) respectivamente, e a associação entre as variáveis foi estatisticamente significativa ( $r = 0.47$ ,  $p = 0,0272$ ) respectivamente, e a associação entre as variáveis foi estatisticamente significativa. A liberação sistêmica de MPO que leva a valores incrementados da sua concentração sérica, e a hiperceruloplasminemia poderia ser considerado um traço característico de ECC assintomática e poderia indicar aterosclerose em indivíduos que eventualmente desenvolvam ECC.

**Palavras chave:** ceruloplasmina \* mieloperoxidase \* inflamação \* proteína C-reativa \* doença coronariana crônica \* interleucina \* aterosclerose

## Introducción

Los pacientes con ECC pueden desarrollar eventos cardiovasculares graves. La diabetes *mellitus*, el tabaquismo, la edad, la dislipemia y la hipertensión arterial constituyen factores útiles, que tradicionalmente han permitido identificar a la población con alto riesgo de sufrirlos (1).

El proceso inflamatorio que se desencadena en la pared arterial se pone de manifiesto en todas las etapas involucradas en el desarrollo de la placa aterosclerótica, desde la disfunción endotelial temprana, que se inicia con el depósito de los lípidos en el tejido vascular, hasta la ruptura y consecuente complicación trombótica (2). La placa activa o vulnerable, responsable de la aparición de eventos coronarios como el infarto agudo de miocardio y la angina inestable, contiene células que intervienen en la inflamación (3). En patologías como la obesidad, la diabetes *mellitus* tipo 2 y la insulinoresis-

tencia, la inflamación, además de ser crónica, es leve y se puede evidenciar a través del incremento de los niveles séricos de proteínas reactantes de fase aguda y de citoquinas (4).

La CP es una proteína de síntesis hepática y participa en el transporte del 95% del cobre circulante en una población de individuos adultos sanos; se la considera un reactante de fase aguda, ya que su concentración en plasma aumenta durante la respuesta inflamatoria que se produce frente al daño del tejido vascular (5). La función fisiológica de la CP se desconoce fehacientemente; se le atribuyen posibles participaciones en procesos de coagulación, en angiogénesis, en el metabolismo del hierro, en la inactivación de aminas biógenas y en la defensa de los tejidos expuestos al estrés oxidativo. La revisión bibliográfica aporta datos que vinculan a los niveles séricos de concentración de CP con la incidencia de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular (angina inestable, vasculitis, enfermedad arterial periférica y aneurisma aórtico abdominal) (6). Los primeros re-

portes fueron realizados por Vallee (7) y Aldestein (8) quienes observaron hipercupremia luego de un infarto agudo de miocardio. Aunque los hallazgos que anteceden pueden ser explicados por la respuesta aguda que acompaña a los desórdenes metabólicos, estudios prospectivos demuestran que la concentración de CP puede considerarse un factor de riesgo independiente con respecto a la enfermedad cardiovascular (9). La relación entre la integridad estructural y la actividad de la enzima es fundamental para que ésta cumpla su función como inhibidor fisiológico de la MPO (10).

La MPO, enzima que participa en la respuesta inmune innata, se encuentra presente principalmente en los leucocitos polimorfonucleares, se libera de los neutrófilos activados y de los monocitos en la inflamación. Durante el estallido respiratorio, la acción catalítica de la MPO puede incrementar el potencial oxidativo del peróxido de hidrógeno, mediante la producción de ácido hipocloroso a partir de ión cloruro (11). En el tejido vascular endotelial, el ácido hipocloroso ejerce su acción bactericida sobre una gran variedad de patógenos y promueve la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) para formar células espumosas, estrías grasas y ateromas durante la etapa inicial de la aterosclerosis (12). Se la considera un biomarcador asociado con mortalidad en pacientes con síndrome coronario agudo o disfunción sistólica ventricular izquierda crónica (13-15).

El objetivo del presente trabajo fue: a- determinar, analizar y comparar la concentración de MPO y la actividad de CP; b- evaluar el componente inflamatorio mediante la cuantificación de la concentración de PCR-us e IL-6.

## Materiales y Métodos

Se realizó un estudio transversal en una muestra de pacientes que concurrieron al Servicio de Cardiología y al Servicio de Hemoterapia del Hospital de Clínicas "José de San Martín", durante el período comprendido entre los meses de junio de 2008 y junio de 2010.

Se trabajó con dos grupos de 22 sujetos cada uno. En el primero, llamado grupo control, se incluyeron individuos aparentemente sanos, y el segundo grupo estuvo constituido por individuos con diagnóstico de ECC estable.

El diagnóstico de ECC estable se realizó en base a la consideración de las siguientes características clínicas:

- La presencia de síntomas anginosos y/o antecedentes de enfermedad coronaria (infarto de miocardio y/o procedimientos de revascularización coronaria).
- Cateterismo cardíaco que demuestre la existencia de lesiones ateroscleróticas con obstrucción sig-

nificativa (mayor del 70% de la luz) en al menos una arteria mayor (coronaria derecha, descendente anterior o circunfleja).

- Curso clínico estable durante los dos meses previos a la toma de muestra.

Se consideraron los siguientes criterios:

- De inclusión: sujetos con diagnóstico de ECC estable.
- De exclusión: sujetos con diagnóstico de enfermedad renal terminal, con patologías inflamatorias y/o neoplásicas.

Las muestras de sangre se extrajeron por punción venosa en individuos sometidos a ayuno de 8 h, se centrifugaron a la temperatura de 4 °C, a la velocidad de 1500 g durante 20 minutos y se separó el sobrenadante en forma inmediata. Los sueros se conservaron a -70 °C hasta el momento del procesamiento.

Para la determinación de la actividad de CP se utilizó el método desarrollado por Erel O. que se fundamenta en la oxidación del sustrato sulfato amónico ferroso hexahidratado ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) (16). La muestra sérica que contiene a la enzima se incubó con una solución de concentración conocida de ión ferroso (proveniente del sustrato) en *buffer* acetato. Luego del período de incubación correspondiente, se agregó el reactivo cromogénico el cual forma un complejo color azul con los iones ferrosos. Este complejo presenta un pico de absorción en el espectro visible a una longitud de onda comprendida entre 590-610 nm. Durante el proceso de oxidación, catalizado por la CP, los iones ferrosos se oxidan a iones férricos. La diferencia entre la concentración de iones ferrosos antes y después de la reacción, indica la cantidad de sustrato que se oxida en la misma. La actividad enzimática presente en la muestra se considera inversamente proporcional a esta diferencia. Con el propósito de evitar la autooxidación espontánea de los iones ferrosos se agregó una solución de tiourea durante la preparación y el almacenamiento del sustrato. Luego, los iones férricos formados en la mezcla reactiva se deben solamente a los aportados al medio por la catálisis enzimática. La actividad catalítica se expresó en unidades por litro de líquido biológico. La unidad se definió como la cantidad de enzima que transforma 1  $\mu\text{mol}$  de sustrato en producto por minuto de reacción.

La determinación cuantitativa *in vitro* de PCR-us se realizó mediante el empleo de una prueba inmunoturbidimétrica (17).

El instrumento de medida que se utilizó para la lectura de absorbancias al implementar los métodos mencionados en los párrafos anteriores fue un analizador automático HITACHI 917 (Roche Diagnostics, Florida, EE.UU.).

La determinación de la concentración de MPO se realizó por enzimoimmunoensayo de fase sólida, de

captura, que utiliza un único anticuerpo monoclonal específico para un determinante antigénico de la MPO humana (Calbiochem) (18) y la de concentración de MPO activa se realizó por ensayo de inmunoenzima de captura que utiliza un anticuerpo policlonal específico para MPO humana. La actividad de la MPO capturada se determinó con el reactivo que incluye 3, 3', 5, 5'-tetrametilbencidina (TMB) y peróxido de hidrógeno como sustrato (19). Las lecturas de las absorbancias se hicieron en un lector de placas Stat Fax 2100.

La concentración de IL-6 se midió mediante el método inmunométrico enzimático secuencial en fase sólida por quimioluminiscencia en el analizador Immulite. (Siemens, Alemania) (20).

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables categóricas se representaron como frecuencias y porcentajes, y la significancia de las asociaciones entre ellas se analizó con la prueba exacta de Fisher. La distribución normal (gausiana) de las variables continuas se comprobó a través del uso de la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Los datos con distribución normal se expresaron como media  $\pm$  desvío estándar, luego del análisis de comparación con el *test* de Student. El nivel de significación estadística se estableció para un valor de  $p < 0,05$ .

## Resultados

Las características clínicas y demográficas de los grupos se resumieron en la Tabla I. No se observó diferencia estadísticamente significativa entre la proporción de hombres y mujeres (68% y 32%, respectivamente, en ambos grupos). Los individuos del grupo con ECC estable presentaron mayor edad que los del grupo control. Se obtuvieron valores de concentración de glucosa, marcador de riesgo en pacientes con ECC, estadísticamente superiores con respecto a los valores obtenidos en el grupo control. En cambio, no sucedió lo mismo con las concentraciones de otros marcadores tradicionales como son los triglicéridos, el colesterol total y el colesterol-HDL, en los que no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas. Todos los individuos con ECC y ninguno del control presentaron hipertensión arterial. No se halló diferencia estadísticamente significativa en relación a la presencia de diabetes *mellitus* y dislipemia entre los grupos.

Al evaluar otros parámetros bioquímicos de origen renal, hepático y de músculo esquelético se observó que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la concentración de bilirrubina total y, las actividades de alanina aminotransferasa (ALAT), aspartato amino transferasa (ASAT) y creatinquinasa (CK). Sí se obtuvieron diferencias significativas para las

siguientes: urea, creatinina, y actividades de fosfatasa alcalina (FAL) y lactato dehidrogenasa (LDH) entre los grupos. Probablemente el incremento de urea, creatinina y FAL se deba al factor etario.

Tabla I. Características demográficas y clínicas de los grupos.

Variable	ECC estable	Control	p
Edad (años)	62,5	37,5	<0,0001
Sexo masculino (n)	15	15	1
Hipertensión arterial (n)	22	0	< 0,0001
Dislipemia (n)	14	8	0,1308
Diabetes <i>mellitus</i> (n)	3	0	0,2326
Glucosa (mg/dL)	99 $\pm$ 14	83 $\pm$ 11	0,0002
Colesterol (mg/dL)	180 $\pm$ 37	185 $\pm$ 43	0,6879
Triglicéridos (mg/dL)	158 $\pm$ 99	127 $\pm$ 91	0,2903
Colesterol HDL (mg/dL)	50 $\pm$ 15	46 $\pm$ 19	0,3532
Urea (mg/dL)	46 $\pm$ 13	30 $\pm$ 6	<0,0001
Creatinina (mg/dL)	1,06 $\pm$ 0,23	0,72 $\pm$ 0,14	<0,0001
Bilirrubina Total (mg/dL)	0,7 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,5	0,7972
ALAT (UI/L)	21 $\pm$ 9	17 $\pm$ 11	0,2625
ASAT (UI/L)	22 $\pm$ 6	21 $\pm$ 7	0,4193
FAL (UI/L)	220 $\pm$ 64	163 $\pm$ 44	<0,0001
CK (UI/L)	121 $\pm$ 53	112 $\pm$ 57	0,5988
LDH (UI/L)	341 $\pm$ 57	252 $\pm$ 38	<0,0001

Los resultados se expresaron con números absolutos o como media  $\pm$  desvío estándar de la media. ECC- enfermedad coronaria crónica

Los sujetos con ECC estable presentaron valores de actividad de CP y de concentración total de MPO por encima del valor medio del intervalo de referencia para cada una de las enzimas. Los valores de referencia de actividad de CP se obtuvieron con anterioridad a este estudio en el laboratorio de análisis clínicos del Departamento de Bioquímica Clínica del Hospital de Clínicas "José de San Martín" (21). En el caso de la concentración total de MPO se utilizó el intervalo de referencia que figura en el equipo comercial. En la Tabla II se resumen los valores promedio, desvío estándar y rango de la actividad de CP y de la concentración total y activa de MPO. La diferencia entre las medias fue estadísticamente significativa entre los grupos excepto para la concentración activa de MPO. Los presentes resultados sugieren que la MPO activa no identifica pacientes con ECC estable.

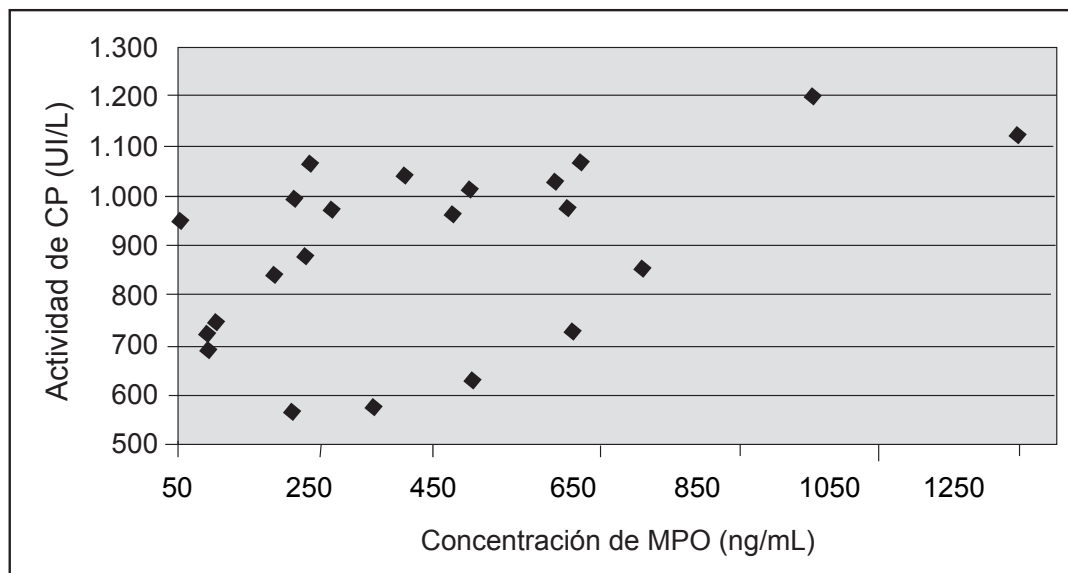
En la Figura 1 se observa la asociación entre los valores de actividad de CP y concentración de MPO

en pacientes con ECC estable ( $r=0,4704$ ;  $p=0,0272$ ). Los niveles de CP no correlacionaron con los de PCR-us ( $r=0,2118$ ;  $p=0,3566$ ) ni con los de IL-6 ( $r=0,312$ ;  $p=0,2622$ ), pero sí con los de MPO.

La distribución de los valores individuales de MPO y de CP en función de su concentración y actividad en suero, se ilustran en las Figuras 2 y 3, respectivamente. Se puede observar que la mayoría de los datos obtenidos se encuentra dentro del intervalo de referencia para ambos grupos.

Tabla II. Valores promedio  $\pm$  desvío estándar y rangos (entre paréntesis) de los indicadores bioquímicos estudiados.

Indicadores	Con ECC	Control	p
CP (UI/L)	891 $\pm$ 179 (712-1070)	630 $\pm$ 115 (515-745)	<0,0001
MPO total (ng/mL)	417 $\pm$ 295 (122-712)	179 $\pm$ 145 (34-324)	0,0018
MPO activa (ng/mL)	34,2 $\pm$ 20,9 (13,3-55,1)	35,0 $\pm$ 26,4 (8,6-61,4)	0,9202



( $r=0,4704$ ;  $p=0,0272$ ).

Figura 1. Asociación entre la actividad de CP y la concentración de MPO en pacientes con ECC

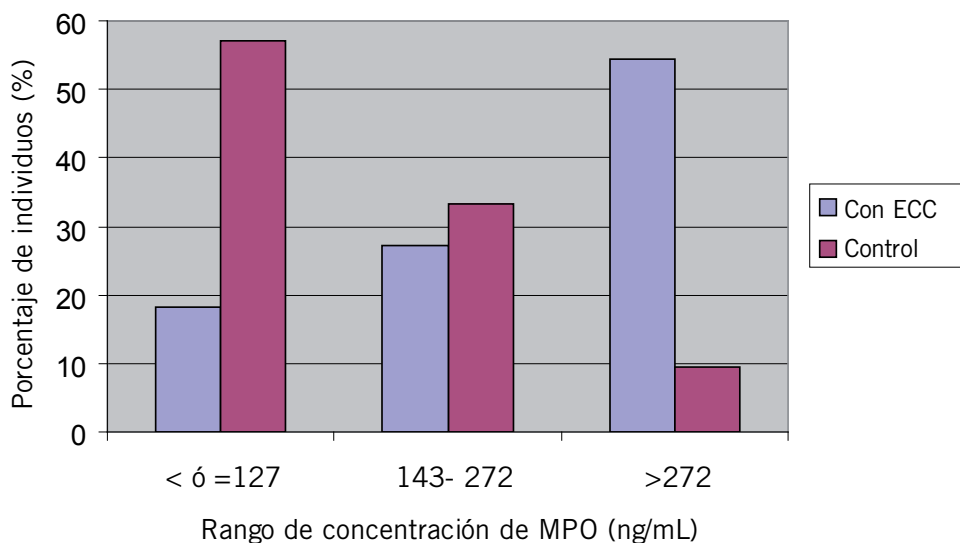


Figura 2. Distribución de la población según los rangos de MPO en suero.

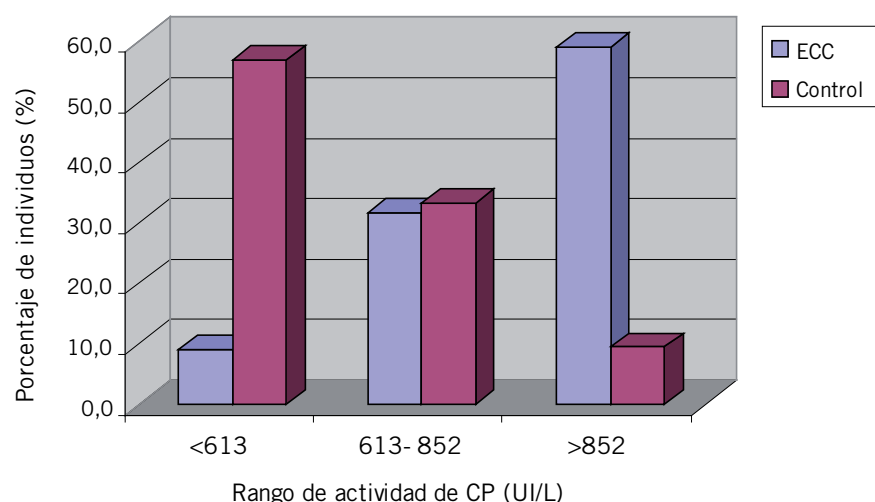


Figura 3. Distribución de la población según los rangos de CP en suero.

## Discusión y Conclusiones

En el presente trabajo se estudió la concentración total y activa de MPO y la actividad de CP en pacientes con diagnóstico de ECC estable.

La ECC estable es una enfermedad heterogénea que se manifiesta con cuadros clínicos diversos y cuya evolución puede ser distinta de acuerdo a cada caso clínico en particular. La inflamación del endotelio vascular da origen a la formación de la placa ateromatosa, a su inestabilidad y a la eventual disrupción en ECC. Los individuos que presentan mayor respuesta inflamatoria a la injuria tisular son los que van a tener peor evolución durante el curso de la enfermedad y van a estar expuestos a un mayor riesgo de sufrir eventos cardiovasculares adversos (22).

La MPO y la CP se encuentran involucradas en efectos proaterogénicos. La MPO participa de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de alta densidad (HDL), eventos directamente relacionados a la vulnerabilidad de la placa ateromatosa (23). La CP interactúa con la MPO e inhibe su actividad peroxidasa en circulación por medio de la formación de un complejo electrostático entre ambas moléculas proteicas. Este hecho probablemente conduzca a un cambio conformacional de la estructura proteica de la MPO que podría llevar a la pérdida de la actividad catalítica de esta enzima. Este fenómeno va a explicar el aumento de la concentración sérica total de MPO pero no la de su forma molecular activa. Entonces, la CP se comporta como un inhibidor competitivo que impide la unión de sustratos aromáticos al centro activo de la MPO y, consecuentemente va a desencadenar la pérdida de la propiedad catalítica de esta última proteína (10).

En el caso particular de la ECC se han estudiado algunos biomarcadores entre los cuales se halla la PCR-us. Esta molécula ocupa un lugar preponderante, y

su aumento en circulación se encuentra asociado a la elevada morbilidad y mortalidad de pacientes con alto riesgo de sufrir enfermedad cardiovascular (24). El valor predictivo que aporta la medida de la concentración de PCR-us se asume independiente de la presencia de factores de riesgo cardiovasculares tradicionales (25).

Las citoquinas [interleuquina 1, IL-6, interleuquina 8, la proteína 1 quimioattractante de los monocitos], el ligando soluble CD40, el amiloide A sérico, las selectinas, las metaloproteasas de la matriz, las moléculas de adhesión celular y vascular, el factor de crecimiento placentario y las fosfolipasas A2 constituyen algunos de los biomarcadores que se han estudiado en la última década con motivo de su participación en el proceso inflamatorio (26).

La acción pro-oxidante de la CP que se lleva a cabo cuando existe integridad estructural de la proteína, se manifiesta a través de la oxidación directa que ésta ejerce sobre las moléculas de LDL y podría contribuir al desarrollo de la enfermedad cardiovascular en pacientes con enfermedad inflamatoria crónica (27). En la Figura 1 se muestra la asociación entre la actividad de CP y la concentración total de MPO. Ambas enzimas están involucradas en la aterogénesis y esto podría explicar el incremento de sus niveles séricos y la buena correlación que existe entre ellas. Por un lado, la CP va a ejercer una función de protección del tejido a través de la inhibición de la actividad de la MPO y por el otro va a producir un efecto proaterogénico directo (6).

Sin embargo, los niveles altos de CP también se pueden atribuir a la respuesta de fase aguda que se desencadena durante la inflamación y que va a producir la liberación de concentraciones de CP al plasma. Los resultados hallados en este trabajo van a permitir descartar esa posibilidad debido a que no se evidenciaron asociaciones estadísticamente significativas entre los ni-

veles de actividad de CP y las concentraciones de PCR-us y de IL-6, reactante de fase aguda y agente pro-inflamatorio respectivamente.

Los grupos fueron pareados por sexo pero no por edad, este comentario constituye la limitación de este estudio.

En conclusión, el principal hallazgo de este trabajo fue que la concentración total de MPO y la actividad de CP se encontraron aumentadas en pacientes con ECC estable cuando se las comparó con los controles aparentemente sanos. Sin embargo, la concentración activa de MPO no mostró diferencias significativas.

Por lo tanto, la liberación sistémica de MPO que se hace evidente a través de su aumento sérico podría constituir un rasgo característico de pacientes con ECC estable y el aumento de la actividad de CP en circulación podría reflejar la presencia de aterogénesis endotelial.

#### CORRESPONDENCIA

BIOQUÍMICA VIVIANA M. YAPUR  
Área Gastroenterología y Enzimología Clínica  
Dpto. de Bioquímica Clínica  
Hospital de Clínicas "José de San Martín", UBA  
Av. Córdoba 2352  
1121 CIUDAD DE BUENOS AIRES, Argentina  
E-mail: vivianayapur@hotmail.com

#### Referencias bibliográficas

- Wilson P, D'Agostino R, Levy D, Belanger A, Silbershatz H, Kannel W. Prediction of coronary heart disease using risk factors categories. *Circulation* 1998; 97: 1837-47.
- Hansson G. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352 (16): 1685-95.
- Shah P. Inflammation and plaque vulnerability. *Cardiovasc Drugs Ther* 2009; 23(1): 31-40.
- De Luca C, Olefsky J. Inflammation and insulin resistance. *FEBS Lett* 2008; 582(1): 97-105.
- Hellman N, Gitlin J. Ceruloplasmin metabolism and function. *Annu Rev Nutr* 2002; 22: 439-58.
- Calabrese L, Bielli P. Structure to function relationships in ceruloplasmin: a "moonlighting" protein. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 1413-27.
- Vallee BL. The time course of serum copper concentrations of patients with myocardial infarctions. *Metabolism* 1952; 1(5): 420-34.
- Aldestein SJ, Coombs T, Vallee B. Metalloenzymes and myocardial infarction. I. The relation between serum copper and ceruloplasmin and its catalytic activity. *N Engl J Med* 1955; 255: 105-9.
- Tang W, Wu Y, Hartiala J, Fan Y, Stewart AF, Roberts R, *et al.* Clinical and genetic association of serum ceruloplasmin with cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32(2): 516-22.
- Sokolov A, Ageeva K, Cherkalina O, Pulina M, Zakharova E, Prozorovskii V, *et al.* Identification and properties of complexes formed by myeloperoxidase with lipoproteins and ceruloplasmin. *Chem Phys Lipids* 2010; 163(4-5): 347-55.
- Klebanoff S. Myeloperoxidase: friend and foe. *J Leukoc Biol* 2005; 77(5): 598-625.
- Zouaoui Boudjeltia K, Moguilevsky N, Legssyer I, Babar S, Guillaume M, Delree P, *et al.* Oxidation of low density lipoproteins by myeloperoxidase at the surface of endothelial cells: an additional mechanism to subendothelium oxidation. *Biochem Biophys Res Comm* 2004; 325(2): 434-8.
- Domínguez-Rodríguez A, Abreu-González P. Myeloperoxidase in the acute coronary syndrome: equal concentrations at any time of day? *Int J Cardiol* 2011; 150(2): 206-7.
- Samsamshariat S, Basati G, Movahedian A, Pourfarzam, M, Sarrafzadegan N. Elevated plasma myeloperoxidase levels in relation to circulating inflammatory markers in coronary artery disease. *Biomark Med* 2011; 5(3): 377-85.
- Tsimkas S. Oxidative biomarkers in the diagnosis and prognosis of cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2006; 98: 9-17.
- Erel O. Automated measurement of serum ferroxidase activity. *Clin Chem* 1998; 44 (11): 2313-9.
- Tietz N. *Clinical guide to laboratory tests*, 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995.
- Enval E. Enzyme immunoassay ELISA and EMIT. *Methods Enzymol* 1980; 70: 419-39.
- Winterbourn C, Vissers M, Kettle A. Myeloperoxidase. *Curr Opin Hematol* 2000; 7 (1): 53-8.
- Ziakas A, Gavriliadis S, Souliou E, Giannoglou G, Stiliadis I, Karvounis H, *et al.* Ceruloplasmin is a better predictor of the long-term prognosis compared with fibrinogen, CRP, and IL6 in patients with severe unstable angina. *Angiology* 2009; 60: 50-9.
- Yapur V, Bustos M, González A, Negri G. Ceruloplasmina: determinación de su actividad ferroxidasa. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2007; 41(3): 347-51.
- Kubala L, Lu G, Baldus S, Berglund L, Eiserich J. Plasma levels of myeloperoxidase are not elevated in patients with stable coronary artery disease. *Clin Chim Acta* 2008; 394(1-2): 59-62.
- Carr A, Mc Call M, Frei B. Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1716-23.
- Casas J, Shah T, Hingoranim AD, Danesh J, Pepys MB. C-Reactive and coronary heart disease: a critical review. *J Intern Med* 2008; 264: 295-314.
- Speidl W, Graf S, Hornykewycz S, Nikfardjm M, Niessner A, Zorn G, *et al.* High-sensitivity C-reactive protein in the prediction of coronary events in patients with premature coronary artery disease. *Am Heart J* 2002; 144(3): 449-55.
- Hermansen S, Kalstad T, How O, Myrmet T. Inflammation and reduced endothelial function in the course of severe acute heart failure. *Transl Res* 2011; 157 (3): 117-27.
- Shukla N, Maher J, Masters J, Angelini G, Jeremy J. Does oxidative stress change ceruloplasmin from a protective to a vasculopathic factor. *Atherosclerosis* 2006; 187: 238-50.

Aceptado para su publicación el 22 de enero de 2013