

**ABSTRACT & EXECUTIVE SUMMARY
PENELITIAN HIBAH BERSAING
TAHUN I**



**PENGEMBANGAN METODE STRATIFIKASI RESIKO SERANGAN JANTUNG
BERDASARKAN BIOMARKER AKTIVITAS NEUTROFIL DALAM DARAH:
EKSPRESI MATRIX METALLOPROTEINASE-8 DAN INTERLEUKIN-8**

Tim Peneliti :

dr. Suryono SP. JP (0011106913)

Dr. drg. IDA Susilawati, M. Kes (0003096112)

dr. Hairrudin, M. Kes (0011107609)

**UNIVERSITAS JEMBER
DESEMBER 2015**

Elevation of Inflammatory Biomarkers in Acute Coronary Syndrome

Suryono¹; I Dewa Ayu Susilawati²; Hairrudin³

¹Department of Cardiology Faculty of Medicine; ²Department of Biomedical Faculty of Dentistry; ³Department of Biomedical Faculty of Medicine, University of Jember, Indonesia

Abstract

Recent paradigm suggested the the role of inflammation in acute coronary syndrome (ACS). This study aimed to analyze some inflammatory biomarkers in ACS patients, i. e. White Blood Cell Count (WBC), Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR), and expression of enzymes and cytokine: NADPH-oxidase-1 (NOX-1), matrix metalloproteinase-8 (MMP-8), Interleukin-8 (IL-8) and Interleukin-17 (IL-17). A total of 84 subjects were enrolled in this study, consisted of 52 ACS patients (including 21 unstable angina and 15 non-ST-segment elevation myocardial infarction NSTEMI and 16 STEMI), 16 individu with stable angina pectoris and 16 healthy control. Level of MMP NOX-1, MMP-8, IL-17 and IL-8 were analyzed in blood serum by means of enzyme linked immunosorben assay (Elisa). Results showed that there were significant ($p < 0.05$) increasing of WBC, ESR, MMP-8 and NOX-1 in ACS patients, the highest level was in STEMI patients. In Conclusion, ACS patients demonstrated elevation of inflammatory biomarkers.

Key words: Acute Coronary Syndrome; Acute coronary syndrome (ACS); MMP-8; NOX-1; White Blood Cell Count (WBC), Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR)

RINGKASAN

Target penelitian tahun pertama adalah menemukan biomarker sindrom koroner akut (SKA) berdasarkan aktivitas netrofil di dalam darah. Biomarker ini diharapkan dapat digunakan untuk mengembangkan metode stratifikasi resiko serangan jantung, yang bermanfaat sebagai pedoman untuk melakukan tindakan prevensi dan terapi yang tepat, sehingga insidensi kematian karena serangan jantung dapat diturunkan. Kandidat biomarker yang diteliti meliputi, ekspresi *matrix metalloproteinase-8* (MMP-8), interleukin-8 (IL-8), NADPH oxidase-1 (NOX-1) dan Interleukin 17 (IL-17).. Penelitian dilakukan pada 4 (empat) kelompok uji yaitu 1) penderita sindrom koroner akut, SKA (STEMI), 2) NSTEMI, 3) penderita *stable angina* dan 4) individu sehat. Masing-masing kelompok uji terdiri dari 15 orang. Sampel darah pasien SKA diambil pada saat mereka dirawat di UGD atau ICU/CVCU, sedangkan darah penderita *stable angina* diambil pada saat mereka melakukan *check up* atau rawat jalan, dan individu kontrol adalah sukarelawan sehat yang sedang melakukan donor darah. Pada ketiga kelompok penelitian, kriteria inklusinya adalah pasien tidak sedang mendapatkan terapi antibiotik dan atau antiinflamasi. Kadar MMP-8, IL-8, NOX-1 dan IL-17 dianalisis dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (Elisa). Sebagai pembanding juga dianalisis beberapa marker biokemikal klasik SKA seperti kadar troponin, HDL dan LDL. Data dianalisis secara statistik dengan uji Anova dan Korelasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biomarker IL-8 dan IL-17 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok berdasarkan level penyakit SKA, demikian juga dengan kelompok kontrol. Sedangkan level NOX-1 dan MMP-8 meningkat secara signifikan ($p < 0,05$) pada penderita SKA, hal ini juga disertai peningkatan jumlah netrofil yang signifikan dalam darah penderita. Kesimpulan, pada penderita SKA ditandai oleh peningkatan aktivitas inflamasi yang ditunjukkan oleh peningkatan aktivitas netrofil, meningkatnya level MMP-8 dan NOX-1. Hal ini diduga dapat digunakan sebagai biomarker untuk stratifikasi resiko serangan jantung.

Kata kunci: Sindrom koroner akut; Biomarker; MMP-8; IL-8; NOX-1; IL-17

Latar Belakang

Serangan jantung merupakan penyebab kematian nomer satu pada individu di atas 40 tahun di seluruh dunia (WHO, 2007), termasuk di Indonesia. Serangan jantung dapat mengakibatkan kematian mendadak (*sudden death*). Kasus kematian mendadak tanpa didahului keluhan klinis banyak terjadi, dan hingga kini problem ini belum dapat diantisipasi, permasalahannya, belum ditemukan metode diagnostik yang memadai untuk menentukan/memprediksi resiko serangan jantung. Oleh karena itu, diperlukan upaya-upaya intensif untuk memecahkan permasalahan tersebut.

Serangan jantung adalah manifestasi dari sindrom koroner akut (SKA), biasanya disebabkan oleh trombus oklusif pada arteri koroner yang menghambat/menghentikan aliran darah menuju jantung. Pembentukan trombus terjadi bila terdapat kerusakan (*rupture*) pada kolagen selaput pelindung (*fibrous cap*) plak aterosklerotik (*atherosclerotic plaque rupture*, APR). Hasil studi histologis terhadap jaringan plak aterosklerotik yang ruptur dari penderita SKA memperlihatkan adanya proporsi inti lemak yang besar dengan *fibrous cap* yang tipis dan rapuh (Gough 2006; Lenglet dkk. 2013). Kondisi *fibrous cap* yang rapuh inilah yang menyebabkan seseorang beresiko tinggi mengalami serangan jantung walaupun tidak ada keluhan sebelumnya.

Hal yang menjadi masalah adalah, tidak mudah menentukan apakah seseorang memiliki plak yang rapuh atau tidak. Angiografi koroner (kateterisasi) yang merupakan

prasarat baku untuk mengetahui penyempitan pembuluh koroner tidak dapat menentukan kerapuhan suatu plak. Hasil angiografi koroner yang dinyatakan “normal” tidak berarti menunjukkan seseorang bebas ancaman SKA. Upaya untuk menentukan kerapuhan plak aterosklerotik terus dikembangkan, di antaranya adalah dengan termografi, *intra vascular ultrasound* (IVUS) dan *magnetic resonance imaging* (MRI) dengan resolusi tinggi. Namun demikian, pemeriksaan-pemeriksaan tersebut berbiaya tinggi dan hingga kini belum direkomendasikan sebagai upaya skrining rutin kejadian SKA.

Dekade yang lalu, muncul paradigma baru bahwa ruptur plak aterosklerotik yang memicu SKA terkait dengan respons inflamasi vaskuler (Fong, 2002). Menurut paradigma ini, terdapatnya material antigenik di dalam darah menginduksi rekrutmen dan aktivasi sel-sel inflamatori (leukosit) untuk menghasilkan bahan-bahan penghancur agen injurial seperti radikal bebas, oksidan dan enzim-enzim proteolitik terutama *matrix metalloproteinases* (MMPs). Produksi MMPs yang berlebihan dapat menyebabkan APR, sehingga menginduksi agregasi platelet dan pembentukan trombus. Apabila trombus bersifat oklusif dan terjadi pada pembuluh koroner, akan memicu SKA (Jones 2003; Newby 2008).

Hubungan leukosit (terutama netrofil) dengan SKA banyak dilaporkan. Peningkatan jumlah leukosit dalam darah berhubungan dengan SKA dan merupakan prediktor kematian yang independen karena SKA, tetapi juga dinyatakan bahwa, masih dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk menentukan apakah *WBC count* dapat digunakan sebagai target diagnostik dan terapi (Hojo 2001; Naruko 2002; Pantegiani 2004). Penelitian yang dilakukan terhadap penderita SKA di RSD dr. Soebandi Jember mendapatkan bahwa > 62,4% penderita SKA mengalami leukositosis, dan 84,2% leukositosis disebabkan oleh peningkatan jumlah netrofil (Nurhayati dan Susilawati, 2010). Sedangkan Alfakry dkk. (2012) melaporkan bahwa marker serum terkait netrofil menunjukkan peningkatan resiko dan rekurensi SKA.

Berdasarkan fakta bahwa ruptur plak aterosklerotik yang menginduksi SKA terkait dengan akumulasi dan aktivitas netrofil dalam darah, maka sangat logis untuk menggunakan netrofil sebagai target untuk mengembangkan biomarker resiko SKA. Akumulasi netrofil dalam darah diinduksi oleh khemoatraktan tertentu, Nabah dkk. (2004) melaporkan bahwa, akumulasi netrofil pada SKA berhubungan dengan meningkatnya khemoatraktan IL-8. Sedangkan aktivitas netrofil yang terkait SKA diduga berkaitan dengan ekspresi MMP-8, NOX-1 (Herman dkk. 2001; Qiang dkk. 2007; Pussinen dkk. 2013). MMP-8 disebut juga sebagai *neutrophil collagenase*, ini karena MMP-8 merupakan kolagenase utama yang dihasilkan oleh netrofil.

Penelitian ini bertujuan mengembangkan metode stratifikasi resiko serangan jantung (SKA) berdasarkan aktivitas netrofil dalam darah yaitu ekspresi MMP-8, NOX-1 dan IL-8 dalam darah vena perifer, yang bermanfaat sebagai pedoman untuk melakukan tindakan prevensi dan terapi yang tepat, sehingga insidensi kematian karena serangan jantung dapat diturunkan.

Mengingat bahwa sampai saat ini serangan jantung masih merupakan penyebab kematian utama di Indonesia, maka pengembangan metode stratifikasi resiko serangan jantung sangat dibutuhkan, agar tindakan prevensi dan terapi dapat dilakukan secara memadai, sehingga resiko serangan jantung dapat diturunkan. Menurut AAFP (2014). identifikasi/stratifikasi resiko kesehatan pasien merupakan tahapan awal yang sangat penting untuk perencanaan, pengembangan dan implementasi perawatan bagi pasien.

Metode Penelitian

Subyek penelitian adalah pasien dari beberapa rumah sakit di Jember yakni RUSD dr. Soebandi, RS DKT dan RS Bina Sehat. Semua subyek penelitian menyetujui prosedur penelitian yang ditunjukkan dengan kesediaan pasien atau keluarganya untuk menandatangani *informed consent*. Penelitian mendapat persetujuan laik etik dari Komisi

Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Subyek penelitian terdiri dari 4 (empat) kelompok, masing-masing berjumlah 15 orang sebagai berikut: 1) penderita SKA (ditunjukkan oleh adanya simptom *unstable angina* dan infark miokardial akut (STEMI dan NSTEMI), 2) penderita *stable angina* (kontrol positif) dan 3) individu sehat (kontrol negatif). Sampel darah pasien SKA diambil pada saat mereka dirawat di UGD atau ICU/CVCU, sedangkan darah penderita *stable angina* diambil pada saat mereka melakukan *chek up* atau rawat jalan, dan individu kontrol adalah sukarelawan sehat yang sedang melakukan donor darah. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah, subyek tidak sedang mendapatkan terapi antibiotik dan atau antiinflamasi. Diagnosis SKA ditentukan berdasarkan ketentuan yang berlaku di rumah sakit. Selain itu juga dilakukan pengukuran beberapa marker klasik SKA seperti kadar troponin, profil lipid, dan pemeriksaan darah lengkap.

Obyek Penelitian serum darah vena peripheral penderita sindrom koroner akut (SKA) yaitu penderita yang menunjukkan simptom *unstable angina* atau infark miokardial akut (IMA) STEMI dan NSTEMI. Sebagai kontrol positif adalah penderita *stable angina*, dan kontrol negatif adalah individu sehat. Pengambilan darah dilakukan oleh perawat profesional di masing-masing RS tempat penelitian. Preparasi sampel serum darah, sebanyak 5 cc sampel darah vena peripheral dikoleksi dan ditampung dalam tabung falcon, kemudian disentrifuse selama 5000 rpm selama 10 menit. Supernatannya merupakan serum darah selanjutnya disimpan pada suhu -20°C sampai dilakukannya uji Elisa.

Uji Elisa dilakukan menggunakan Kit Elisa. Prosedur Elisa dilakukan mengikuti ketentuan/manual masing-masing produsen. Sebelum dilakukan uji, tahap awal dilakukan preparasi sampel serum darah sebagai berikut. Serum darah diencerkan 40 kali dengan 20 mM *phosphate-buffered saline* (PBS) mengandung 5 g/L bovine plasma albumin (BSA) dan 0.1% Tween 20, pada pH 7.4. Pengukuran konsentrasi IL-8, MMP-8, dan NOX-1. Secara ringkas, antigen IL-8 dan atau MMP-8, NOX-1 dilapiskan pada fasa solid dalam mikrotiter plate semalam. setelah pencucian kemudian direaksikan dengan antibodi primer yaitu serum darah subyek penelitian (*human polyclonal antibody*) semalam. Kompleks antigen-antibodi kemudian direksikan dengan antibodi sekunder (rat anti-human IgG berlabel biotin). Setelah pencucian, direaksikan dengan enzim dan substrat kromogenik (SA-HRP dan TMB). Reaksi dihentikan dengan 2.5 M NaOH. Kadar IL-8 dan atau MMP-8 sebanding dengan terbentuknya produk kromogenik yang kemudian diukur dengan Elisa reader pada 405 nm.

Sebagai pembandingan juga dianalisis beberapa marker biokemikal klasik SKA seperti kadar tropinin, HDL dan LDL, *White Blood Cell* (WBC) Count, hitung darah netrofil. Pemeriksaan dilakukan sesuai dengan standar prosedur di Laboratorium Elisa RSD Dr Subandi Jember. Selain itu juga diidentifikasi beberapa faktor resiko meliputi kebiasaan merokok, diabetes melitus, kelainan fungsi hati. Pada pasien IMA juga diidentifikasi luas teritori infark jantung berdasarlan hasil pemeriksaan dengan Elektrokardiografi (EKG).

Data kadar IL-8, MMP-8 dan NOX-1 dianalisis secara statistik dengan Anova dan LSD. Hasil penelitian akan mendapatkan nilai kadar IL-8 dan MMP-8, IL-17a dan NOX-1 pada penderita SKA, *stable angina* dan individu normal. Selain itu dilakukan analisis korelasi antara IL-8 dan MMP-8, IL-17a dan NOX-1 dengan troponin, HDL dan LDL.

Hasil

Deskripsi dari jumlah subyek yang berpartisipasi dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1. sedangkan Tabel 2 menyajikan data rata-rata hasil pemeriksaan laboratorium pada masing-masing kelompok uji

Table 1. Deskripsi dari jumlah subyek

No	Karakter	Kontrol (n=15)	SAP (n=16)	UAP (n=20)	NSTEMI (n=15)	STEMI (n=16)
1	Usia	20,93±0,25	64,8±13,53	55,07±7,83	64,9±6,4	60,08±10,07
2	Jenis Kelamin	L =4, P=11	L=9, P=7	L=14, P=6	L=11, P=4	L=13, P=3
3	Perokok	0	6	9	7	9
4	Diabetes	0	4	7	6	4
5	Hipertensi	0	9	9	8	6
6	Antiinflamasi	0	0	0	0	0
7	Antibiotik	0	0	0	0	0
8	WBC	10,03±2,029	9,33±4,2	10,32±3,24	9,89±2,99	14,71±3,25
9	%Neutrofil	60,88±7,63	69,98±11,63	64,63±15,0 6	69,63±0,08	78,23±14,54
10	HDL		57,07±13,87	53,6±14,27	47,09±9,54	39,3±2,17
11	LDL		132,84±29,8 1	142,4±48,7	117,81±44,6 4	127,58±45
12	SGOT		52,58±73,62	31,33±15,3 9	66,84±44,1	157,185±19 3
13	SGPT		32,58±35,24	32,4±14,1	36,07±21,09	97,31±197
14	LED	14,93±7,44	13,21±4,61	23,53±18,8 4	31,92±10,91	22,88±10,39

Table 1. Frequency of Leukocytosis

Groups	Frequency leukocytosis		
	N	n	%
Control	16	0	0
Stable angina	16	2	12,50
Unstable angina	21	5	31,25
NSTEMI	15	6	40,00
STEMI	16	13	86,66

N: number of subject

n: number of subject with leukocytosis

Table 2. Serum Level of MMP-8, IL-8 and NOX-1

	Serum Level (pg/ml)				
	Control	Stable angina	Unstable angina	NSTEMI	STEMI
MMP-8	855,79	1070,77 ^a	1051,87 ^a	1034,54 ^a	1350,06 ^a
IL-8	258,47	162,64	208,735	224,82	202,42
NOX-1	19,10	22,41 ^b	20,71 ^b	23,25 ^b	24,95 ^b

^a Significantly different compared to control (P<0,05)

^b Significantly different compared to control (P<0,05)

DAFTAR PUSTAKA

- AAFP. 2014. Risk-stratified Care Management. American Academy of Family Physicians. contactcenter@aafp.org
- Abbas AK & Lichtman AH. 2003. Cellular and Molecular Immunology. 5th Ed. Saunder. Elsevier Science USA. p. 275-297.
- Alfakry H, Sinisalo J, Paju S, Nieminen MS, Valtonen V, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Sorsa T. 2012. The association of serum neutrophil markers and acute coronary syndrome. *Scand J Immunol*. 2012 Aug;76(2):181-7
- Bahorun T, Soobratte MA, Luximon-Ramma V, Aruoma OI. 2006. Free Radicals and Antioxidants in Cardiovascular Health and Disease. *Internet Journal of Medical Update*. Jul-Dec;1(2).
- Dhillon OS¹, Khan SQ, Narayan HK, Ng KH, Mohammed N, Quinn PA, Squire IB, Davies JE, Ng LL. Matrix metalloproteinase-2 predicts mortality in patients with acute coronary syndrome. *Clin Sci (Lond)*. 2009 Nov 9;118(4):249-57.
- Distelmaier K¹, Winter MP, Dragschitz F, Redwan B, Mangold A, Gleiss A, Perkmann T, Maurer G, Adlbrecht C, Lang IM. Prognostic value of culprit site neutrophils in acute coronary syndrome. *Eur J Clin Invest*. 2014;44(3):257-65.
- Dong Zhou; Zhaofei Wan; Yan Fan; Juan Zhou; Zuyi Yuan. A combination of the neutrophil to lymphocyte ratio and the GRACE risk score better predicts PCI outcomes in Chinese Han patients with acute coronary syndrome. *Anatol J Cardiol* 2015; 15(0
- Duenwald M. Body's Defender Goes on the Attack. *New York Times*. January 22, 2002
- Fong IW. (2002) Infections and Their Role in Atherosclerotic Vascular Disease. *JADA*, Vol. 133.
- Gough PJ; Gomez IG; Wille PT and Raines EW. (2006) Macrophage expression of active MMP-9 induces acute plaque disruption in apoE-deficient mice *J. Clin. Invest*. 116:59-69.
- Guasti L¹, Dentali F, Castiglioni L, Maroni L, Marino F, Squizzato A, Ageno W, Gianni M, Gaudio G, Grandi AM, Cosentino M, Venco A. Neutrophils and clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes and/or cardiac revascularisation. A systematic review on more than 34,000 subjects. *Thromb Haemost*. 2011 Oct;106(4):591-9.
- Herman MP., Sukhova GK., Libby P., Gerdes N., Tang N., Horton DB., Kilbride M, Breitbart RE., Chun M., Schönbeck U. 2001. Expression of Neutrophil Collagenase (Matrix Metalloproteinase-8) in Human Atheroma: A Novel Collagenolytic Pathway Suggested by Transcriptional Profiling. The Leducq Center for Cardiovascular Research , Cardiovascular Medicine, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Mass, and Millennium Pharmaceuticals, Inc, Cambridge, Mass. Clinical Investigation and Reports August 7, 2001
- Hojo Y, Ikeda U, Ueno S, Arakawa H, Shimada K. 2001. Expression of matrix metalloproteinases in patients with acute myocardial infarction. *Japanese Circulation Journal*. 2001, 65(2):71-75
- ICHI IKEDA,MD ., KAZUYUKI SHIMADA. Matrix Metalloproteinases and Coronary Artery Diseases. *Clin. Cardiol*. 26, 55–59 (2003).
- Jones CB, Sane DC and Herrington DM. 2003. Matrix metalloproteinases: A review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovascular Research* Volume 59 Issue 4 .2003. Pp. 812-823
- Kuľach A¹, Dąbek J, Głogowska-Ligus J, Garczorz W, Gąsior Z. Effects of standard treatment on the dynamics of matrix metalloproteinases gene expression in patients with acute coronary syndromes. *Pharmacol Rep*. 2010 Nov-Dec;62(6):1108-16.

- Lakhanpal P, Rai DK. Role of quercetin in cardiovascular diseases (2008) *Internet Journal of Medical Update* Jan-Jun;3(1):31-49
- Lenglet S., Mach F., Montecucco F. 2013. Role of Matrix Metalloproteinase-8 in Atherosclerosis. *Mediators of Inflammation*. Volume 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/659282>
- Lutgents E., Van Suylen RJ., Faber BC., Gijbels MJ., Eurling PM., Bijens AP., Cletjns KB., Heeneman S., Daeman MJ. 2003. Atherosclerotic Plaque Rupture: Local or Systemic Process? *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 23:2123.
- Masahiko Z., Yasunori O., Ryoichi N., Akihiro F., Noboru T., Isao N., Shogo K. 2003. Vascular Tissue Fragility Assessed by a New Double Stain Method. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 11(1):78-84.
- Naghavi M., Libby P., Falk E., Casscell SW., Litovsky S., Rumberger J., Badimon JJ., Stefanadis C., Moreno P., Pasterkam G., Fayad Z., Stone PH., Waxman S., Raggi P., Madjid M., Zarrabi A., Burke A., Yuan C., Fitzgerald PJ. 2003. From Vulnerable Plaque to Vulnerable Patient. *Circulation*. 108: 1772.
- Naruko T., Ueda M, Haze K., Van der Wal AC., Van der Loos CM., Itoh A., Komatsu R., Ikura Y., Ogami M., Shimada Y., Ehara S., Yoshiyama M., Takeuchi K., Yoshikawa J., Becker AE. 2002. Neutrophil Infiltration of Culprit Lesions in Acute Coronary Syndromes. *Circulation*. 2002; 106: 2894-2900
- Newby AC. 2008. Metalloproteinase Expression in Monocytes and Macrophages and its Relationship to Atherosclerotic Plaque Instability. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2008; 28: 2108-2114
- Nurhayati, Susilawati IDA. 2010. Identifikasi Faktor-faktor Resiko SKA pada Penderita di RSD Subandi Jember.
- Panteghini M. 2004. Role and Importance of Biochemical Marker in Clinical Cardiology. *European Heart Journal*. Vol.25 No.14. p. 1187-1196
- Price MJ., Shah PK. 2002. Feature: Biology of the Vulnerable Plaque: Part I. *Cath Lab Diges*. 10:4.
- Pussinen PJ., Sarna S., Puolakkainen M., Åhlén H., Sorsa T., Pesone E. 2013. The balance of serum matrix metalloproteinase-8 and its tissue inhibitor in acute coronary syndrome and its recurrence. *International Journal of Cardiology* Volume 167, Issue 2 , Pages 362-368, 31 July 2013
- Qiang H, Zhou ZX, Ma AQ, Cheng H, Zhou P. 2007. Implications of serum matrix metalloproteinase-8 elevation in patients with acute coronary syndrome. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2007 Jun;27(6):831-3
- Shah PK., Galis ZS. 2001. Matrix Metalloproteinase Hypothesis of Plaque Rupture. *Circulation*. 104 : 1878
- Soylu, Korhan; Gedikli, Ömer; Dagan, Göksel; Aydin, Ertan; Aksan, Gökhan; Nar, Gökay; Inci, Sinan; Yilmaz, Özcan; Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts coronary artery lesion complexity and mortality after non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Rev Port Cardiol*. 2015;34:465-71
- Stollberger dan Finsterer. 2002. Role of Infectious and Immune Factors in Coronary and Cerebrovascular Arteriosclerosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. Vol. 9. No. 2. p. 207-215.
- Takahiko Naruko, MD; Makiko Ueda, MD; Kazuo Haze, MD; Allard C. van der Wal, MD; Chris M. van der Loos, PhD; Akira Itoh, MD; Ryushi Komatsu, MD; Yoshihiro Ikura, MD; Masayuki Ogami, MD; Yoshihisa Shimada, MD; Shoichi Ehara, MD; Minoru Yoshiyama, MD; Kazuhide Takeuchi, MD; Junichi Yoshikawa, MD; Anton E. Becker, MD. Neutrophil Infiltration of Culprit Lesions in Acute Coronary Syndromes. *Circulation*. 2002; 106: 2894-2900

- Tjokroprawiro. 2002. "The Villian" and "The Hero" pathway in atherogenesis. *Basic Course: Lipid, Calcium Metabolism, and Bone Disease*. Brawijaya University, Malang 22-24 April.
- Vojdani A. 2000. The Role of Periodontal Disease and other Infections in the Patogenesis of Atherosclerosis and Systemic Diseases. *Immuno-sciences Lab*, Inc. Beverly Hills, Ca 90211.
- Volume 2013 (2013), Article ID 659282
- WHO. 2007. Cardiovascular Disease: Pocket Guidelines for Assessment and Management of Cardiovascular Risk. Geneva 2007