

ISPITIVANJE AKTIVNOSTI MIJELOPEROKSIDAZE, KAO POKAZATELJA INFLAMACIJE, KOD GOJAZNIH I ISPITANIKA SA METABOLIČKIM SINDROMOM

AUTORI

Matić Tamara¹, Puhalo Sladoje Dragana², Kisić Bojana¹, Trajković Goran³, Dragojević Ilija¹, Mirić Dijana¹

¹ Institut za Biohemiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Prištini, Kosovska Mitrovica, Srbija

² Medicinski fakultet Foča, Univerzitet Istočno Sarajevo, Foča, Republika Srpska.

³ Institut za medicinsku statistiku i informatiku, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija.

KORESPONDENT

TAMARA MATIĆ

Medicinski fakultet Priština,
Univerzitet u Prištini

✉ tamaramatic87@yahoo.com

SAŽETAK

Gojaznost humanog organizma je složen metabolički poremećaj koji predstavlja jedan od najčešćih savremenih zdravstvenih problema. Brojna istraživanja ukazuju na udruženost hronične inflamacije niskog stepena i gojaznosti. Mijeloperoksidaza (MPO) i njeni reaktivni oksidanti učestvuju u oštećenju tkiva tokom inflamatornih procesa u humanom organizmu. Cilj istraživanja bilo je ispitivanje aktivnosti enzima mijeloperoksidaze u serumu gojaznih i ispitanika sa metaboličkim sindromom i testiranje povezanosti aktivnosti MPO i drugih pokazatelja zapaljenja u krvi ispitanika. Ispitanici su na osnovu antropometrijskih parametara i biohemijskih pokazatelja podeljeni u tri grupe: normalno uhranjeni (n=30), ispitanici sa abdominalnom gojaznošću (n=30) i ispitanici sa metaboličkim sindromom (n=30). U serumu ispitanika određivana je hlorinišuća aktivnost MPO spektrofotometrijski. Tokom ispitivanja utvrđene su značajne razlike u aktivnosti MPO kod sve tri grupe ispitanika i to najveća aktivnost izmerena je kod ispitanika sa metaboličkim sindromom ($p < 0.001$). Utvrđena je pozitivna korelacija između aktivnosti MPO i aterogenog indeksa, kao i između MPO i koncentracije LDL-holesterola, dok je negativna povezanost utvrđena između MPO i koncentracije HDL-holesterola. Ispitivanje je pokazalo da aktivnost MPO progresivno raste sa gojaznošću i metaboličkim sindromom. Dobijeni rezultati ukazuju da MPO može biti od značaja u patofiziološkim mehanizmima koji dovode do razvoja komplikacija kod gojaznosti i metaboličkog sindroma.

Ključne reči: mijeloperoksidaza, metabolički sindrom, inflamacija, gojaznost, dislipidemija.

UVOD

Gojaznost je složen metabolički poremećaj koji predstavlja jedan od najčešćih savremenih zdravstvenih problema. Prema definiciji Svetske zdravstvene organizacije gojaznost karakteriše indeks telesne mase (engl. Body Mass Index, BMI) preko 30 kg/m² [1]. Gojaznost je povezana sa razvojem najčešćih savremenih humanih bolesti, kao što su koronarna srčana bolest, hipertenzija, diabetes mellitus tip 2 i dr. Brojna istraživanja ukazuju na udruženost perzistentne hronične inflamacije niskog stepena i gojaznosti [2]. Masno tkivo funkcioniše i kao endokrini organ, zbog sposobnosti adipocita da proizvode brojne biološki aktivne supstance - adipocitokine. Povećanje broja adipocita u organizmu gojaznih osoba dovodi do veće produkcije adipokina i pogoduje razvoju metaboličkog sindroma [3]. Metabolički sindrom karakteriše prisustvo više povezanih metaboličkih poremećaja u humanom organizmu, poremećaj regulacije metabolizma lipida (dislipidemija), hiperglikemija, neosetljivost na insulin, povećan krvni pritisak i abdominalna (centralna) gojaznost. Pomenuti metabolički poremećaji, kao i kod gojaznosti,

predstavljaju značajne faktore rizika za pojavu brojnih komplikacija. Mijeloperoksidaza (MPO; E.C. 1.11.1.7.) jedan je od najzastupljenijih proteina u humanim neutrofilnim leukocitima i manje zastupljen u monocitima i tkivnim makrofagima [4]. Mijeloperoksidaza koja se nalazi u azurofilnim granulama neutrofila u toku aktivacije prelazi u fagocitne vakuole i ekstracelularni prostor. Funkcija MPO je da katalizuje dvoelektronsku oksidaciju hlornih jona u prisustvu vodonik-peroksida. MPO i H₂O₂ formiraju enzim - supstrat kompleks, koji je sposoban da oksiduje halogene (hloride, jodide), pri čemu nastaju reaktivni, toksični produkti. Pri ovome, najznačajniji produkt je hipohlorna kiselina (HOCl), zbog veoma prisutnog hlornog jona (Cl⁻) u biološkim sistemima [5]. U in vivo uslovima, izvori vodonik-peroksida, koji je supstrat za MPO, su brojni, npr. leukocitarna NADPH oksidaza, ksantin oksidaza, azot oksid sintaza i dr. [6]. MPO generiše brojne reaktivne oksidante koji su sposobni da iniciraju proces peroksidacije lipida i promovišu post-translacione modifikacije proteina, uključujući halogenaciju, nitrovanje i druge oksidativne promene, što utiče na ćelijske funkcije i doprinosi oštećenju tkiva [7]. Mnoge studije su pokazale da MPO i njeni reaktivni oksi-

danti učestvuju u oštećenju tkiva tokom brojnih inflamatornih stanja, naročito kardiovaskularnih bolesti [4,8].

CILJ RADA

Cilj istraživanja bilo je ispitivanje aktivnosti enzima mijeloperoksidaze (kao ranog markera inflamacije) u serumu gojaznih i ispitanika sa metaboličkim sindromom, ispitivanje povezanosti između aktivnosti MPO i drugih pokazatelja zapaljenja u krvi ispitanika.

MATERIJAL I METODE

Istraživanjem je obuhvaćena studentska populacija I i II godine Medicinskog fakulteta u Foči. U istraživanje su uključeni ispitanici stariji od osamnaest godina, koji su nakon upoznavanja sa ciljevima istraživanja dobrovoljno pristali na ispitivanja. Studija je odobrena od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta. Uzorak je dobio po tipu kvota uzorka od tri stratum studentske populacije I i II godine Medicinskog fakulteta: normalno uhranjeni ispitanici, ispitanici sa abdominalnom gojaznošću i ispitanici sa metaboličkim sindromom. Iz svakog navedenog stratum odabrano je po 30 ispitanika.

Kriterijumi za odabir ispitanika bili su: da su stariji od 18 godina; da nemaju dijagnostikovano oboljenje kardiovaskularnog sistema, jetre, bubrega, CNS-a, endokrinološki i/ili metabolički poremećaj; da nisu pod medikamentoznom terapijom koja bi mogla uticati na nivo lipida i glikoregulaciju i da koncentracija izmerenog visoko senzitivnog C-reaktivnog proteina (hsCRP) nije veća od 10 mg/l. Svim ispitanicima izmereni su antropometrijski pokazatelji: telesna težina (kg), telesna visina (cm), obim struka (cm), obima kukova (cm), kao i sistolni i dijastolni krvni pritisci (mmHg). Na osnovu dobijenih rezultata izračunat je indeks telesne mase (engl. Body Mass Index, BMI), kao i odnos obima struka (cm) i kukova (cm) (OS/OK). Indeks telesne mase izračunavan je kao količnik između telesne mase izražene u kg i kvadrata telesne visine izražene u m². Svakom učesniku u ispitivanju uzeta je venska krv, perifernom venepunkcijom na tašte (najmanje posle 12-14 sati noćnog gladovanja), za laboratorijska ispitivanja u okviru kojih su određivani: broj eritrocita, leukocita, trombocita, sedimentacija eritrocita (SE), koncentracije fibrinogena (g/L) i visoko senzitivnog C-reaktivnog proteina (hsCRP) (mg/L), procenat zastupljenosti glikozilisanog hemoglobina (HbA1c) (%), koncentracija ukupnog holesterola (mmol/L), triacilglicerola (mmol/L), HDL-holesterola (mmol/L), LDL-holesterola (mmol/L), VLDL-holesterola (mmol/L), glukoze (mmol/L), uree (mmol/L), kreatinina (μmol/L) i mokraćne kiseline (μmol/L) i ispitivana aktivnost enzima mijeloperoksidaze (MPO) (kU/L). Metode korišćene za laboratorijska ispitivanja: sedimentacija eritrocita (SE) određivana je metodom po Westergreen-u, broj eritrocita, leukocita i trombocita, koncentracija hemoglobina i hematokrit određivani su pomoću automatskog brojača krvnih ćelija marke Sysmex K 21, koncentracija ukupnog holesterola, triacilglicerola, holesterola u lipoproteinima (HDL, VLDL), glukoze, uree, kreatinina, mokraćne kiseline, procenat glikozilisanog hemoglobina (HbA1c) i koncentracija hsCRP utvrđene su automatskim spektrofotometrijskim metodom, na biohemijskom analizatoru marke Architect 4000c, firme Abbott, komercionalnim test reagensima. Količina LDL-holesterola određivana je pomoću Friede-

wald-ove formule (9). Hlorinišuća aktivnost mijeloperoksidaze određivana je spektrofotometrijski u sistemu koji sadrži vodonik peroksid, taurin i TNB (2-nitro-5-tiobenzo-eva kiselina) pri pH 7.4 i na T 25°C (10). Kao rezultat aktivnosti MPO nastaje hipohlorna kiselina, koja reaguje sa taurinom, pri čemu nastaje taurin hloramin koji oksiduje TNB u DTNB (5,5-ditio-bis-2-nitrobenzo-eva kiselina), što se detektuje merenjem apsorbance na 412 nm. Jedna jedinica MPO definisana je kao količina enzima koja katalizuje produkciju HOCl u onoj meri koja je dovoljna da dovede do stvaranja 1 nm taurin hloramina pri pH 7.4 na 25°C, u toku 30 min u prisustvu 100 nmol hlorida i 100 μmol H₂O₂. Hlorinišuća aktivnost MPO izražava se kao kU/L. Na osnovu izmerenih antropometrijskih parametara i biohemijskih pokazatelja, a u skladu sa kriterijumima International Diabetes Federation (IDF) (11) ispitanici su podeljeni u 3 grupe. Prvu grupu činili su normalno uhranjeni ispitanici i imali su BMI između 18.5 - 24.9 kg/m², obim struka < 94 cm kod osoba muškog pola, odnosno < 80 cm kod ženskih osoba. Kod ispitanika ove grupe izmerena koncentracija triacilglicerola bila je do 1.70 mmol/L, HDL holesterola iznad 1.03 mmol/L kod muškaraca, odnosno iznad 1.29 mmol/L kod žena, koncentracija glukoze ispod 5.6 mmol/L, sistolna tenzija niža od 130 mmHg i dijastolna niža od 85 mmHg. Drugu grupu sačinjavali su ispitanici sa abdominalnom gojaznošću kod kojih je izmeren obim struka iznad 94 cm kod osoba muškog pola, odnosno iznad 80 cm kod ženskih osoba. U krvi ispitanika ove grupe izmerena koncentracija triacilglicerola bila je do 1.70 mmol/L, HDL holesterola iznad 1.03 mmol/L kod muškaraca, odnosno iznad 1.29 mmol/L kod žena, koncentracija glukoze ispod 5.6 mmol/L, sistolni pritisak niži od 130 mmHg i dijastolni niži od 85 mmHg. Treću grupu činili su ispitanici sa metaboličkim sindromom kod kojih je izmeren obim struka veći od 94 cm kod osoba muškog pola, odnosno veći od 80 cm kod ženskih osoba. Tačnije, ispitanici ove grupe, imali su abdominalnu gojaznost i dva ili više parametra koji obuhvataju nivo triacilglicerola iznad 1.70 mmol/L, nivo HDL holesterola niži od 1.03 mmol/L kod muškaraca, odnosno ispod 1.29 mmol/L kod žena, koncentraciju glukoze iznad 5.6 mmol/L, sistolnu tenziju višu od 130 mmHg i/ili dijastolni pritisak viši od 85 mmHg.

Statističke metode obrade dobijenih podataka

Rezultati su prikazani kao učestalost (n), aritmetička sredina i pripadajuća standardna devijacija (SD) ili medijana i pripadajući 95% interval poverenja. Razlike između grupa su testirane hi-kvadrat testom, Fisher-ovim testom tačne verovatnoće, jednosmernom analizom varijanse ANOVA sa post-hoc Tukey-evim testom, kao i Mann-Whitney testom. Povezanost numeričkih podataka analizirana je primenom Pearsonovog i Spearmanovog koeficijenta korelacije. Statistički značajnim nalazom se smatrao nalaz od p < 0.05.

REZULTATI

Uzorak u istraživanju činilo je 90 ispitanika, tridesetoro normalno uhranjenih, tridesetoro sa abdominalnim tipom gojaznosti i 30 ispitanika sa metaboličkim sindromom, uzrasta od 18 do 21 godine. U grupama normalno uhranjenih i gojaznih veći je procenat ispitanika ženskog pola, dok je u uzorku sa metaboličkim sindromom podjednaka učestalost ispitanika ženskog i muškog pola (Tabela 1). Ispitivanjem nije utvrđena značajna razlika između normalno uhranjenih, gojaznih i

Tabela 1. Sociodemografske karakteristike ispitanika

	Normalno uhranjeni (NU)	Gojazni (G)	Metabolički sindrom (MS)	p*		
				NU-G	NU-MS	G-MS
n	30	30	30			
Pol, n (%)				0.021	<0.001	0.295
Muški	10 (33)	2 (7)	15 (50)			
Ženski	20 (67)	28 (93)	15 (50)			
Pušenje cigareta, n (%)	2 (7)	6 (20)	2 (7)	0.254	0.254	1.000
Fizička aktivnost, n (%)	18 (60)	10 (33)	13 (43)	0.069	0.596	0.301
Telesna visina (cm)	1.7 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.8 ± 0.1	0.753	0.762	0.334
Telesna težina (kg)	64.8 ± 9.9	74.7 ± 17.1	83.1 ± 16	0.029	<0.001	0.072
BMI (kg/m ²)	21.4 ± 2.0	25.2 ± 5.9	26.7 ± 3.6	0.002	<0.001	0.363
Obim struka (cm)	72.2 ± 5.7	88.8 ± 9.7	93.4 ± 7.9	<0.001	<0.001	0.065
Obim kukova (cm)	93.6 ± 18.2	106.4 ± 12	106.9 ± 7.1	0.001	0.001	0.988
OS/OK	0.7 ± 0.05	0.8 ± 0.04	0.9 ± 0.05	<0.001	<0.001	0.003
TA-SIST (mmHg)	111.2 ± 10.0	109.7 ± 10.6	121 ± 11.8	0.854	0.002	<0.001
TA-DIAS (mmHg)	74.3 ± 9.1	72.5 ± 8	80.8 ± 9.1	0.696	0.014	<0.001

Vrednosti su izražene kao aritmetička sredina ± standardna devijacija (a.s. ± s.d.)

* - p vrednost se odnosi na statističku značajnost razlike između: normalno uhranjenih i gojaznih ispitanika (NU-G), normalno uhranjenih i ispitanika sa metaboličkim sindromom (NU-MS), gojaznih i ispitanika sa metaboličkim sindromom (G-MS)

Tabela 2. Biohemijske i hematološke karakteristike ispitanika

	Normalno uhranjeni	Gojazni	Metabolički sindrom	p*		
				NU-G	NU-MS	G-MS
Glukoza (mmol/L)	4.3 ± 0.5	4.3 ± 0.5	4.3 ± 0.5	0.915	0.915	1.000
HbA1c (%)	5.4 ± 0.3	5.6 ± 0.2	5.6 ± 0.3	0.001	0.003	0.918
Ukupni holesterol (mmol/L)	4.3 ± 0.6	4.6 ± 0.8	5.2 ± 1.1	0.371	0.001	0.041
Triacilglicerol (mmol/L)	0.8 ± 0.2	1 ± 0.3	2 ± 1.2	0.552	<0.001	<0.001
HDL-h (mmol/L)	1.5 ± 0.2	1.4 ± 0.3	1.1 ± 0.2	0.811	<0.001	<0.001
LDL-h (mmol/L)	2.7 ± 0.5	3 ± 0.7	3.7 ± 1	0.341	<0.001	0.003
VLDL holesterol (mmol/L)	0.2 ± 0.05	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.519	<0.001	<0.001
Aterogeni indeks	1.9 ± 0.3	2.3 ± 0.7	3.8 ± 1.1	0.228	<0.001	<0.001
Eritrociti (x 10 ¹² /L)	4.9 ± 0.4	4.8 ± 0.3	5 ± 0.5	0.565	0.629	0.133
Hemoglobin (g/L)	137.2 ± 15.3	134.7 ± 8.8	143.5 ± 13.5	0.731	0.144	0.025
Leukociti (x 10 ⁹ /L)	5.7 ± 1.4	6.0 ± 1.6	6.7 ± 2.3	0.879	0.128	0.307
Hematokrit (%)	0.4 ± 0.04	0.4 ± 0.02	0.4 ± 0.04	0.986	0.102	0.072
Trombociti (x 10 ⁹ /L)	235.4 ± 50.8	243.7 ± 48.3	251.0 ± 52.3	0.799	0.458	0.843
Urea (mmol/L)	4.5 ± 1.2	3.9 ± 1.1	4.0 ± 0.8	0.063	0.176	0.877
Kreatinin (μmol/L)	79.7 ± 12.1	74.4 ± 7.7	78.6 ± 11.2	0.126	0.918	0.262
Mokraćna kiselina (μmol/L)	238.4 ± 72.7	239.4 ± 83.3	347.6 ± 79.4	0.999	<0.001	<0.001

Vrednosti su izražene kao aritmetička sredina ± standardna devijacija (a.s. ± s.d.)

* - p vrednost se odnosi na statističku značajnost razlike između: normalno uhranjenih i gojaznih ispitanika (NU-G), normalno uhranjenih i ispitanika sa metaboličkim sindromom (NU-MS), gojaznih i ispitanika sa metaboličkim sindromom (G-MS)

ispitanika sa metaboličkim sindromom prema telesnoj visini, učestalosti konzumiranja cigareta i zastupljenosti fizičke aktivnosti (Tabela 1). Utvrđeno je da su telesna težina (kg), indeks telesne mase (BMI), obim struka (cm) i obim kukova (cm) značajno manji u grupi normalno uhranjenih u odnosu na gojazne i ispitanike sa metaboličkim sindromom (p<0.001), dok između gojaznih i ispitanika sa metaboličkim sindromom nema značajne razlike za pomenute parametre (Tabela 1). Analiziranjem odnosa obima struka i kukova (OS/OK) utvrđena je značajna razlika između svih grupa i to najveća vrednost OS/OK izmerena je kod ispitanika sa metaboličkim sindromom, a najmanja u grupi normalno uhranjenih (p<0.001) (Tabela 1). Izmerene vrednosti sistolne i dijasolne tenzije značajno su više kod ispitanika sa metaboličkim sindromom u odnosu na normalno uhranjene i gojazne ispitanike (p<0.001), dok između normalno uhranjenih i gojaznih ne postoji značajna razlika (Tabela 1).

Izmerene su značajno više koncentracije ukupnog holesterola (mmol/L), LDL-holesterola (mmol/L), VLDL-holesterola (mmol/L) i triacilglicerola (mmol/L), kao i vrednosti aterogenog indeksa u serumu ispitanika sa metaboličkim sindromom u odnosu na normalno uhranjene i gojazne ispitanike (p<0.001) (Tabela 2). Ispitivanjem izmerenih koncentracija HDL-holesterola u serumu utvrđena je značajno manja koncentracija kod ispitanika sa metaboličkim sindromom u odnosu na normalno uhranjene i gojazne (p<0.001), dok između normalno uhranjenih i gojaznih ispitanika nije utvrđena značajna razlika (Tabela 2). Procenat zastupljenosti glikozilisanog hemoglobina (HbA1c) značajno je manji u krvi normalno uhranjenih ispitanika u odnosu na gojazne i ispitanike sa metaboličkim sindromom (p<0.001), dok između gojaznih i ispitanika sa metaboličkim sindromom ne postoji značajna razlika u zastupljenosti HbA1c (Tabela 2). Analizom izmerenih koncentracija glukoze (mmol/L), uree

(mmol/L), kreatinina ($\mu\text{mol/L}$) u serumu ispitanika, kao i broja eritrocita ($\times 10^{12}/\text{L}$), leukocita ($\times 10^9/\text{L}$), trombocita ($\times 10^9/\text{L}$) i procenta hematokrita nije utvrđena značajna razlika između ispitivanih grupa (Tabela 2).

Utvrđeno je da su vrednosti sedimentacije eritrocita (mm/h) značajno niže ($p < 0.001$) kod normalno uhranjenih ispitanika u odnosu na gojazne i ispitanike sa metaboličkim sindromom, dok između gojaznih i ispitanika sa metaboličkim sindromom nije prisutna značajna razlika (Tabela 3). Izmerene koncentracije fibrinogena (g/L) u plazmi ne pokazuju značajnu razliku između ispitivanih grupa (Tabela 3). U serumu ispitanika sa metaboličkim sindromom izmerene su značajno više ($p < 0.001$) koncentracije mokraćne kiseline ($\mu\text{mol/L}$) u odnosu na koncentracije u serumu normalno uhranjenih i gojaznih ispitanika, dok između normalno uhranjenih i gojaznih nije utvrđena značajna razlika u koncentraciji acidum uricum-a (Tabela 3). Analiziranjem izmerenih aktivnosti enzima mijeloperoksidaze (kU/L) i koncentracije visoko senzitivnog C-reaktivnog proteina (hsCRP) u krvi ispitanika utvrđeno je postojanje značajne razlike između sve tri grupe ispitanika i to značajno veća aktivnost MPO i koncentracija hs-CRP izmerena je kod ispitanika sa metaboličkim sindromom, u odnosu na normalno uhranjene ispitanike ($p < 0.001$) (Tabela 3).

U grupi normalno uhranjenih ispitanika nadjena je negativna osrednja povezanost između aktivnosti enzima mijeloperoksidaze i sistolne tenzije ($r = -0.36$), kao i pozitivna osrednja korelacija aktivnosti mijeloperoksidaze sa koncentracijom ukupnog holesterola ($r = 0.38$) i koncentracijom holesterola u lipoproteinima velike gustine (HDL-h) (Tabela 4). U grupi ispitanika sa metaboličkim sindromom utvrđena je osrednja negativna korelacija između aktivnosti mijeloperoksidaze i koncen-

tracije HDL-h ($r = -0.39$) (Tabela 4).

DISKUSIJA

Gojaznost je složen metabolički poremećaj koji predstavlja jedan od najčešćih savremenih zdravstvenih problema. Takođe, značajan je faktor rizika za razvoj metaboličkog sindroma (skup srodnih faktora koji uključuje netoleranciju glukoze, hipertenziju, dislipidemiju, centralni tip gojaznosti, masnu jetru i insulinsku rezistenciju). Metabolički sindrom povećava rizik od razvoja hroničnih bolesti, kao što su diabetes mellitus tip 2, ateroskleroza, kardiovaskularne bolesti i sl. Gojaznost je povezana sa hroničnim stanjem inflamacije niskog intenziteta, uzrokovanom progresivnom infiltracijom makrofaga u masno tkivo gojaznih osoba. Citokini produkovani od strane makrofaga i adipokini produkovani od strane masnih ćelija posledično uzrokuju inflamaciju [12]. Akumulacija makrofaga u masnom tkivu povećava se sa uvećanjem količine masnog tkiva, što uzrokuje povećanu produkciju proinflamatornih citokina i molekula akutne-faze i doprinosi pojavi patoloških promena kod gojaznih. Povećana koncentracija visoko senzitivnog C-reaktivnog proteina (hs-CRP), fibrinogena, amiloida A, monocit-hemoatraktantnog proteina-1 (MCP-1), inhibitora plazminogena (PAI-1), citokina (TNF- α , IL-6 i dr.) i drugih bioloških markera inflamacije u krvi gojaznih osoba potvrđuje prisustvo hronične inflamacije [13].

Kod gojaznih postoji veća proizvodnja proinflamatornih citokina, kao što su TNF- α i MCP-1, dok je lučenje antiinflamatornih citokina, kao što je adiponektin, smanjeno. Upravo ovaj poremećaj produkcije adipocitokina, koji je delom uzrokovan i inflamacijom masnog tkiva, može imati važnu ulogu u razvoju metaboličkog

Tabela 3. Pokazatelji inflamacije u krvi ispitanika

	Normalno uhranjeni	Gojazni	Metabolički sindrom	p*		
				NU-G	NU-MS	G-MS
Mijeloperoksidaza (kU/L)	9.3 \pm 1.8	18.0 \pm 2.7	26.3 \pm 2.8	<0.001	<0.001	<0.001
Fibrinogen (g/L)	3.2 \pm 0.5	3.9 \pm 1.1	3.6 \pm 0.7	0.004	0.118	0.411
Mokraćna kiselina ($\mu\text{mol/L}$)	238.4 \pm 72.7	239.4 \pm 83.3	347.6 \pm 79.4	0.999	<0.001	<0.001
SE (mm/h) (medijana)	5 (1 - 15)	10 (2 - 48)	9 (1 - 42)	0.001	0.047	0.218
hsCRP (mg/L) (medijana)	0.2 (0.1 - 0.7)	0.8 (0.1 - 4.3)	1.1 (0.2 - 3.4)	<0.001	<0.001	0.040

Vrednosti su izražene kao aritmetička sredina \pm standardna devijacija (a.s. \pm s.d.)

* - p vrednost se odnosi na statističku značajnost razlike između: normalno uhranjenih i gojaznih ispitanika (NU-G), normalno uhranjenih i ispitanika sa metaboličkim sindromom (NU-MS), gojaznih i ispitanika sa metaboličkim sindromom (G-MS)

Tabela 4. Koeficijenti korelacije MPO sa biohemijskim i hematološkim varijablama kod normalno uhranjenih, gojaznih i ispitanika sa metaboličkim sindromom

Varijabla	Normalno uhranjeni	Gojazni	Metabolički sindrom
BMI	-0.13	0.19	0.31
Obim struka	-0.31	0.02	0.29
TA-SIST	-0.36	-0.19	0.25
TA-DIAS	-0.30	-0.07	0.13
Holesterol	0.38	0.20	-0.17
HDL-h	0.47	-0.18	-0.39
LDL-h	0.27	0.27	-0.12
Aterogeni indeks	-0.25	0.23	0.12
Fibrinogen	0.04	-0.03	0.16
Mokraćna kiselina	-0.12	-0.23	0.02
Sedimentacija eritrocita	0.24	-0.13	-0.13
Broj leukocita	-0.28	0.17	0.19
HbA1c	-0.27	-0.09	0.20
hsCRP	-0.03	-0.07	-0.15

sindroma i ateroskleroze.

Akumulacija makrofaga u masnom tkivu može doprijeti sistemskom povećanju koncentracije nekih inflamatornih citokina. Delovanje ovih inflamatornih molekula može predstavljati molekularnu vezu između masnog tkiva i metaboličkih i kardiovaskularnih komplikacija gojaznosti. Tačnije, povećan nivo TNF- α , IL-6 i rezistina, koji su produkovani od strane aktiviranih makrofaga, mogu doprineti promeni osetljivosti na insulin u različitim depoima masnog tkiva [14].

Tokom naše studije utvrđena je povišena aktivnost mijeloperoksidaze u serumu gojaznih i ispitanika sa metaboličkim sindromom u odnosu na normalno uhranjene ($p < 0.001$) (tabela 3). Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima Zur-a i saradnika [15], koji su prikazali značajno veću aktivnost mijeloperoksidaze kod gojaznih osoba u poređenju sa ispitanicima sa optimalnom telesnom težinom ($p < 0.001$). U skladu su i sa rezultatima studije Andrade-a i saradnika [16], čije se istraživanje odnosilo na ispitanice ženskog pola, gde je značajan porast aktivnosti mijeloperoksidaze izmeren kod gojaznih u odnosu na normalno uhranjene žene ($p < 0.05$). Studija Olza-a i saradnika [17], tokom koje su ispitivana gojazna i normalno uhranjena deca, pokazala je da mijeloperoksidaza može biti rani marker povezan sa rizikom od razvoja kardiovaskularnih bolesti kod gojazne dece u periodu pre puberteta. Povećana aktivnost MPO kod gojaznih ispitanika ukazuje da aktivacija neutrofila vetovatno dovodi do zapaljenskog stanja (inflamacije niskog stepena) koje je povezano sa gojaznošću. Mijeloperoksidaza ima ulogu u razvoju ateroskleroze, jer učestvuje u modifikaciji lipidnih i proteinskih komponenti LDL-a [8].

Mokraćna kiselina se danas smatra ne samo biomarkerom već i medijatorom endotelne disfunkcije, kao i medijatorom vaskularne rezistencije na insulin [18]. U našoj studiji, korelacija između aktivnosti MPO i koncentracije mokraćne kiseline bila je negativna kod normalno uhranjenih i gojaznih bez metaboličkog sindroma, dok je bila pozitivna kod gojaznih ispitanika sa metaboličkim sindromom (Tabela 4). Iako stepen ove korelacije nije dostigao statističku značajnost, smatramo da ukazuje na verovatnu ulogu MPO u patofiziološkom mehanizmu endotelne disfunkcije, tim pre što je i koncentracija mokraćne kiseline u serumu bila statistički značajno veća kod ispitanika sa metaboličkim sindromom, nego kod normalno uhranjenih i gojaznih bez metaboličkog sindroma.

Tokom naše studije kod ispitanika sa metaboličkim sindromom izmerena je značajno viša sistolna i dijastolna tenzija ($p < 0.001$) u odnosu na gojazne i normalno uhranjene ispitanike (Tabela 1). Moguće je da inflamatorno stanje koje se javlja u gojaznosti može doprineti povećanju krvnog pritiska. Povišen krvni pritisak može povećati kardiovaskularni rizik izazivanjem hroničnog en-

dotelnog oštećenja, što dovodi do strukturnih i funkcionalnih vaskularnih promena, posebno u mikrovaskularnoj (kapilarnoj) mreži.

Mnoge studije pokazuju da je kod gojaznih osoba prisutna dislipidemija ispoljena većom koncentracijom triacilglicerola i LDL-holesterola, kao i smanjenom količinom HDL-holesterola [19,20]. Povišene koncentracije triacilglicerola, ukupnog i LDL-holesterola u našem istraživanju izmerene su kod gojaznih i ispitanika sa metaboličkim sindromom u poređenju sa normalno uhranjenim ispitanicima ($p < 0.001$) (Tabela 2). Takođe ispitanici sa prekomernom telesnom težinom i metaboličkim sindromom imali su veće vrednosti aterogenog indeksa i niže koncentracije HDL-holesterola ($p < 0.001$) u odnosu na ispitanike sa optimalnom telesnom težinom (Tabela 2). Snižena koncentracija HDL-holesterola u krvi predstavlja faktor rizika za razvoj patoloških promena u kardiovaskularnom sistemu, zbog njegove važne uloge u metabolizmu holesterola, antiinflamatorne i ateroprotektivne uloge [21]. U našoj studiji takođe nađena je statistički značajna inverzna korelacija između koncentracije HDL-holesterola i aktivnosti MPO u serumu (Tabela 4). Razlog tome možda leži u činjenici da pacijenti sa metaboličkim sindromom često imaju masno degenerisanu jetru. U jednom ranijem radu pronađena je visoka aktivnost MPO u tkivu masne jetre [22] i negativna korelacija između HDL-holesterola i ovih promena, tako da je verovatno da oksidansi koje stavra MPO vrše modifikaciju HDL-a ili gensku supresiju njegove sinteze u jetri, što može da ima za posledicu sniženu koncentraciju HDL-a u serumu.

ZAKLJUČAK

Na osnovu naših rezultata, može se zaključiti da aktivnost MPO u serumu progresivno raste sa gojaznošću i metaboličkim sindromom, što govori u prilog tome da ovaj prooksidantni enzim, poreklom iz fagocitnih ćelija, može imati ulogu u patofiziološkim mehanizmima nastanka komplikacija gojaznosti i metaboličkog sindroma

LITERATURA

1. Lee O, Lee DC, Lee S, Kim YS. Associations between Physical Activity and Obesity Defined by Waist-To-Height Ratio and Body Mass Index in the Korean Population. *PLoS One* 2016; 11(7):e0158245.
2. Lee BC, Lee J. Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1842(3):446-62.
3. Srikanthan K, Feyh A, Visweshwar H, Shapiro JI, Sodhi K. Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population. *Int J Med Sci.* 2016; 13(1):25-38.

4. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25(6):1102-11.
5. Pattison DI, Davies MJ, Hawkins CL. Reactions and reactivity of myeloperoxidase-derived oxidants: differential biological effects of hypochlorous and hypothiocyanous acids. *Free Radic Res* 2012; 46(8):975-95.
6. Cai H, Griendling KK, Harrison DG. The vascular NAD(P)H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular diseases. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24(9):471-8.
7. Zhang R, Brennan ML, Shen Z, MacPherson JC, Schmitt D, Molenda CE, Hazen SL. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. *J Biol Chem.* 2002; 277(48):46116-22.
8. Nauseef WM. Contributions of myeloperoxidase to proinflammatory events: more than an antimicrobial system. *Int J Hematol.* 2001; 74(2):125-33.
9. Tremblay AJ, Morrisette H, Gagné JM, Bergeron J, Gagné C, Couture P. Validation of the Friedewald formula for the determination of low-density lipoprotein cholesterol compared with beta-quantification in a large population. *Clin Biochem* 2004; 37(9):785-90.
10. Dypbukt JM, Bishop C, Brooks WM, Thong B, Eriksson H, Kettle AJ. A sensitive and selective assay for chloramine production by myeloperoxidase. *Free Radic Biol Med* 2005; 39(11):1468-77.
11. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med.* 2006; 23(5):469-80.
12. Harford KA, Reynolds CM, McGillicuddy FC, Roche HM. Fats, inflammation and insulin resistance: insights to the role of macrophage and T-cell accumulation in adipose tissue. *Proc Nutr Soc.* 2011; 70(4):408-17.
13. Galic S1, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol.* 2010; 316(2):129-39.
14. Wisse BE. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15(11):2792-800.
15. Zur B, Look M, Holdenrieder S, Stoffel-Wagner B. Elevated plasma myeloperoxidase concentration in adults with obesity. *Clin Chim Acta.* 2011; 412(19-20):1891-2.
16. Andrade VL, Petruceli E, Belo VA, Andrade-Fernandes CM, Caetano Russi CV, Bosco AA, Tanus-Santos JE, Sandrim VC. Evaluation of plasmatic MMP-8, MMP-9, TIMP-1 and MPO levels in obese and lean women. *Clin Biochem.* 2012; 45(6):412-5.
17. Olza J, Aguilera CM, Gil-Campos M, Leis R, Bueno G, Martínez-Jiménez MD, Valle M, Cañete R, Tojo R, Moreno LA, Gil A. Myeloperoxidase is an early biomarker of inflammation and cardiovascular risk in prepubertal obese children. *Diabetes Care.* 2012; 35(11):2373-6.
18. Choi YJ, Yoon Y, Lee K-Y, Hien TT, Kang KW, Kim K-C, Lee J, Lee M-Y, Lee SM, Kang D-H, Lee B-H. Uric acid induces endothelial dysfunction by vascular insulin resistance associated with the impairment of nitric oxide synthesis. *FASEB J* 2014; 28: 3197 - 3204.
19. Klop B, Elte JW, Cabezas MC. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients.* 2013; 5(4):1218-40.
20. Howard BV, Ruotolo G, Robbins DC. Obesity and dyslipidemia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003; 32: 855-867.
21. Dullaart RP, Annema W, Tio RA, Tietge UJ. The HDL anti-inflammatory function is impaired in myocardial infarction and may predict new cardiac events independent of HDL cholesterol. *Clin Chim Acta.* 2014; 433:34-8
22. Rensen SS, Slaats Y, Nijhuis J, Jans A, Bieghs V, Driessen A, Malle E, Greve JW, Buuman WA. Increased hepatic myeloperoxidase activity in obese subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Pathol* 2009; 175: 1473 - 1482.

ENGLISH

EXAMINATION OF MYELOPEROXIDASE ACTIVITY, AS AN INDICATOR OF INFLAMMATION IN OBESE PARTICIPANTS WITH METABOLIC SYNDROME

Matić Tamara¹, Puhalo Sladoje Dragana², Kisić Bojana¹, Trajković Goran³, Dragojević Ilija¹, Mirić Dijana¹

¹ Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Pristina, Kosovska Mitrovica

² Faculty of Medicine Foča, University of East Sarajevo, Foca, Republic of Serbian

³ Institute of Medical Statistics and Informatics, Faculty of Medicine, Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction. Obesity is a complex metabolic disorder and one of the most common modern health problems. Numerous studies indicate association between chronic low-grade inflammatory state and obesity. Myeloperoxidase (MPO) and its reactive oxidants participate in tissue damage in the course of inflammatory processes. The aim of this study was to examine MPO activity in the serum of

obese participants with metabolic syndrome and its relationship with other indicators of inflammation. Material and Methods: Participants were divided into three groups according to the anthropometric parameters and biochemical indicators: normally fed ones (n=30), participants with abdominal obesity (n = 30) and participants with metabolic syndrome (n = 30). In the serum of patients was being determined chlorination activity of MPO by spectrophotometry. Results: Significant differences were found in MPO activity in all three groups of participants such as: the maximum activity was measured in patients with metabolic syndrome ($p < 0.001$). There was a positive correlation between MPO activity and atherogenic index, as well as between the MPO and the concentration of LDL-cholesterol, while the negative correlation was found between MPO and the concentration of HDL-cholesterol. Conclusion: The examination has shown that the activity of MPO progressively increases with obesity and metabolic syndrome. The obtained results suggest that MPO can be of great importance for the pathophysiological mechanisms leading to the development of complications of obesity and metabolic syndrome.

Key words: myeloperoxidase, metabolic syndrome, inflammation, obesity, dyslipidemia.
