

## ЗНАЧАЈ ОДРЕЂИВАЊА АКТИВНОСТИ МИЈЕЛОПЕРОКСИДАЗЕ У АКУТНОМ КОРОНАРНОМ СИНДРОМУ

Драгојевић И., Мирић Д., Божовић Б., Драгојевић М.

Институт за Биохемију, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

## THE IMPORTANCE OF MEASUREMENT OF MYELOPEROXIDASE ACTIVITY IN ACUTE CORONARY SYNDROME

Драгојевић И., Мирић Д., Божовић Б., Драгојевић М.

Institute of Biochemistry, Medical faculty, Pristina, Kosovska Mitrovica

### SUMMARY

In the last ten years significant progress has been made in understanding of role of neutrophil granulocytes and their enzyme myeloperoxidase in the evolution and complications of atherosclerosis. Myeloperoxidase plays the role in the development of vulnerable plaque associated with the development of acute coronary syndrome. There is much evidence that suggests the role of myeloperoxidase in the development of vulnerable plaque. We investigate the value of myeloperoxidase as marker of the presence of vulnerable plaques in patients with acute coronary syndrome. Myeloperoxidase activity was significantly high in serum of the patients with the diagnosis of acute coronary syndrome as reflection of the presence of vulnerable plaques. Increase in myeloperoxidase activity in serum of patients with the diagnosis of acute coronary syndrome precedes to myocardial damage.

**Key words:** myeloperoxidase; vulnerable plaque; acute coronary syndrome

### САЖЕТАК

У последњих десет година остварен је битан напредак у разумевању улоге неутрофилних гранулоцита и њиховог ензима, мијелопероксидазе, у развоју и компликацијама атеросклерозе. Од посебног је значаја за развој акутног коронарног синдрома њена способност да доприноси развоју вулнерабилног плака. *In vitro* и *in vivo* су потврђени бројни механизми развоја вулнерабилног плака. Циљ нашег истраживања је био да испитамо да ли је мијелопероксидаза маркер присуства вулнерабилних плакова код пацијената са акутним коронарним синдромом. Активност мијелопероксидазе је повишена у серуму пацијената са акутним коронарним синдромом, као одраз присуства вулнерабилних атеросклеротичних плакова. Пораст активности мијелопероксидазе у серуму пацијената са акутним коронарним синдромом претходи миокардном оштећењу.

**Кључне речи:** мијелопероксидаза; вулнерабилни плак; акутни коронарни синдром

### УВОД

Руптура и/или ерозија атеросклеротичног плака са следственом тромбозом је најчешћа патофизиолошка основа за развој акутног коронарног синдрома (1). Анализе руптурираних плакова искоришћене су да би се одредиле карактеристике које могу указати на тренутно стабилне плакове, чије их структуре и ћелијски садржај чине подложним тромбози у будућности (вулнерабилни плакови) (2).

У последњих десет година остварен је битан напредак у разумевању улоге неутрофилних гранулоцита и њиховог ензима, мијелопероксидазе, у развоју и компликацијама атеросклерозе. Откривено је да мијелопероксидаза: преводи LDL (енгл. low density lipoproteins) у атерогену форму, селективно модификује аполипопротеин А-I и ствара дисфункционални HDL (енгл. high density lipoproteins), изазива ендотелну дисфункцију смањењем биолошке расположивости NO (азот-моноксид), доприноси развоју вулнерабилног плака и абнормалном вентрикуларном ремоделовању након инфаркта миокарда. Од посебног је значаја за развој акутног коронар-

ног синдрома њена способност да доприноси развоју вулнерабилног плака. *In vitro* и *in vivo* су потврђени бројни механизми развоја вулнерабилног плака. Прво, *in vitro* је утврђено да мијелопероксидаза активира неколико матриксних металопроотеиназа, чиме покреће протеолизну каскаду доводећи до руптуре фиброзне капе. Друго, доприноси апоптози ендотелних ћелија, што представља механизам развоја суперфицијалних ерозија на којима настаје интракоронарни тромб. Треће, преко смањења биолошке расположивости NO мења нормалну антитромботску активност ендотелне површине у протромбогену, кроз експресију различитих протромботичних и антифибринолитичких фактора. Четврто, подстиче експресију ткивног фактора коагулације на ендотелним ћелијама (3).

### ЦИЉ РАДА

Циљ нашег истраживања је био да испитамо да ли је мијелопероксидаза маркер присуства вулнерабилних плакова код пацијената са акутним коронарним синдромом.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

Истраживање је обухватило 48 пацијената са дијагнозом акутног коронарног синдрома (АКС), 13 пацијената са дијагнозом стабилне ангине пекторис (САП) и 21-ог здравог добровољног даваоца крви (ДДК). Две задње наведене групе су служиле као контролне групе. Дијагноза је постављена према важећим препорукама. Референтна је дијагноза на отпугу (4,5). У групи пацијената са акутним коронарним синдромом било је 20 пацијената са нестабилном ангином пекторис (НАП), 15 са инфарктом миокарда без елевације ST-сегмента (НСТЕМИ, енгл. non ST-elevation myocardial infarction) и 13 са инфарктом миокарда са елевацијом ST-сегмента (СТЕМИ, енгл. ST-elevation myocardial infarction). Сви пацијенти су хоспитализовани на Интерном одељењу Здравственог центра Косовска Митровица, сем добровољних давалаца крви којима су узорци крви узети у Заводу за трансфузију крви Косовска Митровица.

Свим пацијентима су на пријему венепункцијом узети узорци крви. Из узорака крви, центрифуговањем на 3000 обртаја у трајању од 15 минута, издвајан је серум. У серуму пацијената са акутним коронарним синдромом одређиване су концентрација срчаног тропонина Т (сТпТ) и активност мијелопероксидазе (МПО). У серуму друге две групе одређивана је активност мијелопероксидазе. Концентрација сТпТ у серуму је одређивана методом електрохемилуминесцентног имуноодређивања имуноанализатором Roche Elecsys 2010 у Централној лабораторији Здравственог центра Косовска Митровица. Каталитичка активност МПО у узорцима одређивана је у систему 4-аминоантипириин / фенол Триндером кинетичком реакцијом (6) у присуству натријум азида у финалној концентрацији 1.2 mM/L за блокирање пероксидазне реакције каталазе. Као супстрат коришћен је 1.7 mM/L раствор водоник пероксида. Активност МПО изражавана је у U/L на основу моларног апсорпционог коефицијента хинонимина од  $1.3 \times 10^4 \text{ L} \times \text{M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ . Клиничке карактеристике које су испитиване су старост и пол.

У статистичкој обради података коришћени су параметријски и непараметријски тестови и корелациона анализа.

## РЕЗУЛТАТИ

Анализом заступљености мушког пола није утврђена статистички значајна разлика ( $p > 0.05$ ) између испитиваних група и подгрупа. Старост испитаних група са стабилном ангином пекторис, акутним коронарним синдромом и њених подгрупа је била статистички значајно ( $p < 0.05$ ) већа у односу на групу добровољних давалаца крви (табела 1).

Анализом података је утврђено да је активност мијелопероксидазе у серуму групе са акутним коронарним синдромом и њеним подгрупама статистички значајно ( $p < 0.05$ ) виша у односу на групе са стабилном ангином пекторис и добровољне даваоце крви. Поређењем активности мијелопероксидазе између групе пацијената са стабилном ангином пекторис и добровољних давалаца крви није утврђена статистички значајна раз-

Табела 1. Клиничке карактеристике испитиваних група и подгрупа.

Испитивани параметар	Број чланова групе	Старост (г.) x-бар±СД	Пол (М) Бр. (%)
- ДДК	21	37±11	11(52.4%)
- САП	13	63±11	7 (53.8%)
- АКС	48	65±10	25 (52%)
- НАП	20	62±10	10 (50%)
- НСТЕМИ	15	67±9	7 (47%)
- СТЕМИ	13	66±10	8 (61%)

лика ( $p > 0.05$ ). Не постоји статистички значајна разлика ( $p > 0.05$ ) у активности мијелопероксидазе између подгрупа пацијената са акутним коронарним синдромом (табела 2).

Табела 2. Активност мијелопероксидазе у серуму испитиваних група и подгрупа.

Испитивани параметар	Број чланова групе	МПО (U/L)
- АКС	48	109.25 (78.46-133.06) А,Б
- НАП	20	113.5 (65.4-156.2) А,Б
- НСТЕМИ	15	104 (63.48-192.04) А,Б
- СТЕМИ	13	112.1 (69.58-148.3) А,Б
- САП	13	28.5 (11.74-54.27)
- ДДК	21	24.3 (11.75-38.43)*

\* - Резултати су приказани као медиана (95% CI медиане)  
А-  $p < 0.05$  у односу на САП, Б-  $p < 0.05$  у односу на ДДК

Анализом података није утврђена статистички значајна разлика ( $p > 0.05$ ) у активности мијелопероксидазе између пацијената групе са акутним коронарним синдромом са и без повишених вредности срчаног тропонина Т (табела 3).

Табела 3. Поређење активности мијелопероксидазе између тропонин позитивних и негативних пацијената са акутним коронарним синдромом.

Испитивани параметар	Број чланова групе	МПО (U/L)
- сТпТ<0.03	20	113.5 (65.4-156.2) *
- сТпТ>0.03	28	105.2 (76.63-137.27)

\* - Активност мијелопероксидазе је представљена као медиана (95% CI медиане)

Не постоји статистички значајна корелација између концентрације тропонина Т и активности мијелопероксидазе у серуму пацијената са акутним коронарним синдромом,  $\rho = 0.057$  (95% CI, -0.231 – 0.336),  $p = 0.6965$ ,  $p > 0.05$ .

## ДИСКУСИЈА

Мијелопероксидаза, ензим азурофилних гранула неутрофилних гранулоцита, има јединствену спо-

собност да појачава оксидациони потенцијал водоник-пероксида, стварањем моћних оксиданата, каква је хипохлорна киселина. Налази се у неутрофилним гранулоцитима, и мањим делом у моноцитима и ткивним макрофагима. Откривено је да преко хипохлорне киселине активира латентне облике матриксних металопротеиназа (ММП) 7,8 и 9. Промена активности ММП-7 би могла представљати важан механизам контроле деградације структурних протеина матрикса, и могућег настанка руптуре атеросклеротичног плака (7,8). Количина мијелопероксидазе у макрофагима корелира са стадијумом развоја атеросклеротичног плака. Макрофаги, који садрже мијелопероксидазу у већим количинама присутни су у вулнерабилним плаковима (9). Мијелопероксидаза, генерисањем хипохлорне киселине, изазива смрт и одвајање ендотелних ћелија активацијом апоптозе, што доводи до десквамације епитела и стварања суперфицијалних ерозија на интими артерија које представљају супстрат за настанак тромбозе на месту фибромускуларних плакова (10).

Код пацијената са нестабилном ангином пекторис леукоцити бивају активирани при проласку кроз коронарну циркулацију, при чему ослобађају ензим мијелопероксидазу (11). То је потврђено у нашем истраживању детекцијом повишене активности мијелопероксидазе у серуму пацијената са акутним коронарним синдромом. Активација неутрофила при проласку кроз коронарну циркулацију је маркер распрострањеног инфламаторног процеса у коронарним крвним судовима. Под појмом распрострањености подразумева се захваћеност више од једне главне коронарне артерије. Са друге стране, код пацијената са стабилном ангином пекторис не долази до значајне активације неутрофила (11), што потврђују резултати нашег истраживања.

У нашем истраживању је утврђено да не постоји значајна разлика у активности мијелопероксидазе у серуму између подгрупа пацијената са акутним коронарним синдромом. Даље, није утврђена статистички значајна разлика у активности мијелопероксидазе између пацијената са акутним коронарним синдромом са и без повишене концентрације срчаних тропонина у серуму. Исто тако, није утврђена значајна корелација активности мијелопероксидазе и концентрације срчаног тропонина Т у серуму. Ови резултати указују да пораст активности мијелопероксидазе у серуму није временски повезан са миокардним оштећењем, и да ослобађање мијелопероксидазе у циркулацији претходи миокардном оштећењу. Пораст активности мијелопероксидазе идентификује пацијенте код којих је формиран нестабилан атеросклеротичан плак, чак и пре комплетне микроваскуларне опструкције (12).

## ЗАКЉУЧЦИ

Активност мијелопероксидазе је повишена у серуму пацијената са акутним коронарним синдромом, као одраз присуства вулнерабилних атеросклеротичних плакова. Пораст активности мијелопероксидазе у серуму пацијената са акутним коронарним синдромом претходи миокардном оштећењу.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ross R. Atherosclerosis- an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-126.
2. Davies M. Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture 1995. *Circulation* 1996; 94: 2013-2020.
3. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1102-1111.
4. Hamm CW, Braunwald E. A classification of unstable angina revisited. *Circulation* 2000; 102: 118-122.
5. The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial infarction redefined - a consensus document of the Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2000; 21: 1502-13.
6. Metcalf JA, Gallin JI, Nauseef WM, Root RK. Myeloperoxidase functional assays. In: *Laboratory manual of neutrophil function*. Raven Press, New York 1986.
7. Fu X, Kassim SY, Parks WC, Heinecke JW. Hypochlorous acid oxygenates the cysteine switch domain of pro-matrilysin (MMP-7). *J Biol Chem* 2001; 276: 41279-41287.
8. Peppin GJ, Weiss SJ. Activation of the endogenous metalloproteinase, gelatinase, by triggered human neutrophils. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4322-4326.
9. Sugiyama S, Okada Y, Sukhova GK, Virmani R, Heinecke JW, Libby P. Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes. *Am J Pathol*. 2001; 158: 879-891.
10. Sugiyama S, Kugiyama K, Aikawa M, Nakamura S, Ogawa H, Libby P. Hypochlorous acid, a macrophage product, induces endothelial apoptosis and tissue factor expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1309-1314.
11. Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G et al. Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med* 2002; 347: 5-12.
12. Baldus S, Heeschen C, Meinertz T et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 108: 1440-1445.