

UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET

VESNA D. VUKOVIĆ-DEJANOVIĆ

ISPITIVANJE MARKERA INFLAMACIJE PENTRAKSINA 3,
CIKLOFILINA A I HEPARIN-VEZUJUĆEG EPIDERMALNOG
FAKTORA RASTA KOD BOLESNIKA SA AKUTNIM
INFARKTOM MIOKARDA SA ST-ELEVACIJOM

DOKTORSKA DISERTACIJA

BEOGRAD, 2020. GODINA

UNIVERSITY IN BELGRADE
FACULTY OF PHARMACY

VESNA D. VUKOVIĆ-DEJANOVIĆ

EXAMINATION OF INFLAMMATORY MARKERS
PENTRAXIN 3, CYCLOPHILIN A AND HEPARIN-BINDING
EPIDERMAL GROWTH FACTOR IN PATIENTS WITH ACUTE
MYOCARDIAL INFARCTION WITH ST-ELEVATION

DOCTORAL DISSERTATION

BELGRADE, 2020. GODINA

MENTORI I ČLANOVI KOMISIJE:

Mentori:

dr Nataša Bogavac Stanojević, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

dr Aleksandar N. Nešković, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet

Članovi komisije:

dr Marija Zdravković, docent,
Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet

dr Jelena Kotur-Stevuljević, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

Datum odbrane: _____

Ova doktorska disertacija je realizovana u okviru projekta "Uloga novih markera inflamacije u aterosklerozi" Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja (broj 175035) na Katedri za biohemiju Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta, kao i Kliničko-bolničkim centrima "Zemun" i "Bežanijska Kosa" i Opštoj bolnici "Medigroup" u Beogradu.

Ovom prilikom želim da se zahvalim:

Mentoru prof. dr Nataši Bogavac-Stanojević zahvaljujem se za uvođenje u naučnoistraživački rad, veliku pomoć pri statističkoj obradi podataka i tumačenju rezultata, za stručne savete tokom izrade disertacije, korisne sugestije i sadržajne diskusije.

Mentoru prof. dr Aleksandru N. Neškoviću zahvaljujem se na ukazanom poverenju, stručnim savetima i korisnim primedbama tokom pisanja teze do njenog finalnog oblika.

Doc. dr Mariji Zdravković zahvaljujem se na ukazanom poverenju i korisnim sugestijama prilikom pisanja teze.

Prof. dr Jeleni Kotur-Stevuljević zahvaljujem se na velikoj pomoći tokom izrade eksperimentalnog dela rada, korisnim sugestijama prilikom pisanja teze i kritičkoj oceni teze.

Saradnicima Katedre za medicinsku biohemiju Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta, posebno dr Milici Miljković, zahvaljujem se na pomoći tokom eksperimentalne izrade rada, prenetom znanju i kolegijalnom odnosu u saradnji.

Kolektivu Katedre za medicinsku biohemiju Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta zahvaljujem se na pomoći tokom eksperimentalne izrade rada.

Kolektivu Kliničko-bolničkih centara „Zemun“ i „Bežanijska Kosa“ u Beogradu zahvaljujem se na pomoći i izuzetnoj saradnji tokom eksperimentalne faze rada.

Kolektivu Opšte bolnice „Medigroup“ u Beogradu zahvaljujem se na velikoj pomoći tokom eksperimentalnog dela rada.

Hvala mojoj porodici na podršci, strpljenju i razumevanju!

SKRAĆENICE

AAA – aneurizma abdominalne aorte
ACE – angiotenzin-konvertujućeg enzim
ADAM17 – *A Disintegrin And Metallproteinase-17*
AHA – Američko udruženje za srčane bolesti
AIM – akutni infarkt miokarda
AKS – akutni koronarni sindrom
AOPP – uznapredovali produkti oksidacije proteina
ASK1 – engl. *apoptosis signal-regulating kinase 1*
ATTACH studija – *Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure*
AUC – površina ispod ROC krive
BMI – indeks telesne mase
CAPRICORN studija – *Carvedilol Post-infarct Survival Controlled Evaluation*
CORONA studija – *Controlled Rosuvastatin in Multinational Trial Heart Failure*
COX-2 – ciklooksigenaza 2
CRP – C-reaktivni protein
CsA – ciklosporin A
CyPA – ciklofilin A
EC-SOD – ekstracelularna superoksid dismutaza
EĆ – endotelne ćelije
EGF – epidermalni faktor rasta
EGFR – receptor epidermalnog faktora rasta
EKG – elektrokardiogram
EMMPRIN – receptor ekstraćelijskog induktora matriks-metaloproteinaza
eNOS – endotelna azot oksid sintaza
ERK1/2 – engl. *extracellular-signal-regulated kinase 1/2*
ESC – Evropsko udruženje kardiologa
GISSI-HF studija – *Gruppo Italiano per lo Studio della sopravvivenza nell'insufficienza cardiaca-Heart Failure trial*
GMĆ – glatke mišićne ćelije
GRACE skor – *Global Registry of Acute Coronary Events*
HB-EGF – heparin-vezujući epidermalni faktor rasta
HB-EGF-CTF – karboksi terminalni fragment HB-EGF
HDL-h – holesterol u lipoproteinima velike gustine
HKU – hidrogen peroksid komplementarne jedinice
hsCRP – visokoosetljivi C-reaktivni protein
HT – hipertenzija
HUVEC – kultura endotelnih ćelija umbilikalne vene
IFN- γ – interferon- γ
I κ B – inhibitorni proteini κ B familije
IL-1 β – interleukin 1 β
IL-2 – interleukin 2
IL-6 – interleukin 6
IL-10 – interleukin-10
iNOS – inducibilna azot oksid sintaza
iRNK – informaciona ribonukleinska kiselina
IVUS – instravaskularna ultrazvučna tehnika
JAK – Janus kinaza

KAB – koronarna arterijska bolest
KLF2 – *Kruppel-like* faktor 2
KVB – kardiovaskularna bolest
LDH – laktat dehidrogenaza
LDL-h – holesterol u lipoproteinima male gustine
LVEF – ejijskiona frakcija leve komore
LPS – bakterijski lipopolisaharid
MAPK – mitogenom aktivirana protein kinaza
M-CSF – engl. *macrophage colony-stimulating factor*
MINOCA – infarkt miokarda bez opstrukcije koronarnih arterija
MRI – magnetna rezonanca
MMP – matriks metaloproteinaza
Mn-SOD – mangan-zavisna superoksid dismutaza
MT1-MMP – membranski tip 1 matriks metaloproteinaza
MTP – mikrozomalni transportni protein za trigliceride
NFAT – nuklusni faktor iz aktiviranih T-ćelija
NF- κ B – nuklusni faktor kapa B
Nox – NADPH oksidaza
NSAP – nestabilna angina pektoris
NSTEMI – infarkt miokarda bez ST-elevacije
OR – engl. *Odds ratio*
oxLDL – oksidovani LDL-holesterol
PAB – prooksidativno-antioksidativni balans
PCA – *Principal component* faktorska analiza
PDGF – trombocitni faktor rasta
PKC δ – protein kinaza C δ
pPCI – primarna perkutana koronarna intervencija
PPIaze – peptidil-prolil cis-trans izomeraze
PTX3 – pentraksin 3
RENEWAL studija – *Randomized Etanercept Worldwide Evaluation*
RNS – reaktivna azotna jedinjenja
ROC – engl. *Receiver operation curve*
ROS – reaktivna kiseonična jedinjenja
RWMA – poremećaj u pokretljivosti zidova komora
SAP – stabilna angina pektoris
SCORE indeks – *Systematic Coronary Risk Estimation*
SOD – superoksid dismutaza
SH – sulfhidrilne grupe
STEMI – infarkt miokarda sa ST-elevacijom
STEMI-KAB – STEMI bolesnici sa potvrđenom KAB
TACE – TNF α -konvertujućii enzim
TAS – totalni antioksidativni status
TG – trigliceridi
TGF- β – faktor rasta tumora β
Th – T-helper ćelija
TH – ukupni holesterol
TLR – *Toll-like* receptor
TNF α – faktor nekroze tumora α
TnI – troponin I

TOS – totalni oksidativni status

TPA – tetradekanoilforbol acetat

TRAP 6 – engl. *thrombin receptor-activating peptide-6*

TSG-14 – engl. *tumor necrosis factor stimulated gene 14*

VCAM-1 – adhezioni molekul vaskularnih ćelija-1

VEĆ – vaskularne endotelne ćelije

VGMĆ – vaskularne glatke mišićne ćelije

Ispitivanje markera inflamacije pentraksina 3, ciklofilina A i heparin-vezujućeg epidermalnog faktora rasta kod bolesnika sa akutnim infarktom miokarda sa ST elevacijom

Rezime

Poznato je da je koronarna arterijska bolest (KAB) povezana sa inflamatornim i oksidativnim procesima koji dovode do okluzije koronarnih arterija i akutnog koronarnog sindroma, najčešće infarkta miokarda sa ST-elevacijom (STEMI). Još uvek se traga za biomarkerima koji bi bili korisni u klasifikaciji bolesnika prema težini bolesti i u predviđanju budućih srčanih događaja. Svrha ove studije je da se ispituju koncentracije pentraksina 3 (PTX3), ciklofilina A (CyPA) i heparin-vezujućeg epidermalnog faktora rasta (HB-EGF) kod bolesnika sa STEMI (N=87) u odnosu na zdrave osobe (N=193) i bolesnike sa stabilnom anginom pektoris (N=15) kako bi se utvrdilo da li su promene ovih parametara posledica hronične srčane bolesti ili im se vrednosti menjaju usled akutnih poremećaja u STEMI. Dodatno je analizirano da li primena primarne perkutane koronarne intervencije (pPCI) dovodi do oštećenja krvnih sudova srca što će se manifestovati kroz promenu u koncentracijama navedenih ispitivanih parametara. Ovi parametri su analizirani i kod bolesnika sa dijagnozom infarkta miokarda bez opstrukcije koronarnih arterija (MINOCA). Studija je pokazala da su inflamatorni biomarkeri PTX3 i HB-EGF povišeni u STEMI i da se značajno menjaju posle pPCI kod bolesnika sa opstruktivnom KAB u poređenju sa vrednostima pre procedure. MINOCA bolesnici imali su značajno više vrednosti PTX3 u odnosu na bolesnike sa STEMI. Kako bi se ispitali nezavisni prediktori visokih koncentracija PTX3 i HB-EGF kod bolesnika sa STEMI, primenjena je faktorska analiza. Faktor metaboličko-oksidativnog stresa je značajan prediktor visokih koncentracija PTX3, dok je PTX3 značajan prediktor visokih koncentracija HB-EGF. Osim toga, rezultati su pokazali da je identifikacija MINOCA etiologije ključna za lečenje ovih bolesnika u čemu, pored standardnih procedura, može pomoći određivanje koncentracije PTX3.

Ključne reči: akutni infarkta miokarda sa ST-elevacijom, pentraksin 3, ciklofilin A, heparin-vezujući epidermalni faktor rasta, oksidativni stres

Naučna oblast: Farmaceutske nauke

Uža naučna oblast: Medicinska biohemija

Examination of inflammatory markers pentraxin 3, cyclophilin A and heparin-binding epidermal growth factor in patients with acute myocardial infarction with ST-elevation

Abstract

Since the association of coronary artery disease (CAD) with inflammatory and oxidative processes that leads to the development of coronary artery occlusion and acute coronary syndrome, most commonly in the form of ST-elevation myocardial infarction (STEMI) have been recognized, biomarkers that would be useful in classifying patients according to disease severity and in predicting future cardiac events are still being sought. This study aimed to examine the concentrations of pentraxin 3 (PTX3), cyclophilin A (CyPA) and heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF) in patients with STEMI (N = 87) compared to healthy subjects (N = 193) and patients with stable angina pectoris (N = 15) to determine whether changes in these parameters are due to chronic heart disease or their values change due to acute disorders in STEMI. It was additionally analyzed whether the application of primary percutaneous coronary intervention (pPCI) leads to damage of the heart blood vessels, which will be manifested as a change in the concentrations of the examined parameters. These parameters were also analyzed in patients with the diagnosis of the myocardial infarction without coronary artery obstruction (MINOCA). This study showed that the inflammatory biomarkers PTX3 and HB-EGF are elevated in STEMI and change significantly after pPCI in patients with obstructive CAD compared to pre-procedure values. MINOCA patients had significantly higher PTX3 values compared to patients with STEMI. Factor analysis was applied to examine independent predictors of high PTX3 and HB-EGF concentrations in patients with STEMI. The metabolic-oxidative stress factor is a significant predictor of high concentrations of PTX3, while PTX3 is a significant predictor of high concentrations of HB-EGF. Besides, the results showed that the identification of MINOCA etiology is crucial for the treatment of these patients in which the determination of PTX3 concentration can help, in addition to standard procedures.

Key words: acute myocardial infarction with ST-elevation, pentraxin 3, cyclophilin A, heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor, oxidative stress

Scientific field: Pharmaceutical sciences

Special topics: Medical biochemistry

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
1.1.	Biomarkeri	5
1.1.1.	Inflamatorni biomarkeri	5
1.1.2.	Pentraksin 3	5
1.1.2.1.	Uloga PTX3 u akutnom infarktu miokarda	7
1.1.3.	Ciklofilin A	9
1.1.3.1.	Uloga CyPA u akutnom infarktu miokarda	13
1.1.4.	Heparin-vezujući epidermalni faktor rasta sličan faktoru rasta	14
1.1.4.1.	Uloga HB-EGF u angiogenezi i arteriogenezi	16
1.1.4.2.	Uloga HB-EGF u regulaciji proliferacije ćelija	16
1.1.4.3.	Uloga HB-EGF u metabolizmu lipida	17
1.1.4.4.	Uloga HB-EGF u akutnom infarktu miokarda	17
1.2.	Oksidativni stres	18
1.2.1.	Uloga oksidativnog stresa u akutnom infarktu miokarda	20
1.3.	Mehanizmi koji povezuju PTX3, CyPA, HB-EGF i oksidativni stres	21
2.	CILJEVI RADA	23
3.	ISPITANICI I METODE	24
3.1	Ispitanici	24
3.2	Uzorci	25
3.3	Metode	25
3.4	Statistička analiza	29
4.	REZULTATI	31
4.1.	Ispitivani parametri kod STEMI bolesnika, bolesnika sa stabilnom anginom pectoris i zdravih osoba	31
4.1.1.	Poređenje demografskih i kliničkih karakteristika kao i osnovnih biohemijskih parametara u tri ispitivane grupe	31
4.1.2.	Inflamatorni parametri u tri ispitivane grupe	36
4.1.3.	Parametari oksidativnog stresa u tri ispitivane grupe	38
4.1.4.	Parametari antioksidativne zaštite u tri ispitivane grupe	39
4.2.	Poređenje inflamatornih parametara kod kontrolnih ispitanika i STEMI bolesnika prema polu i starosti	41
4.2.1.	Poređenje inflamatornih parametara kod kontrolnih ispitanika prema polu	41
4.2.2.	Poređenje inflamatornih parametara kod kontrolnih ispitanika prema godinama starosti	42
4.2.3.	Referentni intervali za ispitivane inflamatorne parametre	44
4.2.4.	Poređenje inflamatornih parametara kod STEMI bolesnika prema polu	45
4.2.5.	Poređenje inflamatornih parametara kod bolesnika sa STEMI prema godinama starosti	45
4.3.	Korelacija inflamatornih parametara sa drugim ispitivanim parametrima u kontrolnoj grupi i kod STEMI bolesnika	46

4.3.1	Korelacija inflamatornih parametara sa demografskim i biohemijskim parametrima u kontrolnoj grupi	46
4.3.2.	Korelacija između inflamatornih parametara u kontrolnoj grupi	46
4.3.3.	Korelacija inflamatornih parametara sa parametrima oksidativnog stresa u kontrolnoj grupi	47
4.3.4.	Korelacija inflamatornih parametara sa parametrima antioksidativne zaštite u kontrolnoj grupi	47
4.3.5.	Korelacija inflamatornih parametara sa demografskim i biohemijskim parametrima kod STEMI bolesnika	49
4.3.6.	Korelacija između inflamatornih parametara kod STEMI bolesnika	50
4.3.7.	Korelacija inflamatornih parametara sa parametrima oksidativnog stresa kod STEMI bolesnika	50
4.3.8.	Korelacija inflamatornih parametara sa parametrima antioksidativne zaštite kod STEMI bolesnika	50
4.4.	Definisanje visokih vrednosti inflamatornih parametara	53
4.5.	Poređenje ispitivanih parametara prema definisanoj <i>cut off</i> vrednosti za PTX3 i HB-EFG kod STEMI bolesnika	55
4.5.1.	Poređenje demografskih i kliničkih karakteristika kao i ispitivanih biohemijskih parametara prema definisanoj <i>cut off</i> vrednosti za PTX3 kod STEMI bolesnika	55
4.5.2.	Poređenje ispitivanih inflamatornih parametara prema definisanoj <i>cut off</i> vrednosti za PTX3 kod STEMI bolesnika	56
4.5.3.	Poređenje markera oksidativnog stresa prema definisanoj <i>cut off</i> vrednosti za PTX3 kod STEMI bolesnika	57
4.5.4.	Poređenje parametara antioksidativne zaštite prema definisanoj <i>cut off</i> vrednosti za PTX3 kod STEMI bolesnika	58
4.5.5.	Poređenje demografskih karakteristika i ispitivanih biohemijskih parametara prema definisanoj <i>cut off</i> vrednosti za HB-EGF kod STEMI bolesnika	59
4.5.6.	Poređenje ispitivanih inflamatornih parametara prema definisanoj <i>cut off</i> vrednosti za HB-EGF kod STEMI bolesnika	59
4.5.7.	Poređenje markera oksidativnog stresa prema definisanoj <i>cut off</i> vrednosti za HB-EGF kod STEMI bolesnika	61
4.5.8.	Poređenje parametara antioksidativne zaštite prema definisanoj <i>cut off</i> vrednosti za HB-EGF kod STEMI bolesnika	61
4.6.	Faktorska analiza	62
4.7.	Inflamatorni parametri kod bolesnika sa STEMI-KAB pre i neposredno nakon završetka pPCI	64
4.8.	Poređenje ispitivanih parametara između STEMI-KAB i MINOCA bolesnika	67
4.8.1.	Poređenje demografskih, kliničkih i biohemijskih parametara između STEMI-KAB i MINOCA bolesnika	67
4.8.2.	Ispitivani inflamatorni parametri kod STEMI-KAB i MINOCA bolesnika	68
4.8.3.	Dijagnostička vrednost ispitivanih parametara za razlikovanje STEMI-KAB od MINOCA bolesnika	69
4.8.4.	Inflamatorni parametri kod MINOCA bolesnika i STEMI-KAB bolesnika podeljenih prema SCORE riziku	69

5.	DISKUSIJA	71
6.	ZAKLJUČCI	82
7.	LITERATURA	83

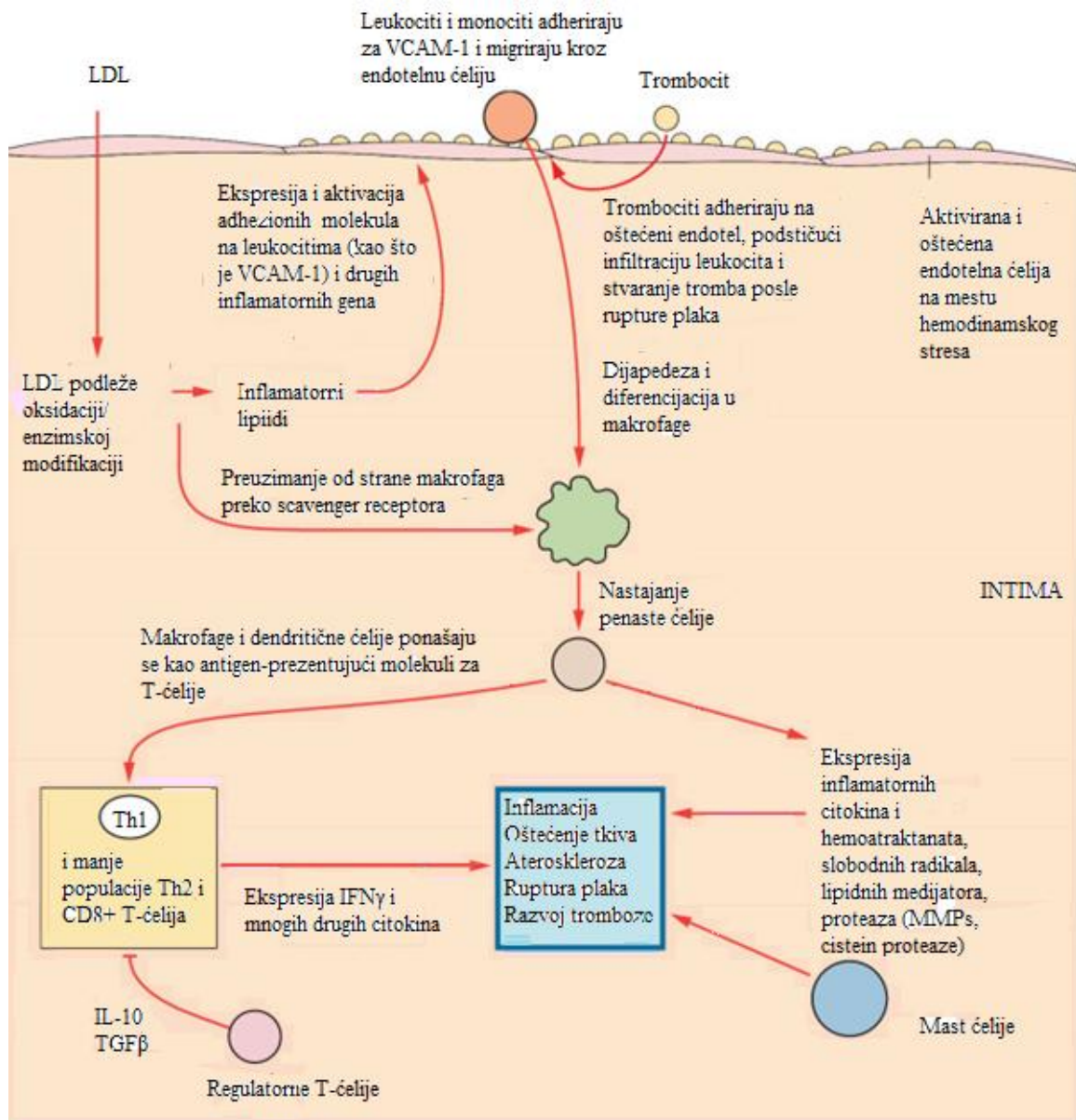
1. UVOD

Koronarna arterijska bolest (KAB) sa svojim kliničkim manifestacijama u vidu angine pektoris, akutnog infarkta miokarda (AIM), srčane slabosti i iznenadne srčane smrti, već dugo je vodeći uzrok smrti u razvijenim zemljama, a poslednjih godina i u zemljama u razvoju (1). Nezarazne bolesti, od kojih kardiovaskularne bolesti (KVB) čine skoro polovinu, preuzele su od zaraznih bolesti prvo mesto po broju obolelih, pri čemu su ovim bolestima najpogođenije slabo- i srednje razvijene zemlje kako po stopi obolevanja, tako i po procentu smrtnih ishoda i broju prevremeno umrlih (2). Epidemiološki podaci govore da su KVB vodeći uzrok smrtnosti među Evropljanima kao i širom sveta. Studija *Global Burden of Disease* je utvrdila da je 29,6% svih smrtnih ishoda u svetu tokom 2010. godine (skoro 16 miliona smrtnih slučajeva) izazvano KVB, što predstavlja veći procenat od zaraznih, urođenih, neonatalnih bolesti i poremećaja u ishrani zajedno, i dva puta veći procenat od smrtnih ishoda uzrokovanih malignim bolestima (3), a smatra se da će do 2030. godine broj umrlih od KVB godišnje premašiti 23 miliona (2).

Uprkos smanjenju stope mortaliteta u mnogim zemljama Evrope poslednjih godina, KVB su odgovorne za oko 4 miliona smrtnih slučajeva, odnosno skoro polovinu svih smrtnih ishoda godišnje, od čega je oko 18% prevremeno umrlih, pre 65. godine života. Procenat smrtnih ishoda je bitno veći među ženama (51%) nego među muškarcima (42%). KAB, ako se posmatra odvojeno, godišnje je uzrok mortaliteta kod oko 1,8 miliona stanovnika Evrope (4). Prema podacima Instituta za javno zdravlje „Milan Jovanović Batut“, u Srbiji su u 2016. godini bolesti srca i krvnih sudova činile 51,7% svih smrtnih uzroka (5).

KAB je povezana sa inflamatornim i oksidativnim procesima koji se odvijaju unutar arterijskog zida, koji, kako bolest napreduje dovode prvo do oštećenja i disfunkcije endotela, zaim dolazi do stvaranja aterosklerotskog plaka i razvoja koronarne stenoze, što kao krajnji ishod ima okluziju koronarne arterije koja se klinički manifestuje kao akutni koronarni sindrom (AKS) (6) (Slika 1).

AKS je zajednički naziv za skup kliničkih simptoma i znakova ishemije miokarda koji se mogu javiti u vidu nestabilne angine pektoris (NSAP), infarkta miokarda bez ST-elevacije (NSTEMI, engl. *non-ST-elevation myocardial infarction*) ili infarkta miokarda sa ST-elevacijom (STEMI, engl. *ST-elevation myocardial infarction*) (7,8). Smatra se da postoje dva koraka u nastanju AKS: prvi je stvaranje nestabilnih plakova i njihovo odvajanje, a drugi je povećanje trombogenog potencijala krvi (9). Glavno obeležje AKS je nastanak neravnoteže između potrošnje i potražnje za kiseonikom u miokardu, kao rezultat opstrukcije koronarne arterije (10). Dosadašnje studije kod bolesnika sa KAB ukazale su na postojanje više faktora koji mogu dovesti do nestabilnosti i ruptur plaka: faktori povezani sa lipidima (LDL-holesterol i lipoprotein (a)); faktori povezani sa oksidativnim stresom (glutation peroksidaza i mijeloperoksidaza (MPO)); inflamacija u arterijskom zidu posredovana brojnim faktorima: C-reaktivni protein (CRP), citokini, hemokini, faktori rasta, adhezioni molekuli, proteolitički enzimi kao što su matriks metaloproteinaze (MMPs) (6,11).



Slika 1. Inflamatorni procesi koji doprinose nastanku koronarne bolesti

Mnogi faktori doprinose nastanku koronarne bolesti: endotel je oštećen i aktiviran hemodinamskim stresom; trombociti adheriraju što pokreće infiltraciju leukocita i stvaranje tromba; LDL čestica se oksiduje i preko scavenger receptora preuzima od strane makrofaga nakon čega nastaju penaste ćelije. Disfunkcionalna ekspresija citokina, lipidnih medijatora, slobodnih radikala i proteaza pogoršava inflamaciju i oštećenje endotela uz nastanak ateroma, rupturu plaka i formiranje tromba. Na ove procese utiču faktori rizika kao što su pušenje, nasleđe, hiperholesterolemija, hipertenzija, gojaznost, dijabetes, starost i pol.

Skraćenice: $IFN-\gamma$ - interferon- γ ; $IL-10$ - interleukin-10; MMP - matriks metaloproteinaza; $TGF-\beta$ - faktor rasta tumora β ; Th - T-helper ćelija; $VCAM-1$ - adhezioni molekul vaskularnih ćelija-1

(Izvor: Derek G. Waller BSc (HONS), DM, MBBS (HONS), FRCP, Anthony P. Sampson MA, PhD, FHEA, FBPhS, in *Medical Pharmacology and Therapeutics (Fifth Edition)*, 2018)

Prema IV univerzalnoj definiciji AIM Evropskog udruženja kardiologa (engl. *European Society of Cardiology, ESC*) iz 2018. godine, termin AIM koristi se kada postoji akutno oštećenje miokarda sa kliničkim dokazima akutne ishemije miokarda uz detekciju porasta i/ili pada vrednosti troponina sa

najmanje jednom vrednošću iznad 99-og percentila gornje granice referentne vrednosti, u kombinaciji sa najmanje jednim od simptoma koji se uklapaju u kliničku sliku (12).

Simptomi i znaci AIM mogu biti:

- simptomi ishemije miokarda
- nove ishemične promene na EKG-u (nova značajna promena ST-T segmenta ili novi blok leve grane)
- razvoj patološkog Q zupca
- dijagnostički potvrđen poremećaj u pokretljivosti zida komora (engl. *regional wall motion abnormality*, RWMA)
- intrakoronarni tromb vidljiv pri angiografiji ili autopsiji

Smatra se da postoji više tipova AIM, a dva su najčešća: tip 1, koji nastaje spontano, usled ruptуре aterosklerotskog plaka, i tip 2, koga karakteriše disbalans između snabdevanja i potreba miokarda za kiseonikom uzrokovan stenozom, spazmom ili disekcijom koronarne arterije (13). Akutna koronarna tromboza nastala kao posledica ruptуре, erozije ili disekcije aterosklerotskog plaka, može dovesti do potupne okluzije koronarne arterije i na taj način predstavlja glavni uzrok nastanka STEMI. Postoje više dokaza da stvaranje tromba zavisi od brojnih faktora koji deluju lokalno i utiču na njegov rast i stabilizaciju. Hiperaktivnost trombocita i oksidativni stres imaju ključne uloge u izazivanju nestabilnosti plaka, kao i ruptуре ili erozije plaka sa sledstvenim nastankom tromba kod bolesnika sa STEMI (14).

Još 80-tih godina prošlog veka, DeWood i sar. su na osnovu angiografskih nalaza utvrdili da je kod oko 90% bolesnika sa STEMI prisutna okluzija bar jedne koronarne arterije, dok je kod bolesnika sa NSTEMI učestalost okluzija oko 26%. Postojanje angiografski potvrđene KAB ukazuje na značaj procesa ateroskleoroze u patogenezi AIM, međutim oko 10% bolesnika sa STEMI nema angiografski potvrđenu značajnu KAB (15,16). Kasnije su velike studije potvrdile da se u 1-13% slučajeva STEMI javlja u odsustvu opstruktivne KAB, čime su se otvorila pitanja o mogućem mehanizmu oštećenja miokarda kod ovih bolesnika, kao i razlici u terapijskom pristupu u odnosu na pacijente sa opstruktivnom KAB (17-19). Istraživači su za pacijente sa ovom dijagnozom uveli termin infarkt miokarda bez opstrukcije koronarnih arterija (engl. *myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries*, MINOCA). Za postavljanje dijagnoze MINOCA potrebni su klinički dokazi postojanja AIM kao i odsustva opstrukcije koronarnih arterija. Dijagnoza se postavlja nakon koronarne angiografije izvedene u proceni kliničke slike sa simptomima i znacima STEMI. Angiografski kriterijum za postavljanje dijagnoze MINOCA je odsustvo stenoze $\geq 50\%$ na jednoj ili više koronarnih arterija (13). MINOCA se smatra radnom dijagnozom, kao i srčana slabost npr., i zahteva dodatnu procenu u odnosu na osnovni mehanizam nastanka.

Neopstruktivna KAB kod bolesnika sa simptomima ishemije i ST-elevacijom, odnosno MINOCA, ne isključuje etiologiju aterotromboze, jer je intrakoronarna tromboza dinamičan fenomen i nastali tromb može biti neopstruktivan i/ili nestati spontano ili pod dejstvom terapije. Posle isključivanja značajne opstrukcije na jednoj ili više koronarnih arterija kod bolesnika sa STEMI treba uraditi angiografiju leve komore ili transtorakalni ultrazvuk srca, radi procene pokretljivosti zidova leve komore ili postojanja perikardne efuzije (20).

Magnetna rezonanca (engl. *magnetic resonance imaginig*, MRI) srca je ključna za postavljanje definitivne dijagnoze kod MINOCA bolesnika; ovom tehnikom može se napraviti razlika između miokarditisa, kardiomiopatije ili ishemije kao uzroka oštećenja, ali se ne može utvrditi razlog ishemije (ruptura plaka, vazospazam, tromboembolija, disekcija) (21). Osim toga, ovom tehnikom se mogu identifikovati poremećaji pokretljivosti zida leve komore, prisustvo edema miokarda ili fibroze (21,22). Intravaskularom ultrazvučnom (engl. *intravascular ultrasound*, IVUS) tehnikom tokom kateterizacije

može se otkriti ruptura ili erozija aterosklerotskog plaka, kao i koronarna disekcija ili tromboza, što se ne može uvek precizno utvrditi tokom angiografije (17).

Najčešćim uzrocima nastanka MINOCA smatraju se ruptura ili erozija plaka, spazam koronarnih arterija, tromboembolija, koronarna disekcija, takotsubo kardiomiopatija i miokarditis. Međutim, pri postavljanju dijagnoze MINOCA treba uzeti u obzir i sve moguće uzroke nastanka AIM tipa 2, gde u razvoju nekroze miokarda izazvane disbalansom između snabdevanja i potreba za kiseonikom ne učestvuju nestabilni koronarni plakovi, nije prisutna tromboza krvnog suda već druga stanja (tahiaritmija, hemoragija, sepsa, hipertenzivna kriza) koja povećavaju potrebu miokarda za kiseonikom, u prisustvu ili odsustvu stenozе, spazma ili disekcije koronarne arterije (13,22,23).

Postavljanje pravovremene dijagnoze MINOCA važno je jer ovi bolesnici zahtevaju drugačiji pristup lečenju u odnosu na pacijente sa potvrđenom okluzivnom KAB; sa druge strane samo postavljanje dijagnoze je otežano bez procene uzroka nastanka ove vrste infarkta kao i postojanja odgovarajućeg biomarkera koji bi bio od pomoći u postavljanju dijagnoze. Ovo je posebno važno ako se zna da je troponin biomarker specifičan za srce kao organ, ali ne i za određenu bolest. Povećana vrednost troponina ne ukazuje nužno na AIM, već predstavlja znak oštećenja ili nekroze kardiomiocita, tako da se povećana vrednost sreće i kod niza kako koronarnih (ruptura plaka, spazam koronarne arterije, trombofilije sa koronarnom trombozom) tako i nekoronarnih poremećaja (miokarditis, akutna disekcija aorte, kardiomiopatija, tahiaritmija, kardiotoksični hemoterapeutici, insult, plućna embolija, sepsa, terminalna faza bubrežne insuficijencije, uzimanje simpatomimetika kao što su kokain i metamfetamini) (13,24). Prema relevantnoj literaturi, miokarditis se smatra jednim od najčešćih uzroka MINOCA i rutinsko određivanje CRP može pružiti korisne informacije za dijagnozu (18). Iako ishod MINOCA veoma zavisi od osnovnog uzroka, prognoza je ozbiljna, sa smrtnošću tokom 1 godine od oko 3,5% (25).

S druge strane, prema smernicama ESC iz 2017. godine, primarna perkutana koronarna intervencija (pPCI) je preporuka klase I (nivo preporuke A) kao prioritarna reperfuziona terapija kod bolesnika sa STEMI koji imaju značajnu stenozu koronarnih arterija (26). U vodiču za lečenje STEMI bolesnika sa potvrđenom KAB (STEMI-KAB) koje je izdalo Američko udruženje za srčane bolesti (engl. *American Heart Association*, AHA), rana mehanička reperfuzija miokarda pomoću pPCI spada u preporuke klase I za pacijente primljene sa dijagnozom STEMI i simptomima/znacima ishemije unutar 12 sati od pojave prvih simptoma (bola u grudima kao najčešćeg), kod pacijenta kod kojih je kontraindikovana fibrinolitička terapija, kao i kod bolesnika sa akutnim kardiogenim šokom ili teškom srčanom slabošću (27). pPCI je efikasna strategija za smanjenje veličine infarkta, očuvanje funkcije leve komore i prevenciju razvoja srčane slabosti (28). Prema Nacionalnom vodiču dobre kliničke prakse za lečenje ishemijske bolesti srca koje je izdalo Ministarstvo zdravlja Republike Srbije 2012. godine, kod bolesnika sa STEMI, mehanička reperfuzija je prvi nivo terapijskog pristupa (klasa preporuke I, nivo dokaza A). U slučaju nemogućnosti izvođenja pPCI, pristupa se prehospitalnoj trombolizi (u odsustvu kontraindikacija) (29). Međutim, kod pacijenta koji se upućuju na pPCI još uvek nisu ustanovljeni markeri koji bi bili od koristi za prognozu i ishod pPCI (30).

Više kliničkih studija je potvrdilo prednost pPCI, odnosno mehaničke reperfuzije, u odnosu na trombolizu, kao farmakološke reperfuzije u smanjenju mortaliteta, razvoju reinfarkta i insulta (30,31). Osim toga, postavljanje stentova obloženih lekom tokom revaskularizacije kod bolesnika sa STEMI smanjuje nastanak restenoze, kao moguće postoperativne komplikacije izvođenja pPCI (28,29). Restenoza se može javiti i nekoliko meseci nakon pPCI, a predstavlja kompleksan proces koji uključuje faktore inflamacije, hiperplaziju intime, kao i vaskularno remodelovanje. Tokom izvođenja pPCI, balon se koristi da raširi vaskularni zid stenozom zahvaćenog krvnog suda pre implantacije stenta; međutim, ovo može da dovede do oštećenja zida krvnog suda, a kao odgovor na ovo oštećenje povećava se oslobađanje tkivnih faktora koji dovode do proliferacije vaskularnih glatkih mišićnih ćelija (VGMĆ) i

inflamatornih ćelija, što dalje pokreće proces remodelovanja i hiperplaziju intime sa restenozom kao mogućim krajnjim ishodom (32).

Kao što je navedeno, pri samom izvođenju pPCI intervencije dolazi do oštećenja endotela, što može uticati na inflamatorni status, odnosno vrednosti inflamatornih parametara. Za sada nema literaturnih podataka o tome da li postoji povezanost između povrede endotela pri pPCI sa nekim drugim promenama u akutnom stanju, npr. sa oksidativnim stresom.

1.1. Biomarkeri

Pošto je prepoznato da inflamatorni i imunološki procesi interaguju u kompleksnoj kaskadi formiranja aterosklerotskog plaka koji dovodi do stenozе i okluzije koronarnih arterija, i dalje se traga za biomarkerima koji bi mogli biti korisni u klasifikaciji bolesnika prema težini bolesti i u predviđanju budućih srčanih događaja (33,34). Troponin omogućava postavljanje dijagnoze AIM, ali je teško dijagnostikovati pacijente sa teškom KAB ili nestabilnim aterosklerotskim plakovima koji će izazvati AIM u bliskoj budućnosti (35). Iako je određivanje niskih koncentracija CRP kao dijagnostičkog markera u ishemijskim bolestima srca u širokoj upotrebi, povećanje koncentracije CRP u serumu u AKS smatra se nespecifičnim odgovorom na oštećenje miokarda, tako da je aktuelna uloga CRP u patogenezi oštećenja srca još uvek predmet polemika (36). AHA je 2013. godine u vodiču za procenu kardiovaskularnog rizika uvrstilo određivanje visokoosetljivog C-reaktivnog proteina (engl. *high sensitive C-reactive protein*, hsCRP) u preporuke klase IIb sa ciljem da pomogne u odluci o sprovođenju terapije (37). hsCRP je koristan za predviđanje budućih kardiovaskularnih događaja, ali ne može da se koristi za diferencijalnu dijagnozu postojeće KVB jer ima ograničenu sposobnost predviđanja težine koronarne stenozе ili utvrđivanja postojanja aterosklerotskog plaka (36). Zbog toga se analiziraju novi inflamatorni parametri i parametri oksidativnog stresa kako bi se dobila potpunija slika o pojavi i ishodima kardiovaskularnih događaja. Takvi novi markeri su pentraksin 3 (engl. *pentraxin 3*, PTX3), ciklofilin A (engl. *cyclophilin A*, CyPA) i heparin-vezujućii epidermalni faktor rasta (engl. *heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor*, HB-EGF). Iako su ovi parametri uključeni u različite faze razvoja AIM, mehanizmi njihove aktivacije se međusobno ne isključuju. Visoke koncentracije sva tri biomarkera zabeležene su nakon AIM; u većini studija povezane su sa lošijim ishodom AIM (38-40). Međutim, modulacija visokih koncentracija ovih parametara kao i ukupan uticaj ovih promena još uvek nije poznat.

1.1.1. Inflamatorni biomarkeri

1.1.2. Pentraksin 3

Pentraksini su superfamilija filogenetski sačuvanih multimernih proteina koja je na osnovu veličine podeljena u dve podgrupe: klasični kratkolančani pentraksini (oko 25kD) čiji predstavnici su CRP i serum amiloid P, i dugolančani pentraksini (oko 40kDa) čiji je predstavnik PTX3. Međusobno se razlikuju po organizaciji gena, ćelijskoj ekspresiji i ligandima koje vezuju (8,41). Obe podgrupe pentraksina učestvuju u regulaciji mitogenih signalnih puteva, u održavanju ćelijske proliferacije i angiogeneze, i utiču na intenzitet apoptoze i invazije kancerskih ćelija (42).

Pentraksini predstavljaju glavnu komponentu humoralnog imuniteta (42), i sadrže karakterističan domen pentraksina na C-terminalnom kraju (43). Spadaju u proteine akutne faze čija je glavna funkcija prepoznavanje i eliminacija patogenih agenasa iz organizma (44).

Kratkolančani pentraksin CRP sintetise se u jetri u odgovoru na inflamatorne signale, pre svega interleukin 6 (IL-6), i služi kao marker inflamacije i infekcije. Zbog razlike u sekvenci CRP između miševa i čoveka, rezultati eksperimentalnih studija ne pružaju adekvatne odgovore o funkcijama CRP kod čoveka, i mišji CRP nije protein akutne faze (41). Za razliku od CRP, PTX3 je sačuvao svoje osnovne funkcije i karakteristike tokom evolucije, tako da su studije sprovedene na miševima dale dosta podataka o ulogama ovog proteina kod ljudi.

PTX3 naziva se još TSG-14 (engl. *tumor necrosis factor stimulated gene 14*). Gen za humani PTX3 identifikovan je u kulturi endotelnih ćelija umbilikalne vene (engl. *human umbilical vein endothelial cells*, HUVEC) stimulisanih pomoću interleukina 1 β (IL-1 β) kao i u kulturi fibroblasta nakon stimulacije pomoću faktora nekroze tumora α (engl. *tumor necrosis factor α* , TNF α). Nalazi se na 3. hromozomu, deo q25, i čine ga tri egzona; prvi egzon kodira N-terminalni domen pentraksina do nukleotida 197, drugi kodira nukleotide 198-599, a treći od nukleotida 600 do C-terminalnog domena. C-terminalni domen PTX3 identičan je drugom egzonu gena kratkih pentraksina. PTX3 ima molekulska masu od 40,6 kDa (43) a strukturno je organizovan u vidu izduženog oktamera sastavljenog od dva kovalentno vezana tetramera (45). PTX3 nije komponenta klasičnog odgovora akutne faze u sistemskoj inflamaciji kao CRP, već je specifičniji marker vaskularne inflamacije (46).

Prokismalni promotor humanog PTX3 gena je osetljiv na TNF α i IL-1 β , ali ne i na IL-6. U ovoj sekvenci su identifikovana vezujuća mesta za brojne transkripcione faktore, uključujući NF- κ B (engl. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) putem koga dolazi do aktivacije transkripcije PTX3 u odgovoru na IL-1 β i TNF α (43). Mononuklearni fagociti, dendritične ćelije, fibroblasti, glatke mišićne ćelije (GMĆ) i vaskularne endotelne ćelije (VEĆ) stvaraju PTX3 u odgovoru na primarne inflamatorne signale, koji uglavnom potiču od citokina kao što su IL-1 β , TNF α (kao što je već navedeno) i agonista Toll-like receptora (TLR, engl. *Toll-like receptor*) (47). Ekspresiju PTX3 u humanim monocitima osim proinflamatornih citokina stimuliše i bakterijski lipopolisaharid (LPS). Ova indukcija je brza i dostiže pik 4-6 sati nakon stimulacije (43). Interesantno je da na pojačano stvaranje PTX3 utiču i antiinflamatorni agensi interleukin 10 (IL-10) i lipoproteini velike gustine (HDL). HDL indukuje ekspresiju iRNK PTX3 i oslobađanje PTX3 u humanim endotelnim ćelijama putem aktivacije PI3K/Akt (engl. *phosphatidyl-inositol-3-kinase*) puta, što može da utiče na niže koncentracije PTX3 kod osoba sa metaboličkim sindromom koje imaju snižen HDL (48). Interferon- γ snažno inhibira ekspresiju PTX3 u monocitima, kao i sekreciju ovog proteina stimulisanu pomoću IL-1 β , TNF α i LPS (43).

PTX3 je strukturno povezan ali ipak različit od ostalih klasičnih pentraksina. Prototip je dugolančanih pentraksina, visoko je ekspimiran u srcu; može biti sintetisan od strane različitih vrsta ćelija, kao što je ranije napomenuto, na samom mestu inflamacije (8,49,50), dok se tokom diferencijacije polimorfonuklearnih neutrofila PTX3 stvara u koštanoj srži, gde se nalazi uskladišten u neutrofilnim granulama tako da se može brzo osloboditi u odgovoru na inflamatorne signale kao i mikrobiološke agense koje prepoznaje (41). Svojim C-terminalnim domenom PTX3 velikim afinitetom vezuje C1q komponentu komplemента, ubrzava eliminaciju mikroba i pospešuje njihovo prepoznavanje od strane fagocita, a sa druge strane može biti zaštita od neželjene aktivacije komplemента (41,47).

GMĆ stvaraju fibroblastni faktor rasta 2 (engl. *fibroblast growth factor 2*, FGF2) koji pozitivnom povratnom spregom stimuliše njihovu proliferaciju i migraciju. Pošto PTX3 inhibira FGF2-indukovanu proliferaciju i hemotaksu GMĆ, Camozzi i sar. su ukazali na to da lokalna ushodna regulacija PTX3 može da inhibira aktivaciju GMĆ i angiogenezu posle povrede arterija (51). Inhibitorni uticaj PTX3 na angiogenezu daje indicije da PTX3/FGF2 interakcija može predstavljati mesto delovanja tretmana protiv restenoze koja nastaje usled prekomerne FGF2-posredovane proliferacije GMĆ u zidu krvnog suda (52).

Maugeri i sar. su na modelu miša pokazali da PTX3 ima kardioprotektivnu i antiaterogenu ulogu. Povišen je kod bolesnika sa perzistentnom vaskularnom inflamacijom kao što su sistemski vaskulitis i hronična srčana slabost; u oba slučaja je nezavisan od CRP i identifikuje bolesnike sa težim oblikom bolesti i lošijim ishodom (53). Serumski nivo PTX3 je ustanovljen kao faktor rizika i prognostički marker za KVB (54). PTX3 korelira sa mortalitetom od kardiovaskularnih i svih drugih uzroka (53).

1.1.2.1. Uloga PTX3 u akutnom infarktu miokarda

Inflamacija igra jednu od ključnih uloga u razvoju i progresiji koronarne bolesti, a stimulacija lokalne inflamatorne reakcije može dovesti do ruptуре plaka, što je inicijalna faza u razvoju AKS. CRP i PTX3 su dva predstavnika familije pentraksina koji se smatraju važnim inflamatornim faktorima koji učestvuju u progresiji ateroskleroze. Zbog nespecifičnosti CRP koga indukuju i nekoronarne bolesti, PTX3 je superiorniji od CRP kao inflamatorni marker u koronarnoj bolesti (52). Liu i sar. su našli da se pik porasta PTX3 u AIM javlja ranije od pika CRP, i da PTX3 može da predvidi pojavu restenoze kod bolesnika nakon postavljanja koronarnog bajpasa. PTX3 ima duži poluživot od CRP, i na njega ne utiču koncentracije ukupnog holesterola, HDL-holesterola i hemoglobina, kao ni pušenje, gojaznost i pol. Postoje pokazatelji da PTX3 ima potencijal kao indikator vulnerabilnosti koronarnog plaka (55). Na modelu infarkta miokarda sa sledstvenom reperfuzijom pokazano je da je ekspresija PTX3 kontrolisana putem NF- κ B (47).

Povećana koncentracija PTX3 u plazmi nalazi se u AKS i hroničnoj srčanoj slabosti, što ukazuje na mogućnost kliničke upotrebe ovog markera u ranoj dijagnostici i praćenju sprovođenja odgovarajuće terapije (49). Matsui i sar. su pokazali da je PTX3 nezavisan prediktor šestomesečne pojave novih kardiovaskularnih događaja kod bolesnika hospitalizovanih zbog NSAP ili NSTEMI (56), dok su Üstündağ i sar. objavili rezultate da je PTX3 specifičniji marker za AKS u odnosu na troponin kod bolesnika sa NSAP, NSTEMI i STEMI u prvih 6 sati od pojave bola u grudima (57). Porast koncentracije PTX3 kod bolesnika sa NSAP nezavisan je od drugih koronarnih faktora rizika, kao što su gojaznost i dijabetes melitus (56).

Pojačana ekspresija PTX3 je zabeležena u VEC u humanim aterosklerotskim plakovima kao i u humanim kardiomiocitima u dilatativnoj kardiomiopatiji (58). Tkivni faktor poreklom iz endotelnih ćelija, pokretač procesa koagulacije, igra dominantnu ulogu u stvaranju tromba nakon ruptуре plaka i učestvuje u razvoju inflamatornih bolesti. Napoleone i sar. su dokazali da PTX3 povećava ekspresiju tkivnog faktora u HUVEC izloženim inflamatornim medijatorima kao što su LPS, IL-1 β i TNF α i pretpostavili da PTX3 utiče na prokoagulantnu aktivnost endotelnih ćelija. Porast iRNK tkivnog faktora u prisustvu PTX3 potiče od pojačane aktivnosti faktora c-Rel/p65 usled pojačane degradacije inhibitornog proteina I κ B α (59). Osim toga, pokazano je da makrofage koje su infiltrirale uznapredovale aterosklerotske plakove i dovele do pucanja fibrozne kape i ruptуре plaka sadrže PTX3 koji pojačava prokoagulantnu aktivnost endotelnih ćelija (60).

Sistemski nivo PTX3 pre pPCI reflektuje lokalni inflamatorni status i može biti efikasan u identifikovanju sastava plaka kod STEMI bolesnika. Povećan PTX3 pre pPCI povezan je sa poremećajem perfuzije miokarda posle pPCI i ukazuje na nestabilnost plaka na mestu koronarne lezije bolje od ostalih markera, što se može pripisati značajnoj vezi između PTX3 i visokorizične morfologije plaka (kao što je ruptura plaka sa mogućnošću embolizacije ili veliki nekrotični omotač). Ponovljene embolizacije mogu dovesti do inflamatorne reakcije i pogoršanja mikrovaskularne cirkulacije (60).

PTX3 u odnosu na CRP ima drugačiju patofiziološku ulogu u infarktu miokarda. Vezivanjem za P-selektin smanjuje dalju P-selektinom posredovanu infiltraciju neutrofila na mesto oštećenja miokarda, a vezivanjem za aktivirane trombocite smanjuje njihov proinflamatorni i protrombotski

efekat kod bolesnika sa infarktom miokarda. P-selektin je eksprimiran na endotelnim ćelijama i aktiviranim trombocitima i ključni je signal koji reguliše aktivnost i funkciju leukocita u cirkulaciji preko svog receptora (P-selektin glikoprotein ligand I) (53). U cirkulaciji bolesnika sa AIM neutrofili sa niskim sadržajem PTX3 često fizički interaguju i formiraju agregate sa trombocitima. Ovi agregati su retki kod zdravih osoba. Trombocitno-leukocitni agregati često se stvaraju u AKS i drugim sistemskim inflamatornim bolestima. Frakcija trombocita koji eksprimiraju P-selektin u negativnoj je korelaciji sa sadržajem PTX3 u neutrofilima a u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom PTX3 u plazmi. Postoji nedoumica oko toga da li prepoznavanje aktiviranih trombocita izaziva oslobađanje PTX3 iz neutrofila i koja je uloga trombocitnog P-selektina. Jedan od predloženih mehanizama je da neutrofili kada se nađu blizu aktiviranih trombocita formiraju sa njima heteroagregate i dovode do oslobađanja PTX3 iz neutrofila. Neutrofili prepoznaju P-selektin na trombocitima koji zatim dovodi do aktiviranja neutrofila i oslobađanja molekula kao što je MPO iz primarnih granula ali i PTX3 iz sekundarnih granula, odnosno do potpune degranulacije, tako da većina stimulusa koji izazivaju oslobađanja MPO, dovode i do oslobađanja PTX3 (53).

Količina i kinetika povećanja koncentracije PTX3 u cirkulaciji u AIM više se slaže sa brzim oslobađanjem PTX3 iz neutrofila, nego sa *de novo* sintezom i sekrecijom iz ćelija u odgovoru na lokalni stimulus; lokalna sinteza PTX3 od strane različitih ćelija u infarktom pogođenom području dovodi do povećanja PTX3 u plazmi u kasnijim fazama infarkta miokarda (47,53). Studije su pokazale da su neutrofili iz srčanog tkiva osoba sa obimnim AIM ispražnjeni od PTX3, što je verovatno posledica prethodne degranulacije, koja je paralelna sa porastom PTX3 u cirkulaciji. Nivo PTX3 se značajno menja tokom AIM, i ta rana kinetika PTX3 čini ga potencijalnim markerom za AIM, posebno u ranoj fazi AIM kada su konvencionalni markeri kao što je troponin još uvek u relativno niskoj koncentraciji i zbog toga imaju manju osetljivost i preciznost. Kod bolesnika sa AIM značajno je veće povećanje nivoa PTX3 u početnoj fazi akutnog stanja (6-8 sati od pojave simptoma) nego posle 48 sati (53).

Tokom kasnijih faza AIM, koje karakteriše smanjena aktivnost trombocita i leukocita, znatna frakcija cirkulišućih trombocita sadrži PTX3 vezan za membranu. Vezivanje PTX3 za trombocite kao posledicu ima da PTX3 inhibira agregaciju trombocita indukovanu TRAP 6 (engl. *thrombin receptor-activating peptide-6*) ili kolagenom i interferira sa vezivanjem fibrinogena za aktivirane trombocite. PTX3 utiče na inflamatorni potencijal aktiviranih trombocita: stvaranje agregata sa neutrofilima i monocitima sprečeno je aktiviranim trombocitima za koji je vezan rekombinantni PTX3. Protočnom citometrijom je dokazano da je inhibitorni efekat PTX3 na stvaranje trombocitno-neutrofilnih agregata dozno-zavisan. U prisutvu PTX3, aktivirani trombociti su značajno manje efikasni u ushodnoj regulaciji CD11b/Cd18 integrina, koji je važan za sposobnost leukocita da adheriraju i migriraju unutar tkiva zahvaćenog inflamacijom. PTX3 vezan za aktivirane trombocite smanjuje njihov inflamatorni potencijal, učestvuje u modulaciji imunskog odgovora i ograničava kolateralna oštećenja okolnih tkiva (53).

PTX3 reflektuje aktivnost aterosklerotskog procesa. U radu Kimura i sar. bolesnici sa povećanim PTX3 imali su niži LDL-holesterol (LDL-h) u odnosu na pacijente sa nižim PTX3, što ukazuje na to da PTX3 može biti dijagnostički marker za progresiju KVB. Osim toga, ovi autori su ukazali na to da je povišen nivo PTX3 pre pPCI značajno povezan sa većom površinom plaka (60). Kimura i sar. smatraju da postoji dilema oko toga šta više utiče na povećanje nivoa PTX3 u STEMI – nestabilnost plaka ili oštećenje miokarda. Na osnovu promene u koncentraciji PTX3 posle pPCI u lezijama sa većim ili manjim oštećenjem miokarda, ovi autori su zaključili da PTX3 ukazuje kako na stanje plaka tako i na oštećenje miokarda, i da se PTX3 u cirkulaciji menja u akutnoj fazi AIM na vremenski određen način. Pretpostavili su da PTX3 reflektuje nestabilnost plaka u lezijama sa manjom povredom miokarda, što se dešava u akutnoj fazi AIM, dok nivo PTX3 u kasnijim fazama raste i kao odgovor na oštećenje u STEMI lezijama sa velikom povredom miokarda. Poremećaj perfuzije

miokarda posle pPCI uslovljen je veličinom oštećenja miokarda i ima prognostički značaj za ishod kod AIM bolesnika (60).

Studija Salio i sar. je pokazala zaštitnu ulogu PTX3 jer je uočeno veće oštećenje miokarda kod PTX3-deficijentnih miševa, što je najverovatnije posledica uticaja PTX3 na postreperfuziono oštećenje miokarda (41). Pošto se PTX3 eksprimira u različitim tipovima ćelija u infarktom zahvaćenoj leziji (makrofage i endotelne ćelije oko nekrotičnog dela miokarda), pomenuti autori su pretpostavili da PTX3 može da utiče na inflamaciju izazvanu reperfuzijom i sledstveno oštećenje miokrada. Ovi autori su ukazali na to da povećanje PTX3 možda ima kompenzatornu kardioprotektivnu ulogu u lezijama sa oštećenom perfuzijom miokarda. U eksperimentalnoj studiji na $ptx^{+/+}$ i $ptx^{-/-}$ miševima koji su podvrgnuti ishemiji ligacijom koronarnih arterija, a zatim reperfuziji, analizirana je PTX3 iRNK u ishemičnoj levoj komori. Ekspresija PTX3 iRNK u miokardu počinje da raste 4 sata nakon ishemije, pik dostiže u 16. satu, a zatim počinje da pada. U plazmi PTX3 značajno raste 8 sati posle koronarne okluzije, a pik se javlja posle 24 sata (41). Kao što je potvrđeno u drugim studijama koje su proučavale aktivaciju PTX3, ekspresija PTX3 indukovana je putem aktivacije NF- κ B puta (47). Reperfuzija prethodno ishemičnog područja miokarda pokreće značajan inflamatorni odgovor i uključuje aktivaciju komplementa, stvaranje reaktivnih kiseoničnih jedinjenja (engl. *reactive oxygen species*, ROS) i proinflamatornih citokina, i aktivaciju neutrofila i VEC. Povećano oštećenje miokarda kod $ptx^{-/-}$ miševa udruženo je sa povišenim vrednostima proinflamatornog IL-6. Infarktom zahvaćeno područje nakon ishemije je bilo isto kod obe grupe miševa, a područje oštećenja nakon reperfuzije bilo je mnogo veće kod $ptx^{-/-}$ miševa u poređenju sa $ptx^{+/+}$ miševima, što ukazuje na to da PTX3 ne učestvuje u modulaciji veličine infarkta zahvaćenog ishemijom ali ima važnu ulogu u odbrani od reperfuzijom izazvanog oštećenja. Endotelne ćelije brzo podležu apoptozi tokom reperfuzije, pa smanjenje broja kapilara u reperfuzijom obuhvaćenom području kod $ptx^{-/-}$ miševa ukazuje na povećanu sklonost ka apoptozi kod PTX3-deficijentnih miševa. Broj infiltriranih neutrofila bio je veći kod $ptx^{-/-}$ nego kod $ptx^{+/+}$ miševa u nereperfuziranom području u odnosu na perfuzirano (41).

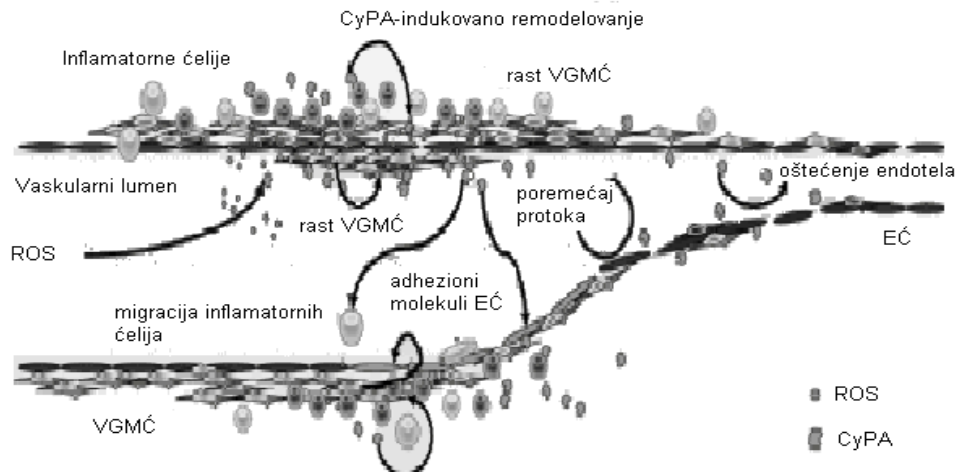
Akutna vaskularna povreda dovodi do porasta ekspresije PTX3, što je posebno uočljivo u AIM. PTX3 u AIM nije samo biomarker već verovatno predstavlja odgovor domaćina na povredu tkiva. PTX3 smanjuje veličinu infarkta i težinu okluzije koronarnih arterija na modelu miša (53). Parsa i sar. su objavili da je PTX3 u poređenju sa CRP specifičniji faktor za aterosklerozu i koronarnu vaskularnu inflamaciju i nezavisno je povezan sa progresijom ateroskleroze i KAB, i može da ima značajnu ulogu u trijaži visokorizičnih bolesnika sa AIM od onih sa manjim rizikom (61).

1.1.3. Ciklofilin A

Aterosklerozu je sporo progredirajući inflamatorni proces u arterijskom zidu, u koji su uključene intima, medija i adventicija (62). Nastanak ateroskleroze je iniciran aktivacijom endotelnih ćelija, što dovodi do ekspresije adhezivnih molekula za inflamatorne ćelije (63). Kritični trenutak u progresiji ateroskleroze je razvijanje oksidovanog okruženja zbog aktivacije makrofaga, koju pokreću oksidovani LDL-h (oxLDL) i drugi lipidi. Ove makrofage stvaraju velike količine ROS i sekretuju nekoliko faktora rasta koji učestvuju u progresiji ateroskleroze (64). Poznato je da oksidativni stres, pokrenut velikim količinama ROS, učestvuje u nastanku KAB (65). Oksidovano okruženje indukovano vaskularnom inflamacijom stvara začarani ciklus progresije bolesti (66). Osim toga, ROS indukuje sekreciju CyPA iz VGMĆ (67,68) a ekstracelularno CyPA indukuje ekspresiju adhezivnih molekula za endotelne ćelije i pokreće proliferaciju i migraciju vaskularnih GMĆ (VGMĆ) (Slika 2) (69-71). Smatra se da u aterosklerozi CyPA deluje proinflamatorno i proaterogeno (62).

Ciklofilini (peptidil-prolil cis-trans izomeraze, PPIaze) su subfamilija koja uključuje 18 izoenzima, a pripadaju porodici imunofilina; imaju ulogu u ubrzavanju savijanja proteinskog lanca u

trodimenzionalnu formu i učestvuju u stvaranju multiproteinske mreže. Izomerizacija prolina je proces koji igra ključnu ulogu u savijanju proteina i u regulaciji njihove funkcije. Različite familije enzima poznate kao PPIaze, katalizuju ovu reakciju, koja uključuje interkonverziju između *cis* i *trans* izomera N-terminalne amidne veze aminokiseline prolin. Međutim, kompletan opis mehanizama pomoću kojih ovi enzimi funkcionišu još uvek je nepoznat. Tokom ovog procesa, elektrostatičko polje na katalitičkom mestu okreće električni dipol koji je povezan sa karbonilnom grupom aminokiseline u supstratu koja prethodi prolinu, što dovodi do rotacije peptidne veze između dva ostatka (72).



Slika 2. CyPA je faktor rasta koji posreduje u rastu VGMĆ u uslovima oksidativnog stresa

Smanjen protok krvi povećava stvaranje ROS koji indukuju sekreciju CyPA. Sekretovani CyPA stimuliše proliferaciju VGMĆ, ekspresiju adhezionih molekula na EĆ i migraciju inflamatornih ćelija, dovodeći do vaskularnog remodelovanja

Skraćenice: CyPA-ciklofilin A; VGMĆ-vaskularne glatke mišićne ćelije; EĆ-endotelne ćelije; ROS-reaktivna kiseonična jedinjenja

(Izvor: Satoh K, Fukumoto Y, Sugimura K, Miura Y, Aoki T, Nochioka K, et al. Plasma cyclophilin A is a novel biomarker for coronary artery disease. *Circ J* 2013;77:447-455.)

CyPA je jedan od najzastupljenijih intracelularnih proteina (0,1% od svih proteina) iz familije ciklofilina, molekulske mase 20 kDa. Funkcioniše kao intraćelijski šaperon protein sa aktivnošću peptidil cis-trans prolin-izomeraze, i kao receptor visokog afiniteta prema imunosupresivu ciklosporinu (73). Iako se CyPA nalazi intracelularno, može se sekretovati iz ćelija u odgovoru na inflamatorne stimulse kao što su hipoksija, infekcija i oksidativni stres. Sekretovani CyPA posreduje u međućelijskoj komunikaciji kao autokrini ili parakrini faktor (74).

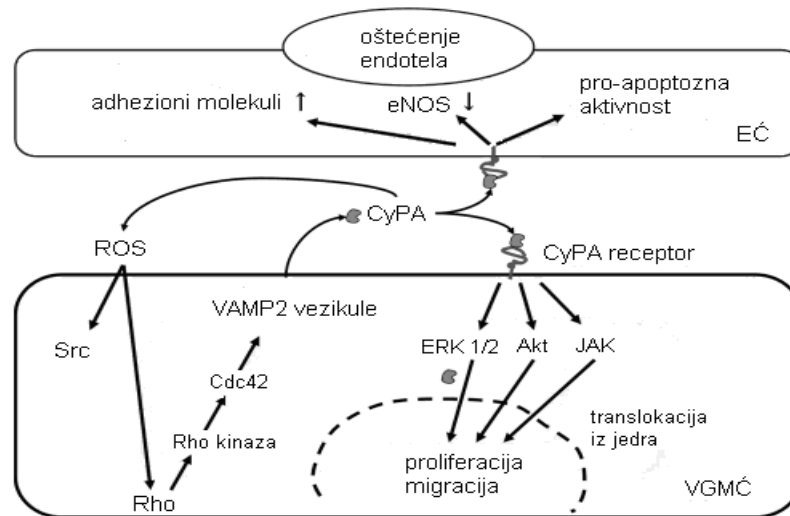
CyPA je identifikovan 1984. godine kao specifični intraćelijski vezujući protein za ciklosporin (CsA). Imunosupresivno delovanje CsA je posredovano kompleksom CsA-CyPA, koji blokira kalcineurinom posredovanu aktivaciju T-ćelija. Kalcineurin u fiziološkim uslovima uklanja fosfatnu grupu sa članova familije NFAT (engl. *nuclear factor from activated T-cells*), pri čemu defosforilacija dovodi do pomeranja NFAT u jedro gde ovaj faktor stimuliše ekspresiju gena za interleukin 2 (IL-2) i druge stimulatorne citokine. Posle vezivanja za CyPA, CsA inhibira kalcineurin čime je blokirana ekspresija citokina i sprečen imunski odgovor (75). CyPA-deficijentni miševi nisu osetljivi na imunosupresivno delovanje CsA (76).

Drugi inhibitorni efekat CsA na proliferaciju T-limfocita odvija se inhibicijom NF-κB aktivacije i posledičnim smanjenjem ekspresije IL-2. NF-κB je grupa multifunkcionalnih transkripcionih faktora koji regulišu ekspresiju gena uključenih u brojne aktivnosti ćelija. p65 (drugi naziv je RelA) je član familije NF-κB i čini jednu od subjedinica u NF-κB dimernom kompleksu. Postoji 5 ovakvih

proteina koji mogu da prave homo i heterodimere – na ovaj način se formira 15 različitih dimera, a dimer p65 i p50 su najčešće zastupljeni. Uočeno je da su aminokiselinski ostaci na položaju 170-176 na p65/RelA molekulu funkcionalno vezujuće mesto za CyPA što ukazuje na ulogu CyPA u modulaciji aktivacije NF- κ B (77). Osim već poznate uloge koju ovaj faktor ima u održavanju homeostaze tkiva, imunitetu i inflamaciji, poremećaj regulacije NF- κ B signalnog puta povezan je sa razvojem maligniteta, dijabetesa, ateroskleroze. NF- κ B ima pozitivan uticaj na regulaciju genske ekspresije, dok grupa inhibitornih proteina κ B familije (I κ B) ima negativan uticaj (77).

CyPA je primarno intraćelijski protein, prisutan kod sisara u velikim količinama u skoro svim ćelijama. Različiti tipovi ćelija mogu da sekretuju CyPA u ekstraćelijski prostor. Makrofage oslobađaju CyPA posle stimulacije LPS-om ili visokim koncentracijama glukoze, ili pri stvaranju penastih ćelija. Oslobađanje CyPA iz VGMĆ u velikoj meri učestvuje u patofiziologiji vaskularne inflamacije u razvoju aneurizme abdominalne aorte (AAA), vaskularnoj restenozi i aterosklerozi. Aktivirani trombociti, kao i hipoksični kardiomiociti mogu da sekretuju CyPA. Smatra se da je za sekreciju CyPA iz VGMĆ u ekstraćelijski prostor neophodno da dođe do acetilacije CyPA, kao i da acetilovani CyPA ima izraženije proinflamatorne osobine od nemodifikovanog (75). Sekrecija CyPA regulisana je putem Rho-kinaznog puta, koji je uključen u inflamatorne procese, vaskularnu kontrakciju i razvoj ateroskleroze (78,79).

Tokom inflamatornog procesa i u odgovoru na oksidativni stres, CyPA se oslobađa iz VGMĆ i stimuliše proliferaciju VGMĆ i migraciju inflamatornih ćelija *in vitro* i *in vivo* (78) (Slika 3).



Slika 3. Mehanizam sekrecije CyPA indukovane ROS i autokrino/parakrinog signala rasta u VGMĆ

Sekrecija CyPA indukovana ROS zahteva aktivan proces koji uključuje formiranje vezikula, transport vezikula kroz plazma membranu i fuziju (za šta je neophodno remodelovanje aktinskog citoskeleta). Rho kinaza učestvuje u remodelovanju aktina. Sekretovani ekstracelularni CyPA aktivira ERK1/2 (engl. extracellular-signal-regulated kinase 1/2), aktin i JAK na autokrini/parakrini način, što stimuliše proliferaciju i migraciju VGMĆ. Sa druge strane, ekstraćelijski CyPA aktivira ERK1/2, JAK i p38 i pokreće ekspresiju adhezionih molekula uključujući VCAM-1.

Skraćenice: eNOS-endotelna azot oksid sintaza; EĆ-endotelna ćelija; CyPA-ciklofilin A; ROS-reaktivna kiseonična jedinjenja; VGMĆ-vaskularne glatke mišićne ćelije; JAK-Janus kinaza

(Izvor: Satoh K, Fukumoto Y, Sugimura K, Miura Y, Aoki T, Nochioka K., et al. Plasma cyclophilin A is a novel biomarker for coronary artery disease. *Circ J* 2013;77:447-455.)

I intra kao i ekstracelularna forma CyPA uključene su u patološke procese i učestvuju u inflamaciji i aterosklerozi pokretanjem apoptoze endotelnih ćelija i ekspresije adhezionih molekula za leukocite na endotelnim ćelijama, stimulacijom migracije leukocita, pojačavanjem odgovora T-helper ćelija tipa 1, stimulacijom proliferacije makrofaga i VGMĆ, i pojačavanjem proinflatorne transdukcije signala u VGMĆ (80). U uslovima inflamacije, CyPA se sekretuje iz ćelija i ponaša se kao autokrini i parakrini faktor koji pospešuje oksidativni stres i inflamaciju (74). CyPA je i važan medijator hipertrofije miokarda izazvane angiotenzinom II (81).

Fiziološke i patološke aktivnosti CyPA ostvaruje zajedno sa svojim ekstracelularnim receptorom, receptor ekstraćelijskog induktora matriks-metaloproteinaza CD147 (engl. *extracellular matrix metalloproteinase inducer*, EMMPRIN). Osim toga, pokazano je da su CyPA ili njegov receptor povezani sa inflamacijom, kao i koronarnom ishemijom i remodelovanjem (82). Moguće je da CyPA/EMMPRIN put aktivacije igra ulogu u povećanju osetljivosti aterosklerotskog plaka (83).

Ekstraćelijski CyPA predstavlja jak hemotaktički faktor za leukocite (T-limfocite, monocite, neutrofilne i eozinofilne granulocite). Smatra se da CyPA indukuje hemotaksu i prenos signala na dva načina: ekstraćelijski vezivanjem za EMMPRIN, ili pomoću PPI-azne aktivnosti. EMMPRIN je okarakterisan kao regulator MMPs na tumorskim ćelijama koji je suštinski uključen u nastanak metastaza i invazije tumora. Osim na tumorskim ćelijama i fibroblastima tumora, EMMPRIN je eksprimiran i na kardiovaskularnim ćelijama. Signalni put koji se odvija preko EMMPRIN receptora uključuje aktivaciju NF-κB (75).

Satoh i sar. (71) su prvi dali *in vivo* dokaz o značaju CyPA u KVB: posle ligacije karotida, hiperplazija intime i medije je bila značajno smanjena kod CyPA-deficijentnih miševa, a smatra se da je ovo smanjenje posledica smanjene proliferacije VGMĆ i smanjenog nakupljanja inflamatornih ćelija u vaskularnom zidu. Ista grupa autora je tretirala *apoE*^{-/-} i *cypA*^{-/-} duplo deficijentne miševе angiotenzinom II. Dok su *apoE*^{-/-}*cypA*^{+/+} miševi razvili AAA, *apoE*^{-/-}*cypA*^{-/-} miševi su bili potpuno zaštićeni od razvoja aneurizme. U ovom modelu je glavni mehanizam pripisan inflamatornoj aktivnosti CyPA oslobođenom iz VGMĆ, pri čemu angiotenzin II indukuje stvarnje ROS i aktivaciju MMPs putem CyPA-zavisnog puta, dovodeći do AAA. Osim toga, u nedostatku CyPA bila je znatno smanjena ekspresija inflamatornih citokina kao što je IL-6 i nakupljanje inflamatornih ćelija u vaskularnom zidu (75). Na modelu ishemijsko-reperfuzione povrede kod CyPA-deficijentnih miševa pokazano je smanjenje veličine infarkta, povećanje ejakcione frakcije, kao i smanjeno nakupljanje neutrofila i monocita (84).

Aterosklerozi karakteriše hronična inflamacija u arterijskom zidu, a CyPA ima važnu ulogu u nekoliko faza aterosklerotskog procesa. U ranoj fazi razvoja, CyPA je uključen u regulaciju stvaranja masne pruge, a kasnije posredstvom MMPs utiče na nastanak rupture plaka i tromboze kao komplikacije ateroskleroze (74). CyPA i EMMPRIN su histopatološki identifikovani u aterosklerotskim lezijama, gde su lokalizovani pored infiltriranih monocita i makrofaga. Interakcija CyPA/EMMPRIN reguliše ekspresiju MMP9, MT1-MMP (engl. *membrane type 1-MMP*) i M-CSF (engl. *macrophage colony-stimulating factor*) u modelu stvaranja penastih ćelija. Kod *apoE*^{-/-}*cypA*^{-/-} deficijentnih miševa, smanjenje aterosklerotskih lezija udruženo je sa smanjenim prisustvom inflamatornih ćelija, što ukazuje na značaj CyPA kao hemotaktičkog agensa (75). Nigro i sar. su takođe pokazali da je na modelu ateroskleroze izazavane kod miševa sa deficijencijom CyPA smanjena veličina aterosklerotske lezije (84). Smatra se da postoji pet patofizioloških mehanizama kojima vaskularni CyPA pospešuje razvoj ateroskleroze:

- CyPA povećava preuzimanje LDL-h u vaskularni zid tako što reguliše ekspresiju *scavenger* receptora;
- povećanjem ekspresije adhezionog molekula vaskularnih ćelija (engl. *vascular cell adhesion molecule*, VCAM-1) CyPA izaziva aktivaciju endotelnih ćelija i inflamaciju;

- supresijom transkripcije *Kruppel-like faktora 2* (KLF2), CyPA smanjuje ekspresiju endotelne azot oksid sintaze (eNOS);
- CyPA je ključni faktor za apoptozu endotelnih ćelija izazvanu TNF α -om;
- CyPA stimuliše nakupljanje inflamatornih ćelija poreklom iz koštane srži u zidu aorte.

Svi ovi mehanizmi, zbog stvaranja oskidovanog okruženja, mogu da učestvuju u nastajanju ateroskleroze kod *apoE^{-/-}cypA^{+/+}* miševa (74).

Izgleda da i ekstra- i intraćelijski CyPA imaju ulogu u aterosklerozi: kod CyPA-deficijentnih miševa, smanjeno je preuzimanje LDL-h u vaskularne ćelije. *In vivo*, endotelne ćelije u nedostatku CyPA imaju smanjenu ekspresiju VCAM-1. Eksperimenti na HUVEC ćelijama su pokazali da se smanjeno stvaranje eNOS pod uticajem CyPA odvija posredstvom smanjenja ekspresije KLF2 i suzbijanja transkripcije eNOS. Osim toga, endotelne ćelije kojima nedostaje CyPA su mnogo otpornije prema apoptozi indukovanoj pomoću TNF α (74).

Inkubacija trombocita sa monocitima dovodi do indukcije inflamatornih citokina (IL-6 i TNF α) posredstvom NF-kB puta a preko EMMPRIN receptora. Smatra se da kod bolesnika sa KAB ekspresija EMMPRIN receptora na trombocitima korelira sa težinom koronarne bolesti, dok je intraćelijski CyPA u trombocitima uključen u funkcije trombocita (75). Nedostatak CyPA remeti mobilizaciju i ulazak Ca²⁺ u ćelije što dalje uzrokuje defekt u aktivaciji trombocita i poremećaj stvaranja tromba u uslovima protoka *in vitro*, a štiti od arterijske tromboze *in vivo* (85).

Intraćelijski CyPA igra važnu ulogu u translokaciji enzima NADPH oksidaze (Nox) koji učestvuje u proliferaciji VGMĆ. Pošto stvaranje ROS putem Nox aktivira druge sisteme oksidaza, CyPA i Nox amplifikuju stvaranje ROS na sinergistički način. Ekstracelularni CyPA smanjuje ekspresiju eNOS i remeti endotelnu funkciju posredstvom Rho-kinaznog puta. Statini i selektivni inhibitori Rho-kinaze blokiraju sekreciju CyPA iz VGMĆ (66). CyPA je predložen kao marker za KAB, arterijsku hipertenziju i dijabetes melitus tip II (86).

1.1.3.1. Uloga CyPA u akutnom infarktu miokarda

Bolesnici sa AKS imaju visoke koncentracije CyPA u plazmi, a CyPA je eksprimiran u aterosklerotskim plakovima bolesnika sa AIM, i to u regionu odmah pored tanke fibrozne kape, odnosno na mestima nestabilnih plakova (78). Kod AIM na modelu zeca, koncentracija CyPA u zidu leve komore je ushodno regulisana, a primena ACE inhibitora ramiprila izaziva povećanje aktivnosti antioksidativnih enzima, što rezultuje značajnim smanjenjem koncentracije CyPA u levoj komori, značajnim popravljanjem ejekcione frakcije leve komore (engl. *left ventricular ejection fraction*, LVEF) i značajnim smanjenjem remodelovanja leve komore (87). Osim toga, na životinjskom modelu je pokazano da prekid CyPA/EMMPRIN puta dovodi do smanjenja veličine infarkta i očuvanja sistolne funkcije posle ishemije i reperfuzije miokarda (38). Ovi rezultati ukazuju na to da održavanje povišene koncentracije CyPA u srčanom tkivu posle AIM može biti biomarker remodelovanja leve komore i oštećene sistolne funkcije. Plazmatski CyPA se sekretuje iz monocita i ćelija vaslularnog zida u odgovoru na oksidativni stres i inflamaciju, ali može biti sekretovan ili ispušten iz oštećenih kardiomiocita i intersticijalnih fibroblasta (82). Konstantno povišena koncentracija CyPA u plazmi bolesnika posle STEMI može da ukaže na proinflamatorno i stanje povećanog oksidativnog stresa. Međutim, ne zna se da li povišena koncentracija CyPA u plazmi posle AIM utiče na rad leve komore (79).

Oštećenje izazvanom ishemijom i reperfuzijom karakteriše se jakim inflamatornim odgovorom sa nakupljanjem leukocita, indukovanjem složene mreže inflamatornih hemokina i stvaranjem MMPs (88). Optimalan oporavak zahteva izbalansiran promet ekstracelularnog matriksa posredovan MMPs (89), a neadekvatna aktivnost MMPs pokreće snažan proces remodelovanja koji dovodi do fibroze i

rupture srca (90,91). Eksperimentalni i klinički dokazi ukazuju na to da aktivnost MMPs može da reguliše i predvidi remodelovanje (92,93). CyPA i njegov receptor EMMPRIN predstavljaju par ligand/receptor koji reguliše kako nakupljanje leukocita, tako i aktivnost MMPs (94-96).

Tokom AMI, ROS se generišu u ishemičnom miokardu, naročito nakon reperfuzije. Osnovu ovog mehanizma predstavljaju inflamatorni citokini kao što je IL-6 koji se stvara u ishemičnom regionu i okolnom miokardu kao reakcija domaćina, a koji povratno stimuliše proizvodnju ROS. CyPA igra ključnu i sinergističku ulogu u povećanju stvaranja ROS (79).

Kod bolesnika sa AIM monociti imaju povećanu ekspresiju EMMPRIN receptora na svojoj površini, što govori o ulozi EMMPRIN receptora u nestabilnosti plaka. Postoje rezultati koji govore o tome da davanje CsA, inhibitora CyPA, smanjuje veličinu infarkta kod bolesnika sa AIM; bolesnici kojima je dat CsA imali su znatno manje vrednosti troponina i kreatin kinaze u odnosu na pacijente kojima nije dat CsA. Fibroblasti u miokardu kojima nedostaje CyPA imaju smanjenu produkciju ROS. Kod bolesnika sa inflamatornim kardiomiopatijama je zabeležena ushodna regulacija EMMPRIN receptora i ekspresije CyPA u miokardu, što ukazuje na značaj ova dva proteina kao biomarkera u inflamatornim kardiomiopatijama (75).

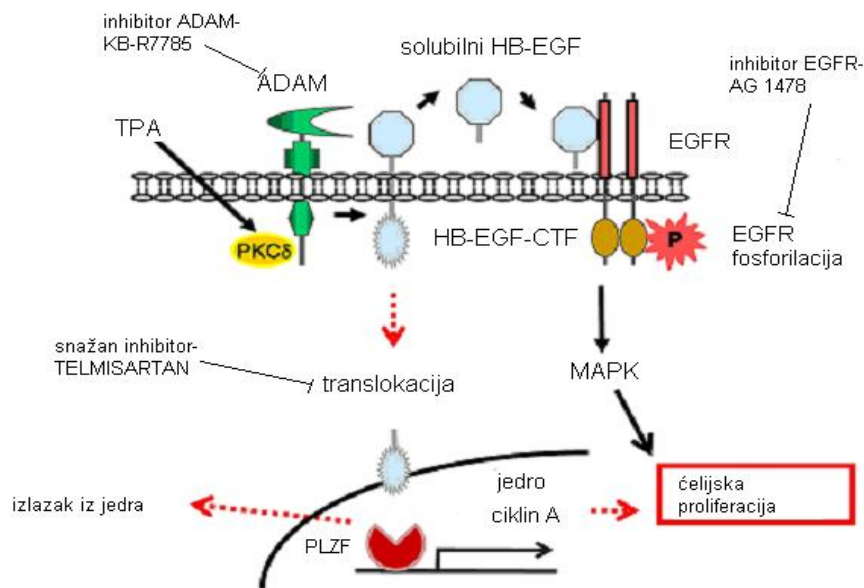
1.1.4. Heparin-vezujući epidermalni faktor rasta

HB-EGF je glikoprotein sastavljen od 87 aminokiselina koji je otkriven 1991. godine kao član familije epidermalnih faktora rasta. Ekspimiraju ga mnoge ćelije uključujući endotelne ćelije, makrofage, GMC (97,98). Pokazuje veliki afinitet za heparin i heparan-sulfat (99). Sintetiše se kao transmembranski prekursor tipa I proHB-EGF, veličine 22 kDa koji je sačinjen od propeptida, heparin-vezujućeg, EGF-sličnog, jukstamembranskog, transmembranskog i citoplazmatskog domena (99,100).

ProHB-EGF ekspimiran na površini ćelija je biološki aktivan kao jukstakrini faktor rasta koji šalje signale okolnim ćelijama direktnim međućelijskim kontaktom. Kada ćelije budu podvrgnute određenom ekstracelularnom stimulusu, od proHB-EGF se cepa jukstamembranski domen i odvaja u formi solubilnog HB-EGF (100). Ovo proteolitičko odvajanje dešava se uz pomoć MMPs - primarno 3 i 7, kao i metaloproteinaze ADAM17 (engl. *A Disintegrin And Metallproteinase-17*) koja se naziva još i TNF α -konvertujući enzim (TACE, engl. *TNF α converting enzyme*) (101-104). Pored solubilnog HB-EGF, proteolitičkim cepanjem proHB-EGF nastaje i karboksi-terminalni fragment HB-EGF-CTF (engl. *HB-EGF-carboxi terminal fragment*) sastavljen od transmembranskog i citoplazmatskog domena (100). Solubilni HB-EGF je potentan mitogen i hemoatraktant za različite tipove ćelija (101). HB-EGF smanjuje stvaranje ROS *in vitro*, odnosno ima citoprotektivnu ulogu (105). Nasuprot solubilnom HB-EGF, proHB-EGF ima negativan uticaj na ćelijsku proliferaciju (101). HB-EGF je ekspimiran u različitim tkivima - u plućima, srcu, mozgu, skeletnim mišićima (106).

Efekte faktora HB-EGF posredovani su EGF receptorima (EGFR, engl. *epidermal growth factor receptor*) (100). EGFR pripadaju ErbB familiji tirozin kinaznih receptora, i sastavljeni su od ekstracelularnog domena za koji se vezuje ligand, jednog transmembranskog domena oblika α -heliksa, intracelularnog tirozin kinaznog domena, i karboksi (C)-terminalnog regiona koji sadrži mesta autofosforilacije (101). HB-EGF se direktno vezuje i aktivira ErbB1 (EGFR, HER1), a indirektno stvarajući heterodimer sa ErbB1 aktivira i ErbB2 (HER2), ErbB3 (HER3) i ErbB4 (HER4) (100,103,107). Kada se veže ligand, EGFR prelazi iz forme inaktivnog monomera u aktivni homodimer ili heterodimer sa ostalim članovima ErbB familije. Dimerizacija EGFR stimuliše njegovu intracelularnu tirozin kinaznu aktivnost, što dovodi do autofosforilacije nekoliko tirozinskih ostataka na C-terminalnom domenu EGFR; kao posledica toga, pokreće se aktivacija drugih signalnih proteina, uključujući MAPK (engl. *mitogen-activated protein kinase*) i PI3K. Na ovaj način EGFR se ponaša kao signalni centar koji je uključen u međusobno povezivanje brojnih signalnih puteva. HB-EGF pokreće

proliferaciju VGMC aktivacijom PI3K/Akt i MAPK puta, a poznato je da je proliferacija VGMC uključena u brojne patološke procese, kao što su ateroskleroza, hipertenzija i restenoza. Osim toga, postoje dokazi i da je JAK-STAT (engl. *Janus kinase/signal transducers and activators of transcription*) mehanizam takođe uključen u pokretanje proliferacije VGMC posredstvom HB-EGF (106). Smatra se da je zbog interakcije sa heparan sulfatom na površini ćelija potentniji od EGF i TNF α u stimulaciji proliferacije i migracije GMC (97). Poznato je da tretiranje arterijskih stenoza angioplastikom i/ili implantacijom stenta može dovesti do restenoze. Primena antitela koja blokiraju EGFR inhibira proliferaciju VGMC i hiperplaziju intime nakon balon povrede na modelu restenoze kod životinja. Angiotenzin II aktivira EGFR indukujući proteolizu proHB-EGF pomoću ADAM17; ovo dalje dovodi hipertrofije, migracije i proliferacije VGMC (101).



Slika 4. Dvojni signalni put fosforilacije receptora EGFR i nukleusne translokacije C-terminalnog fragmenta (CTF) HB-EGF tokom ćelijske proliferacije

IL-8 i TPA indukuju cepanje proHB-EGF posredovano ADAM, što rezultuje ektodomenskim premeštanjem NTF i nastajanjem intraćelijskog CTF. Solubilni HB-EGF vezuje se za EGFR i indukuje brzu i nepostojanu fosforilaciju EGFR. Ova fosforilacija rezultuje transkripcijom različitih gena. U međuvremenu dolazi do translokacije HB-EGF-CTF u nukleus, gde CTF zatim indukuje izlazak PLZF (engl. promyelocytic leukemia zinc finger). Ovo rezultuje progresijom ćelijskog ciklusa. Inhibitori AT-IR kao telmisartan su predloženi kao blokatori nukleusne translokacije HB-EGF-CTF

Skracenice: EGFR - receptor epidermalnog faktora rasta; TPA - 12- O-tetradekanoilforbol-13-acetate; PKC δ - protein kinaza C δ ; ADAM - a disintegrin and metalloproteinase; HB-EGF - heparin-vezujući epidermalni faktor ratar; CTF - C-terminalni fragment; MAPK - mitogen-aktivirana protein kinaza; PLZF - promyelocytic leukemia zinc finger; AT-IR – receptor za angiotenzin 1

(Izvor: Tanida S, Ozeki K, Mizoshita T, Tsukamoto H, et al. Potential of new anti-cancer agents targeting the nuclear translocation signaling of HB-EGF C-terminal fragments during the development of colitis-associated cancer. Adv Bioscie Biotech 2013; 4. doi:10.4236/abb.2013.48A2004)

1.1.4.1. Uloga HB-EGF u angiogenezi i arteriogenezi

HB-EGF stimuliše angiogenezu *in vitro* u kulturi HUVEC (98,101). Azotmonoksid (NO) nastao delovanjem eNOS ima važnu regulatornu ulogu u održavanju vazomotornog tonusa i angiogenezi. Aktivacija eNOS regulisana je ne samo Ca^{2+} -zavisno, već i Ca^{2+} -nezavisnim putem, uključujući fosforilaciju na ostacima serina, treonina i tirozina. Mehta i sar su pokazali da HB-EGF ostvaruje dva efekta na eNOS: sa jedne strane značajno povećava ekspresiju eNOS iRNK, stimuliše stvaranje eNOS i povećava oslobađanje NO iz HUVEC, a sa druge vrši fosforilaciju i aktivaciju eNOS i sledstveno oslobađanje NO posredstvom PI3K/Akt puta. Iako eNOS fosforilišu i aktiviraju brojne kinaze, čini se da PI3K/Akt-zavisna fosforilacija eNOS igra ključnu ulogu u angiogenezi, odnosno PI3K/Akt-eNOS osa signalizacije kontroliše angiogenezu tako što reguliše protok krvi i reparaciju tkiva. Smata se da je aktivacija eNOS jedan od ključnih signalnih puteva neophodnih za angiogenezu posredovanu HB-EGF. Osim toga, pomenuti autori su našli i da inhibicija MAPK puta povećava migraciju endotelnih ćelija i angiogenezu posredovanu HB-EGF (98). Sa druge strane, Jin i sar. su utvrdili da HB-EGF izaziva nishodnu regulaciju inducibilne NO sintaze (iNOS) što dovodi do smanjenog stvaranja ROS, i na taj način ispoljava protektivnu ulogu (108), pošto je poznato da tokom akutne faze AIM u reakciji na oksidativni stres postoji povećana aktivnost iNOS (109).

Angiogeneza i arteriogeneza se javljaju kod odraslih kao adaptivni odgovori na ishemijske vaskularne bolesti. Arteriogeneza predstavlja ekspanziju ili nastajanje anastomoza između arteriola susednih arterijskih tokova pri čemu nastaju kolaterale velikih promera, a javljaju se posle kritičnog suženja ili okluzije glavne arterije koja snabdeva određeno područje. Arteriogeneza je udružena sa akumulacijom leukocita i T-limfocita oko rastućih kolaterala, što je praćeno proliferacijom ćelija vaskularnog zida, širenjem lumena i zadebljanjem zida (110). Kod miševa deficitarnih u HB-EGF javlja se abnormalnost u razvoju valvula usled prekomerne proliferacije ćelija mezenhima, što ukazuje na to da solubilna forma HB-EGF deluje kao inhibicioni faktor rasta za ćelije mezenhima (99). Deformiteti u razvoju valvula dovode do njihove stenozе i hipertrofije srca koja progredira do srčane slabosti (103). Osim toga, kod miševa deficitarnih u HB-EGF smanjeno je preživljavanje i usled manjeg broja plućnih alveola i povećane količine intersticijalnog tkiva u plućima. HB-EGF takođe učestvuje u post-ishemijskoj regeneraciji tkiva (110).

1.1.4.2. Uloga HB-EGF u regulaciji proliferacije ćelija

HB-EGF ispoljava mitogeni i hemotaktički efekat na GMC, fibroblaste i epitelne ćelije, kao i antiapoptotsku aktivnost u uslovima hipoksije i oksidativnog stresa (110), a nema mitogeni efekat na endotelne ćelije. Ekspimiraju ga T-limfociti, makrofage, endotelne ćelije i GMC. Važan je u vaskulogenezi i pojačano ga ekspimiraju medijalne GMC kod neonatusa i dece. Takođe, pojačano je ekspimiran u proliferišućim GMC neointime posle balon povrede karotida kod pacova. U koronarnim arterijama zdravih odraslih osoba, ekspresija HB-EGF u medijalnim GMC je niska, a povećana ekspresija se javlja u GMC i makrofagama aterosklerotskih plakova. Lokalizacija HB-EGF unutar plaka ukazuje na ulogu ovog molekula u stimulaciji migracije i proliferacije GMC kao i na interakciju GMC i makrofaga tokom aterogeneze (97).

Povećano stvaranje HB-EGF zabeleženo je u nekoliko fizioloških i patoloških stanja - kod razvoja i održavanja homeostaze srca, regenerativnih procesa u jetri, bubrezima i tankom crevu, zarastanja rana na koži, plućne hipertenzije, srčane hipertrofije, hiperplazije GMC, rasta aterosklerotskog plaka, rasta tumora (107,111), kao i u procesu ateroskleroze (112). Kako HB-EGF učestvuje u razvoju više tipova karcinoma, pokazano je da davanje inhibitora HB-EGF može da inhibira rast i metastaze malignih ćelija (112).

1.1.4.3. Uloga HB-EGF u metabolizmu lipida

Smatra se da je HB-EGF preko EGFR signalnog puta važan pozitivni regulator stvaranja lipoproteina vrlo male gustine (VLDL) u jetri. Injekcija rekombinantnog HB-EGF povećava stvaranje VLDL u jetri, ali sam mehanizam ovog procesa nije još uvek u potpunosti utvrđen. Stvaranje VLDL u hepatocitima je proces koji uključuje lipidne supstrate – holesterol, trigliceride i fosfolipide, ekspresiju i funkciju apoB i mikrozomalni transportni protein za trigliceride (MTP). Istraživanja su pokazala da je najznačajni faktor u ovom procesu količina raspoloživih lipidnih supstrata. Kim i sar. su u svojoj eksperimentalnoj studiji utvrdili da davanje inhibitora HB-EGF miševima dovodi do smanjenja koncentracije lipidnih supstrata u jetri i do smanjenog stvaranja lipidnih kapljica u hepatocitima, odnosno da ciljano delovanje inhibitora na HB-EGF izaziva usporavanje mobilizacije lipidnih supstrata iz citozolnih lipidnih kapi u hepatocitima a time i smanjenje raspoloživosti lipidnih supstrata, što dovodi do supresije stvaranja VLDL čestica i smanjenja nivoa cirkulišućih lipida (112).

Poznato je da je hiperlipidemija zajednički faktor rizika za razvoj trbušne i grudne aortne aneurizme. Pokazano je da davanje blokatora HB-EGF suprimira ekspresiju ovog markera, što, usled efikasnog smanjenja koncentracije lipida, može da učestvuje u zaštiti od razvoja oba tipa aneurizme (112).

1.1.4.4. Uloga HB-EGF u akutnom infarktu miokarda

Kao što je već navedeno, poznato je da većina akutnih kardiovaskularnih događaja, uključujući AIM, nastaje kao posledica ruptуре aterosklerotskog plaka. Vulnerabilne plakove, tj plakove sklone odvajanju, karakteriše inflamacija, veliki ekstraćelijski depozit lipida, nekroza, smanjen broj GMĆ i smanjen sadržaj konektivnih tkivnih proteina. Makrofage infiltrirane u plaku oslobađaju MMPs koje razgrađuju fibroznu kapu usled čega dolazi do inflamacije. U takvim uslovima a da bi se održao integritet fibrozne kape, neophodno je pojačanje proliferacije GMĆ i sinteze ekstraćelijskog matriksa. Epidermalni faktor rasta (EGF, engl. *epidermal growth factor*), HB-EGF i trombocitni faktor rasta-B (PDGF, engl. *platelet-derived growth factor*) su tri najvažnija faktora koji stimulišu proliferaciju GMĆ i sintezu ekstraćelijskog matriksa (97). HB-EGF igra važnu ulogu u migraciji GMĆ iz medije u intimu, proliferaciji GMĆ i interakciji između GMĆ i makrofaga u procesu koronarne aterogeneze. Broj GMĆ koje ekspimiraju HB-EGF u miokardu veći je u infarktomb nezahvaćenom regiji što ukazuje na to da HB-EGF ima važnu ulogu tokom procesa inicijacije i progresije aterosklerotske lezije. Spekuliše se da u koronarnim arterijama aktivirane medijalne GMĆ počnu da stvaraju HB-EGF koji dalje pokreće migraciju i proliferaciju GMĆ, a kada je proces ateroskleroze u uznapredovaloj fazi, procenat GMĆ koje stvaraju HB-EGF počinje da opada (113).

Neke studije su pokazale da je povećana ekspresija HB-EGF u krvnim sudovima povezana sa većim rizikom za razvoj KVB, a koncentracija HB-EGF u cirkulaciji kod ljudi korelira sa koncentracijom ukupnog holesterola i povećanim rizikom za razvoj KAB (112,114). Ushikoshi i sar. su uočili da prekomerna ekspresija HB-EGF u lezijama infarktomb zahvaćenog miokarda u kulturi mišjih kardiomiocita ne dovodi do povoljnog ili terapijskog ishoda, već pogoršava proces remodelovanja putem aktivacije određenih tipova nekardiomiocita u subakutnim i hroničnim fazama nakon AIM, i to stimulacijom apoptoze, fibroze i akumulacije fibroblasta i makrofaga u području zahvaćenom infarktomb, kao i indukcije hipertrofije leve komore (40).

Zhang i sar. su ukazali na to da HB-EGF ima glavnu ulogu u hipertrofičnom remodelovanju izazvanom smanjenim protokom krvi kroz karotidne arterije kod miševa. Vaskularno remodelovanje se pokreće i usmerava signalima iz vaskularnog zida u odgovoru na promene u pritisku i protoku. Proliferacija i remodelovanje izazvani promenama u protoku su važni tokom razvoja ateroskleroze,

hiperplazije intime, restenoze i odbacivanju bajpas grafta. Smanjen protok indukuje sintezu proHB-EGF u kulturi endotelnih ćelija i kod aneurizmi *in vivo*. Dugotrajno stanje smanjenog protoka krvi aktivira ili povećava neke od faktora uključene u signalni put HB-EGF: ROS, ekspresiju proHB-EGF, EGFR, transkripcioni faktor NF-κB. Ove promene se dovode u vezu sa proliferacijom i većim nakupljanjem leukocita, zadebljanjem vaskularnog zida i smanjenjem lumena krvnog suda. Pokazano je i da HB-EGF pokreće akumulaciju makrofaga u ishemičnom srcu, tako da oslobađanje HB-EGF iz ćelija u vaskularnom zidu verovatno učestvuje u nakupljanju inflamatornih ćelija koje dalje lokalno povećavaju aktivnost HB-EGF (103).

Bolesnici sa ozbiljnom KAB imaju povećane vrednosti HB-EGF u plazmi (97). Pokazano je i da je transkripcioni nivo HB-EGF povećan 12 puta unutar 2h od balon povrede, i 3 puta čak i nakon 14 dana od povrede (115). Osim toga, HB-EGF iRNK je veoma eksprimirana u humanom adipoznom tkivu, a koncentracija HB-EGF raste paralelno sa povećanjem debljine kod ljudi. Smatra se da HB-EGF ima ulogu adipocitokina koji direktno povezuje adipozno i vaskularno tkivo (116). Poznato je da je HB-EGF efektor sinteze proteina u kardiomiocitima. Kada su kardiomiociti stimulisani, aktiviraju se metaloproteinaze dovodeći do proteolize proHB-EGF, što rezultuje aktivacijom EGFR i izazivanjem hipertrofije miokarda. Hipertrofija miokarda je adaptivni odgovor koji se javlja u brojnim KVB (100). HB-EGF sekretovan iz kardiomiocita dovodi do rasta ćelija i smanjenja ekspresije glavnog proteina međućelijskih spojnica srčanih komora koneksina 43. Lokalni prekid u međućelijskim spojnica može biti deo hipertrofičnog odgovora komora izazvanog HB-EGF, što za posledicu može imati poremećaj prenosa električnih impulsa između kardiomiocita (117).

Inflamatorni citokini, kao što su TNFα i IL-1β, aktiviraju transkripciju HB-EGF (118). Osim toga, oxLDL indukuje ekspresiju HB-EGF, a HB-EGF povećava ekspresiju receptora za oxLDL (103). Lizofosfatidilholin je glavna komponenta oxLDL koja povećava ekspresiju HB-EGF iRNK i stvaranje ovog proteina u kulturi makrofaga i GMC, a predstavlja proinflamatorni fosfolipid koji se stvara u aterosklerotskim plakovima kao rezultat delovanja lipoproteinske fosfolipaze 2 na oxLDL (119). Utvrđeno je da je HB-EGF značajno eksprimiran u VGMC i makrofagima u aterosklerotskim plakovima. Lee i sar su u svojoj studiji utvrdili da HB-EGF povećava transkripciju IL-6, a poznato je da IL-6 ima značajnu ulogu u razvoju ateroskleroze i koronarne restenoze. Osim toga, pokazano je da HB-EGF povećava gensku ekspresiju i sekreciju IL-6 iz VGMC posredstvom NF-κB puta (106).

1.2. Oksidativni stres

Eukariotske ćelije koriste kiseonik za metaboličke procese i proizvodnju energije u mitohondrijama, a stvaranje slobodnih radikala je neizbežna posledica ćelijskog disanja. Pod fiziološkim uslovima, postoji stalna endogena proizvodnja reaktivnih slobodnih radikala u vidu kiseoničnih (ROS) i azotnih (RNS, *engl. reactive nitrogen species*) intermedijera koji deluju kao signalni molekuli u fiziološkim procesima. Ukoliko se ove kiseonične i azotne grupe ne uklone pomoću antioksidanasa, ili se proizvode u višku, javlja se oksidativni stres koji karakteriše disbalans između nivoa slobodnih radikala i antioksidanasa. U biološkim sistemima su razvijeni mehanizmi za uklanjanje reaktivnih ROS i RNS, a u koje su uključeni glutation, vitamini A, C i E, enzimi katalaza, superoksid dismutaza, i razne peroksidaze. Nedovoljna količina antioksidanasa, kao i inhibicija antioksidativnih enzima, takođe pospešuju oksidativni stres (120).

Oksidativni stres može da dovede do oštećenja različitih biomolekula i organela, i ovaj proces je direktno povezan sa inflamacijom. Proinflamatorne ćelije sekretuju veliki broj citokina i hemokina koji su odgovorni za stvaranje ROS i RNS u fagocitnim i nefagocitnim ćelijama (120). ROS su uključeni u brojne procese intraćelijske transdukcije signala, i aktiviraju serin-treonin i tirozin kinaze koje su glavni regulatorni proteini signalnih puteva uključenih u ćelijski rast, apoptozu, preživljavanje,

migraciju i starenje (102). Sa druge strane, i oksidativni stres je odgovoran za održavanje hronične inflamacije.

ROS, posebno oni poreklom iz mitohondrija, stimulišu aktivaciju signalnih molekula kao što je transkripcioni faktor NF- κ B, koji dovodi do ushodne regulacije u stvaranju inflamatornih citokina kao što su IL-1 β ili TNF- α , i drugih medijatora, kao što je iNOS ili ciklooksigenaza 2 (COX-2). NF- κ B se aktivira preko membranskih receptora koji su povezani sa oksidativnim stresom i inflamacijom, a to su TLR-4. Određeni antioksidansi regulišu aktivnost ovih receptora i tako inhibiraju proces inflamacije (120). ROS aktiviraju NF- κ B preko ASK1 (engl. *apoptosis signal-regulating kinase 1*), a aktivacija NF- κ B dovodi do stvaranja TNF α . TNF α može takođe da generiše ROS koji dalje aktiviraju NF- κ B. Aktivacija transkripcionih faktora pokrenuta oksidativnim stresom stimuliše sintezu antioksidativnih enzima, kao što je Mn-SOD (mangan-zavisna superoksid dismutaza) i eNOS, tako da ROS pokreću mehanizme za sopstvenu eliminaciju ali ako ROS prevladaju dovode do oštećenja ćelija (88).

Inflamatorni markeri PTX3, CyPA i HB-EGF imaju nekoliko zajedničkih mesta delovanja, kao što je signalni put u koji je uključen transkripcioni faktor NF- κ B. PTX3 ima vezujuće mesto za NF- κ B preko koga IL-1 β i TNF α indukuju ekspresiju PTX3 u monocitima (121). CyPA reguliše NF- κ B, odnosno ima proinflamatornu ulogu. ROS aktiviraju NF- κ B, samim tim i podstiču oslobađanje CyPA (122). HB-EGF smanjuje stvaranje ROS *in vitro*, odnosno ima citoprotektivnu ulogu (105), a na HB-EGF promoteru nalazi se vezujuće mesto za NF- κ B, pri čemu je aktivacija NF- κ B pomoću TNF α i IL- β povezana sa indukcijom ROS (103).

Poznato je da oksidativni stres učestvuje u modifikaciji proteina, lipida i DNK. Smatra se da je povećana oksidacija proteina posledica povećanog stvaranja ROS i poremećenog metabolizma proteina. Uklanjanje oštećenih proteina nastaje proteolitičkom degradacijom u putevima koji uključuju proteaze iz proteazoma, lizozoma i mitohondrija. Poremećaj redoks-ravnoteže dovodi do aktivacije redoks-oseljivih transkripcionih faktora i sledstvenog nakupljanja brojnih proinflamatornih medijatora (citokina, hemokina, iNOS). Ovi molekuli koji deluju kako sistemski tako i na nivou tkiva, mogu stvoriti i ROS i RNS koji dalje učestvuju u nastanku bolesti koje se javljaju usled povećanog oksidativnog stresa (123). Hidroksil radikal (OH \cdot) spada u najštetnije ROS i smatra se najodgovornijim za oksidativno oštećenje biomolekula. Vodonik peroksid i superoksidni anjon ne mogu direktno da oksiduju lipide, šećere i nukleinske kiseline, već dovode do oksidativnog oštećenja biomolekula indirektno, stvaranjem OH \cdot u Fentonovoj ili Haber-Weissovnoj reakciji (123). Oksidovani molekuli stvaraju nove radikle pri čemu dolazi do lančane reakcija radikala, ili bivaju neutralisani antioksidansima. Serum sadrži različite antioksidanse. Proteini predstavljaju glavne antioksidativne komponente seruma, a slobodne sulfhidrilne grupe proteina su odgovorne za njihov antioksidativni efekat (124). Iz tog razloga su identifikovani različiti markeri preko kojih se može pratiti nivo oksidativnog oštećenja kao i aktivnost antioksidativne zaštite.

Kako se oksidativni stres povećava kod bolesnika sa STEMI, očekuje se da je antioksidativni sistem ugrožen. Merenje ukupnog antioksidativnog statusa u plazmi predstavlja metod za proučavanje antioksidativne zaštite protiv ROS. Od markera koji se određuju kao pokazatelji oksidativnog stresa, totalni oksidativni status (TOS) pokazuje zbirni uticaj svih oksidanasa u cirkulaciji, dok totalni antioksidativni status (TAS) reflektuje ukupni efekat svih antioksidanasa u krvi (125). Glavne komponente TOS su vodonik peroksid i lipidni hidroperoksidi (126). Ukupni antioksidativni kapacitet predstavlja rezultat delovanja nekoliko različitih supstanci: glutationa, albumina, vitamina C, bilirubina, itd. (127). TAS uključuje i mokraćnu kiselinu - snažan antioksidans koji je povećan u plazmi bolesnika sa infarktom miokarda (47).

Superoksid dismutaza (SOD) je enzim koji katalizuje reakciju dismutacije superoksidnog aniona i jedna je od prvih linija odbrane ćelija od oksidativnog oštećenja. Identifikovana su tri SOD izoenzima, uključujući SOD koji sadrži bakar/cink (CuZn-SOD) i koji je primarno lokalizovan u citozolu, mitohondrijalni SOD koji sadrži mangan (Mn-SOD) i ekstracelularna SOD (EC-SOD koja je

takođe Cu/Zn izoforma) (128). Kako je SOD lokalizovana i intracelularno, povećanje aktivnosti ovog enzima u serumu nastaje i usled oštećenja tkiva tokom infarkta miokarda (47).

Sulfhidrilne (SH) grupe imaju najveću koncentraciju među endogenim antioksidansima (131); uglavnom potiču od albumina i tiol grupa ostalih proteina, sa manjim udelom tiola male molekulske mase kao što su cisteinilglicin, cistein, homocistein, glutation i γ -glutamilcistein. Antioksidativni efekat tioli ispoljavaju tako što podležu oksidaciji pri čemu se formiraju disulfidne veze. Oksidacija ostataka cisteina može dovesti do reverzibilnog formiranja mešovitih disulfida između tiola male molekularne mase i tiol grupa proteina pri povećanom oksidativnom stresu, pri čemu se ukupan sadržaj raspoloživih SH-grupa smanjuje. Formirane disulfidne veze mogu ponovo biti redukovane do tiolnih grupa (130).

Prooksidativno-antioksidativni balans (PAB) predstavlja zajedničku meru za prooksidativno opterećenje i antioksidativni kapacitet, čime se dobija redoks indeks. Smatra se da je PAB test koristan u predviđanju rizika od KVB (131), i da se može koristiti za procenu stepena oksidativnog stresa (132).

Uznepredovali produkti oksidacije proteina (engl. *advanced oxidation protein products*, AOPP) se mogu formirati tokom oksidativnog stresa reakcijom proteina plazme, posebno albumina, sa hloriranim oksidansima, a smatraju se novim markerima oštećenja proteina posredovanog oksidativnim stresom (133).

1.2.1. Uloga oksidativnog stresa u akutnom infarktu miokarda

Miokard je dinamično tkivo koje normalno generiše ROS u metaboličkim procesima, a toksični radikali koji pri tome nastaju uklanjaju se mehanizmima sistema antioksidativne zaštite.

AIM obično je iniciran ishemijom miokarda usled opstrukcije koronarne arterije. U ishemičnom miokardu stvaraju se ROS, posebno nakon reperfuzije, i predstavljaju glavne pokretače oštećenja miokarda nakon ishemije i reperfuzije. Neutrofili su glavni izvor ROS tokom reperfuzije; endotelne ćelije i kardiomiociti takođe mogu da stvaraju ROS. ROS se stvara iz ksantin-oksidade u endotelnim ćelijama, reakcijama transportnog lanca elektrona u mitohondrijama kardiomiocita, i iz Nox u inflamatornim ćelijama. Velika količina ROS iz endotelnih ćelija i kardiomiocita može da pojača lokalni inflamatorni odgovor i utiče na obližnje neutrofile, dovodeći do lančane reakcije stvaranja ROS. Studije su pokazale da primena antioksidanasa može da zaštiti od reperfuzione povrede (88).

U ishemičnom području i okolnom miokardu dolazi do pojačanog stvaranja inflamatornih citokina TNF α , IL-1 β i IL-6 kao reakcija na oksidativni stres. Oni regulišu preživljavanje i smrt ćelija, i mogu biti okidači za druge inflamatorne reakcije. Kao što je već pomenuto, TNF α stimuliše stvaranje ROS pomoću nekoliko mehanizama, uključujući direktan toksični efekat, kao i efekte na nivou mitohondrija. U hroničnoj fazi, ROS i inflamatorni citokini aktiviraju MMPs i deponovanje kolagena i tako učestvuju u strukturnim promenama i obnavljanju tkiva oštećenog miokarda. Aktivacija MMPs pokreće degradaciju kolagena što može uzrokovati dilataciju leve komore. Tokom reparacije tkiva, citokini aktiviraju angiogenezu i mobilizaciju *stem* ćelija i na taj način učestvuju u kasnom remodelovanju (88,134).

Glavna strukturna promena koja nastaje nakon AIM je remodelovanje leve komore, pri čemu nastaju intra- i ekstraćelijske promene u miokardu kao i strukturne promene u samom zidu leve komore. Ove strukturne promene mogu dalje dovesti do dilatacije i disfunkcije leve komore, tako da obim remodelovanja može biti prediktivni faktor za mortalitet i morbiditet bolesnika sa AIM. Mehanizam remodelovanja leve komore je multifaktorski: lokalna ishemija i smrt miocita; oksidativni stres i inflamatorne reakcije u oštećenom miokardu; kardiodepresivne reakcije usled stvaranja ROS i inflamatornih citokina; promene u ekstraćelijskom matriksu koje prate aktivaciju MMPs; strukturne promene u miokardu u odgovoru na mehanički stres; sinteza kolagena i fibroza miokarda (88).

Sistem renin-angiotenzin-aldosteron ima važnu ulogu u patofiziologiji remodelovanja leve komore i progresiji srčane slabosti. Više velikih studija je pokazalo da inhibitori angiotenzin-konvertujućeg enzima (ACE, engl. *angiotensin-converting enzyme*) i blokatori receptora tipa 1 za angiotenzin II smanjuju mortalitet i remodelovanje leve komore kod bolesnika sa disfunkcijom leve komore ili srčanom slabošću posle AIM. β -blokatori sprečavaju ponovljene događaje i poboljšavaju prognozu kod bolesnika sa AIM. CAPRICORN (engl. *carvedilol post-infarct survival controlled evaluation*) studija je pokazala da primena karvedilola kao neselektivnog β -blokatora sa efektom antioksidansa smanjuje vrednosti parametara oksidativnog stresa uz poboljšanje srčane funkcije kod bolesnika sa srčanom slabošću, kao i da smanjuje remodelovanje leve komore (88).

ROS deluju kardiodepresivno tako što remete homeostazu Ca^{2+} , dovodeći do intraćelijskog preopterećenja Ca^{2+} tokom oksidativnog stresa. Ovi reaktivni molekuli pospešuju ulazak Ca^{2+} u ćelije jer povećavaju lipidnu peroksidaciju u membrani i otvaranje voltažno zavisnih Ca^{2+} -kanala. Inflamatorni citokini, posebno $\text{TNF}\alpha$ i IL-6 takođe dovode do poremećaja homeostaze intraćelijskog Ca^{2+} ; $\text{TNF}\alpha$ preko NO smanjuje osetljivost miofibrila prema Ca^{2+} . Smatra se da su štetni efekti inflamatornih citokina delimično posredovani putem ROS (88).

Davanje antioksidanasa i antiinflamatornih lekova bi trebalo da ima povoljan efekat na zaustavljanje remodelovanja. Studije na transgenim miševima sa povećanom ekspresijom SOD su pokazale manju veličinu infarkta posle ishemije i reperfuzije; antioksidansi merkaptopropionil-glicin ili edaravon takođe inhibiraju hipertrofiju miokarda kod miševa (128). Za ispoljavanje efekta je verovatno najvažnija doza antioksidativnog agensa. Mala doza aspirina ne umanjuje nivo inflamatornih citokina, dok velika doza ima inhibični efekat na inflamatorne citokine iako ne može da smanji akumulaciju kolagena a samim tim ni remodelovanje. Suplementacija vitaminima C i E ne utiče na nivo citokina, funkcionalne indekse, kvalitet života ili neurohumoralni status kod bolesnika sa uznapredovalom hroničnom srčanom slabošću (136). Statini su u eksperimentalnim studijama (132) pokazali antioksidativne i antiinflamatorne efekte (sprečavanje hipertrofije miokarda i apoptoze miocita), ali u CORONA i GISSI-HF studijama rosuvastatin nije poboljšao prognozu kod bolesnika sa hroničnom srčanom slabošću (137). Kako je kod ovih pacijenata povećan nivo inflamatornih citokina, sprovedena je studija RENEWAL u kojoj je korišćen anti- $\text{TNF}\alpha$ agens etanercept u srednjoj i visokoj dozi, ali nije dobijeno smanjenje mortaliteta ni morbiditeta, kao ni u studiji ATTACH u kojoj je kod bolesnika sa hroničnom srčanom slabošću ispitivan efekat infliximaba - IgG monoklonskog antitela na $\text{TNF}\alpha$ (138). Ova dva agensa pokazala su se efikasnim kao antiinflamatorni lekovi (88). Kod bolesnika sa KAB davanje L-karnitina (4-N-trimetilamonijum-3-hidroksibuterna kiselina) dovodi do smanjenja vrednosti malondialdehida i povećanja ekspresije antioksidativnih enzima katalaze, glutation peroksidaze i SOD (135).

1.3. Mehanizmi koji povezuju PTX3, CyPA, HB-EGF i oksidativni stres

Poznato je da pronflamatorni stimulansi aktiviraju inflamatorne ćelije putem transkripcionih faktora od kojih je najbolje proučen NF- κ B koji, s jedne strane, dovodi do proizvodnje nekoliko inflamatornih medijatora ($\text{TNF}\alpha$, IL-6, IL-1 β), a sa druge, do razvoja oksidativnog stresa (139). Inflamatorni citokini, $\text{TNF}\alpha$ i IL-1 β aktiviraju transkripciju HB-EGF i PTX3, što može objasniti njihove potencijalno slične aktivnosti kao markera inflamacije. Naime, i PTX3 i HB-EGF imaju vezujuće mesto za NF- κ B koje se aktivira posredstvom $\text{TNF}\alpha$ i IL-1 β , pri čemu se oslobađa heterodimer p50/p65 koji utiče na transkripciju PTX3 i HB-EGF (118,139). Oksidativni stres stimuliše oslobađanje CypA takođe posredstvom NF- κ B puta, dok HB-EGF nishodnom regulacijom iNOS smanjuje stvaranje ROS, i na taj način moduliše oslobađanje CyPA (105). Sa druge strane, CyPA reguliše aktivnost NF- κ B posredstvom proteina p65, jer je uočeno da su aminokiselinski ostaci na

položaju 170-176 na p65 molekulu funkcionalno vezujuće mesto za CyPA, što ukazuje na ulogu CyPA u modulaciji aktivacije NF- κ B (122). Osim toga, CyPA i HB-EGF deluju različito na angiogenezu; dok CyPA smanjuje, HB-EGF stimuliše ekspresiju eNOS. HB-EGF i PTX3 takođe imaju antagonističke efekte na angiogenezu – HB-EGF stimuliše, a PTX3 inhibira angiogenezu putem FGF2. Smatra se da je jedan od zaštitnih efekata PTX3 u reparaciji vaskularnog tkiva inhibicija FGF2 i nekih drugih faktora rasta odgovornih za proliferaciju GMC (140).

2. CILJEVI RADA

Još uvek nema dovoljno informacija o povezanosti CyPA, PTX3 i HB-EGF sa akutnim koronarnim sindromom, kao ni radova koji su razmatrali korist od istovremenog određivanja ova tri biomarkera kod bolesnika sa STEMI koji su podvrgnuti pPCI. Takođe, nema podataka vezanih za ove parametre kod MINOCA bolesnika, niti o povezanosti pomenutih parametara inflamacije sa markerima oksidativnog stresa kod bolesnika sa STEMI.

Ciljevi studije su:

- a. Odrediti koncentracije PTX3, HB-EGF i CyPA kod STEMI bolesnika pre pPCI, kod bolesnika sa stabilnom anginom pektoris (SAP) i kod zdravih osoba i utvrditi razlike između pojedinih grupa ispitanika;
- b. Utvrditi razlike u koncentracijama PTX3, HB-EGF i CyPA između bolesnika sa značajnom okluzivnom KAB (STEMI-KAB) pre izvođenja pPCI i MINOCA bolesnika;
- c. Odrediti koncentracije PTX3, HB-EGF i CyPA kod STEMI bolesnika neposredno nakon pPCI i uporediti sa vrednostima pre pPCI;
- d. Ustanoviti povezanost ispitivanih parametara sa lipidnim parametrima i parametrima oksidativnog i antioksidativnog statusa;
- e. Odrediti dijagnostičku vrednost određivanja koncentracija PTX3, HB-EGF i CyPA u detekciji STEMI bolesnika i njihovom razlikovanju od MINOCA bolesnika.

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ispitanici

Veličina uzorka je izračunata za nivo značajnosti od 0,05, za snagu studije od 80% i za poređenje srednjih vrednosti tri grupe ispitanika: STEMI, SAP i kontrolne grupe. Izračunata veličina uzorka je 150 ispitanika ukupno za sve tri grupe uz uslov da svaka grupa ima isti broj subjekata. Uzimajući u obzir da je učestalost bolesnika sa MINOCA 6% do 14% u odnosu na STEMI pacijente (13) i broj dostupnih uzoraka za pacijente sa SAP, potrebna veličina uzorka je korigovana za STEMI i kontrolnu grupu kako bi se zadržala potrebna snaga studije (141). Takođe, veličina uzorka je uvećana za 15% uzimajući u obzir da će se neke od varijabli analizirati neparametarskim statističkim testovima. Potrebna veličina uzorka za STEMI bolesnike iznosila je minimalno 81, za SAP 15 i za kontrolnu grupu minimalno 160 ispitanika.

Istraživanjem su obuhvaćeni STEMI bolesnici čiji su uzorci sakupljeni u Kliničko-bolničkim centrima „Zemun“ i „Bežanijska kosa“. Od ukupnog broja bolesnika, njih 52 je lečeno u Kliničko-bolničkom centru "Bežanijska kosa", a 35 bolesnika je lečeno u Kliničko-bolničkom centru Zemun od maja 2016. do jula 2017. godine. Dijagnoza STEMI postavljena je kod bolesnika sa kliničkim simptomima koji ukazuju na ishemiju uz postojanje elevacije ST-segmenta ≥ 1 mm u bar dva susedna odvoda.

STEMI grupa obuhvatila je 87 bolesnika sa KAB (60 muškarca i 27 žena, srednje starosne dobi od $60,49 \pm 12,21$ godina). STEMI ispitanici su na osnovu angiografskog nalaza podeljeni u dve grupe: STEMI-KAB grupu koju je činilo 75 bolesnika (55 muškaraca i 20 žena, srednje starosne dobi od $60,67 \pm 11,86$ godina) sa značajnom okluzivnom KAB (stenoza $\geq 50\%$ u jednoj ili više koronarnih arterija) i MINOCA grupu sa KAB bez okluzije (stenoza manja od 50% na koronarnim arterijama) sa 6 bolesnika (3 muškarca i 3 žene, srednje starosne dobi od $51,33 \pm 7,61$ godina). Samo su STEMI-KAB bolesnici nakon postavljanja dijagnoze podvrgnuti pPCI sa implantacijom stenta. Kod 6 bolesnika sa STEMI-KAB zbog lošeg stanja krvnih sudova nije bilo mogućnosti za implantaciju stenta.

Težina KAB procenjena je korišćenjem SYNTAX skora, koji je zasnovan na lokalizaciji, težini i obimu koronarnih stenoza, pri čemu nizak skor pokazuje anatomske manje komplikovanu KAB. Nizak rezultat skora definiše se kao < 22 ; srednji od 23 do 32; i visok preko 33 (142). SYNTAX skor je određen samo kod STEMI bolesnika.

STEMI-KAB grupa je dodatno podeljena na osnovu izračunatog SCORE (engl. *Systematic Coronary Risk Estimation*) indeksa na 2 grupe bolesnika – sa niskim do umerenim SCORE rizikom ($< 5\%$) i sa visokim do veoma visokim SCORE rizikom ($\geq 5\%$). SCORE indeks se koristi za procenu rizika od razvoja fatalne KVB za populaciju u zemljama sa visokim kao i niskim kardiovaskularnim rizikom, a izračunava se na osnovu starosti, pola, statusa pušenja, sistolnog krvnog pritiska i vrednosti ukupnog holestrola (143). U ovom radu korišćene su tabele SCORE indeksa za zemlje sa visokim kardiovaskularnim rizikom.

Za svakog bolesnika uključenog u studiju iz istorije bolesti i upitnika koji je svaki bolesnik popunio preuzeti su podaci o faktorima rizika kao što su: konzumiranje cigareta, hipertenzija, visina, težina, iz kojih je izračunat indeks telesne mase (engl. *body mass index*, BMI). Bolesnici sa skoro preležanom infekcijom, operacijom, traumom ili težom bubrežnom, hepatičnom ili malignom bolešću nisu uključeni u studiju.

Kako bi se utvrdilo da li se vrednosti ispitivanih parametara razlikuju u akutnom stanju u odnosu na hroničnu fazu bolesti u istraživanje su uključeni i bolesnici sa SAP čiji su uzorci sakupljeni u Kliničko-bolničkom centru „Zemun“. Ova grupa se sastojala od 15 bolesnika (10 muškaraca i 5 žena, srednje starosne dobi od $60,07 \pm 8,99$).

Kontrolnu grupu činilo je 193 zdrava dobrovoljca (73 muškarca i 120 žena, srednje starosne dobi od $56,06 \pm 10,16$ godina). Osobe zaposlene na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu i osobe kojima Opšta bolnica „Medigroup“ pruža zdravstvene usluge a kod kojih na osnovu rezultata detaljnog kardiološkog pregleda (elektrokardiogram, transtorakalna ehokardiografija i test opterećenja srca) nije utvrđeno da imaju KVB, uključene su u kontrolnu grupu. Ispitanici koji su činili kontrolnu grupu popunili su upitnik u koji su uvrštena brojna pitanja vezana za faktore rizika. Zabeleženi su sledeći faktori: (1) status pušenja; (2) hipertenzija (HT) označena sistolnim krvnim pritiskom ≥ 140 mm Hg, dijastolnim krvnim pritiskom ≥ 90 mm Hg ili propisanim anti-hipertenzivnim lekovima; (3) BMI. Iz studije su za kontrolnu grupu isključene osobe sa istorijom nedavne kliničke infekcije, postojanje bubrežne, hepatične ili maligne bolesti, nedavna operacija ili trauma. Da bi se utvrdio uticaj pola i starosti na ispitivane parametre, u kontrolnoj i STEMI grupi ispitanici su podeljeni prema polu, kao i na 3 starosne grupe (mlađe od 55 godina, osobe starosti 56 do 65 godina, i starije od 65 godina).

Svi ispitanici su dali saglasnost o informisanosti pre uvođenja u studiju. Studija je planirana u skladu sa etičkim smernicama Helsinške deklaracije (144), a odobrena je od strane etičkih komiteta Kliničko-bolničkih centara „Zemun“ (Odluka br. 325/1) i „Bežanijska kosa“ (Odluka br. 4705/4), Komiteta za biomedicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu – Farmaceutskog fakulteta (Odluka br. 2262/2) i Opšte bolnice „Medigroup“ (Odluka br. 1050/1/15 i Odluka br. 1464-2/15). Komitet za biomedicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu – Farmaceutskog fakulteta usvojio je protokol o studiji čime su ispraćeni propisi o biomedicinskim istraživanjima.

3.2. Uzorci

Uzorci krvi bolesnicima su uzeti nakon prijema u hitnu službu. Kod bolesnika koji su podvrgnuti pPCI prvi uzorak krvi uzet je pre izvođenja intervencije, a drugi odmah nakon završetka pPCI. Kontrolnim ispitanicima uzoci krvi uzeti su našte. Periferna venska krv sakupljena je u epruvete sa EDTA i serum-separator gelom. Plazma i serum su odvajani od krvnih ćelija u roku od 1 sata od uzorkovanja, a uzorci za analize koje se nisu radile odmah po uzorkovanju su zatim podeljeni na porcije od 200 μ L i čuvani su u zamrzivaču na -80°C do izvođenja analiza. Parametri oksidativnog stresa određeni su u serumu u roku od 2 sata od uzorkovanja, a svi ostali parametri u EDTA plazmi.

3.3. Metode

Koncentracije glukoze, mokraćne kiseline, ukupnog holesterola (TH), triglicerida (TG) i laktat dehidrogenaze (LDH) određene su rutinskim enzimskim metodama. HDL-holesterol (HDL-h) određen je direktnom metodom. Koncentracija LDL-holesterola (LDL-h) izračunata je pomoću Friedewald formule (145). hsCRP određen je imunoturbidimetrijskom metodom. PTX3, HB-EGF i CyPA određeni su ELISA „sendvič“ metodom komercijalnim testovima. Troponin I (TnI) je meren kod bolesnika sa STEMI metodom elektrohemiluminiscencije. Aktivnost SOD merena je prema metodi Misra i Fridovich (146), ukupni sadržaj sulfhidrilnih (SH) grupa u plazmi određen je Ellmanovom metodom (147), uznapredovali produkti oksidacije proteina (AOPP) metodom Witko-Sarsat (148), a PAB prema metodi Alamdari (149). Koncentracije ukupnih oksidansa i antioksidansa određivane su modifikovanim Erelovim metodama (124,126).

Većina biohemijskih parametara je merena na analizatoru ILAB 300+ (Instrumentation Laboratory, Milano, Italija).

1. **Glukoza** je određena enzimskom GOD-PAP metodom proizvođača BioSystems S.A., Barcelona, Spain, na biohemijском analizatoru ILAB 300+ proizvođača Instrumentation Laboratory, Milano, Italija. Referentne vrednosti koje je proizvođač je propisao su za odrasle osobe 3,89-5,83 mmol/L.
2. **Mokraćna kiselina** je određena enzimskom metodom sa urikazom i peroksidazom, proizvođača BioSystems S.A., Barcelona, Spain, na biohemijском analizatoru ILAB 300+ proizvođača Instrumentation Laboratory, Milano, Italija. Referentne vrednosti koje je proizvođač je propisao su za odrasle muškarce 210-420 $\mu\text{mol/L}$, a za žene 150-350 $\mu\text{mol/L}$.
3. Aktivnost **LDH** određena je enzimskom piruvat-laktat metodom proizvođača BioSystems S.A., Barcelona, Spain, na biohemijском analizatoru ILAB 300+ proizvođača Instrumentation Laboratory, Milano, Italija. Referentne vrednosti koje je proizvođač je propisao na 37 °C su za odrasle osobe 207-414 U/L.
4. **TH** je određen enzimskom CHOD-PAP metodom proizvođača BioSystems S.A., Barcelona, Spain, na biohemijском analizatoru ILAB 300+ proizvođača Instrumentation Laboratory, Milano, Italija. Proizvođač je propisao da vrednosti ukupnog holesterola < 5,20 mmol/L ukazuju na nizak rizik, vrednosti 5,51-6,21 mmol/L ukazuju na granični rizik, dok vrednosti > 6,24 mmol/L ukazuju na visok rizik od kardiovaskularnih bolesti.
5. **TG** su određeni enzimskom GPO-PAP metodom proizvođača BioSystems S.A., Barcelona, Spain, na biohemijском analizatoru ILAB 300+ proizvođača Instrumentation Laboratory, Milano, Italija. Proizvođač je propisao da su vrednosti triglicerida do 1,70 mmol/L normalne, vrednosti 1,71-2,25 mmol/L su granične, vrednosti 2,26-5,64 mmol/L su visoke, a vrednosti preko 5,65 mmol/L su veoma visoke.
6. Koncentracija **HDL-h** je određena direktnom metodom sa magnezijum-fosfovolframatom uz holesterol-esterazu i holesterol-oksidadu, proizvođača BioSystems S.A., Barcelona, Spain, na biohemijском analizatoru ILAB 300+ proizvođača Instrumentation Laboratory, Milano, Italija. Proizvođač je propisao da vrednosti HDL-holesterola >1,56 mmol/L ukazuju na nizak rizik, dok vrednosti <0,91 mmol/L ukazuju na visok rizik od kardiovaskularnih bolesti.
7. **LDL-h** je izračunat prema Friedewald-ovoj formuli:

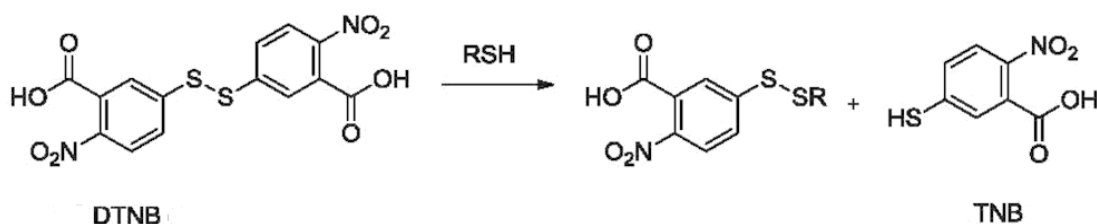
$$\text{LDL-h, mmol/L} = \text{TH} - \text{TG}/2,2 - \text{HDL-h} (145)$$
 Prema preporukama Evropskog vodiča za prevenciju KVB (150) poželjno je da koncentracija LDL-h bude manja od 3,0 mmol/L (kod visoko rizičnih osoba sa potvrđenom KVB ili dijabetesom poželjno je da ova vrednost bude manja od 2,5 mmol/L) dok se vrednosti preko 4,5 mmol/L smatraju visoko rizičnim.
8. **hsCRP** je određivan kao ADVIA Chemistry Wide-range C-Reactive Protein imunoturbidimetrijskom metodom proizvođača Siemens Healthcare Diagnostics Inc, Tarrytown, SAD, na analizatoru ADVIA 1200, Siemens Healthcare Diagnostics Inc, Tarrytown, SAD.

Terminom „*wide-range* CRP“ označen je širok opseg osetljivosti reagensa (donji detekcioni limit je 0,12 mg/L). Wide-range CRP lateks reagens je suspenzija polistirenskih lateks čestica uniformne veličine koje su obložene zečijim antihumanim antitelima klase IgG. Kada se uzorak koji sadrži CRP pomeša sa reagensom, pojavljuje se aglutinacija što dovodi do povećanja zamućenosti koja se meri turbidimetrijski na 571 nm. Koncentracija CRP u uzorku se određuje iz kalibracione krive dobijene pomoću kalibratora. Metoda je kalibrisana pomoću ADVIA Chemistry wide-range C-Reactive Protein Calibrators. Kod zdravih osoba, vrednosti CRP ispod 1 mg/L ukazuju na nizak rizik za predikciju KVB, vrednosti 1-3 mg/L predstavljaju srednji rizik, a vrednosti preko 3 mg/L predstavljaju visok rizik od KVB.

9. **TnI** je meren u serumu bolesnika sa STEMI metodom elektrohemiluminiscencije kao VIDAS® High sensitive Troponin I na analizatoru VIDAS® proizvođača BioMérieux, Francuska. Proizvođač je propisao da vrednosti TnI ispod 2 ng/L isključuju postojanje AIM.
10. **PTX3** je određivan ELISA „sendvič“ metodom
Protokol metode za određivanje PTX3. Koncentracija PTX3 je određivana ELISA „sendvič“ metodom (Human Pentraxin3/TSG-14 DuoSet ELISA DY1826, R&D Systems, Minneapolis, SAD), prema sledećem protokolu. Humani rekombinantni PTX3 standard i anti-humani-PTX3 antitela su rastvorena u reagensu za rastvaranje - 1% goveđi serum albumin (proizvođača Sigma Aldrich, St Louis, USA) u fosfatnom puferu pH 7,2-7,4. Dan pre izvođenja testa svaki od 96 bazena na maxi-sorp ELISA pločama obložen je sa po 100 µL mišjih antitela protiv humanog PTX3 (radne koncentracije 2,0 µg/mL u fosfatnom puferu). Ploče su pokrivane parafilmom i folijom da se zaštite od svetlosti, i preko noći inkubirane na sobnoj temperaturi. Posle inkubiranja, ploče su aspirirane, nakon čega su tri puta ispirne puferom za ispiranje (dodatkom po 400 µL pufera u svaki bazen tri puta), i na kraju potpuno aspirirane i prosušene okretanjem na papirnoj vati. Posle ispiranja ploče su blokirane dodatkom po 300 µL reagensa za rastvaranje (1% goveđi serum albumin u fosfatnom puferu) u svaki bazen i inkubirane na sobnoj temperaturi najmanje 1 sat, pokrivene parafilmom i folijom zaštićene od svetlosti. Posle još jednog seta od 3 ispiranja puferom za ispiranje, ploče su spremne za dodavanje uzoraka. Svi uzorci su rađeni u duplikatu, a pipetirano je 100 µL uzorka po bazenu. Dodatno su postavljene slepa proba (sam reagens za rastvaranje) i razblaženja standarda (od 0,109-7,0 µg/L) koji su korišćeni za pravljenje standardne krive. Nakon nanošenja slepe probe, standarda i uzoraka pokrivena ploča se inkubirala 2h na sobnoj temperaturi na mešalici uz blago mešanje. Zatim je sledio postupak ispiranja (isti kao prethodni) nakon čega je u svaki bazen dodato po 100 µL detekcionih antitela (biotinisana kozja antitela koja su prethodno rastvorena u reagensu za rastvaranje). Ploče su pokrivene i inkubirane 2h na sobnoj temperaturi zaštićene od svetlosti. Ispiranje je ponovljeno, nakon čega je u svaki bazen dodato 100 µL radnog razblaženja streptavidin-HRP. Pokrivene ploče su inkubirane 20 min na sobnoj temperaturi zaštićene od svetlosti. Nakon još jednog ispiranja sledilo je dodavanje po 100 µL supstrata (mešavina vodonik-peroksida i tetrametilbenzidina u odnosu 1:1 napravljena neposredno pre rada) u svaki bazen. Ploče su ponovo inkubirane 20 min na tamnom mestu na sobnoj temperaturi. Zatim se u svaki bazen dodalo po 50 µL stop-rastvora (2N H₂SO₄), blago mešajući na mešalici. Apsorbanca na 450 nm (sa korekcijom na 540 nm) očitana je na ELISA čitaču. Pomoću standardne krive izračunata je koncentracija PTX3 u svakom uzorku.
11. **HB-EGF** je određivan ELISA „sendvič“ metodom
Protokol metode za određivanje HB-EGF. Za određivanje HB-EGF korišćen je test proizvođača R&D Systems (Human HB-EGF DuoSet ELISA DY259B R&D Systems, Minneapolis, SAD). Priprema maxi-sorp ELISA ploča, ispiranje ploča i nanošenje uzoraka, slepe probe i standarda izvršeno je po istom protokolu kao za određivanje PTX3. Za oblaganje bazena u pločama korišćena su antitela pacova protiv humanog HB-EGF. Za pravljenje standardne krive nanošena su razblaženja standarda u reagensu za rastvaranje (od 1,70-125,0 ng/L). Inkubacija i detekcija takođe se sprovodila po protokolu kao za PTX3. Za detekciju je korišćeno po 100 µL detekcionih antitela (biotinisana kozja antitela koja su prethodno rastvorena u reagensu za rastvaranje) a očitavanje apsorbanca vršeno je na 450 nm na ELISA čitaču (sa korekcijom na 540 nm).
12. **CyPA** je određivan ELISA „sendvič“ metodom
Protokol metode za određivanje CyPA. Za određivanje CyPA korišćen je test proizvođača CUSABIO Biotech Co, Wuhan, Hubei Province, Kina (Human cyclophilin A (PPIA/CYPA) ELISA kit), kat.br. CSB-E09920h. Svi rastvori su pripremani neposredno pre upotrebe.

Detekciona biotinisana antitela rastvorena su odgovarajućim diluentom 100 puta. Standard je rastvoren diluentom za uzorke do radne koncentracije od 200 µg/L. Ploče su već obložene odgovarajućim anti CyPA antitelima, i spremne su za upotrebu. Svi uzorci su rađeni u duplikatu, a nanosi se 100 µL uzorka po bazenu. Prvo je nanošena slepa proba (sam diluent za uzorke), zatim razblaženja standarda u diluentu za uzorke (od 3,12-100,0 µg/L) koji su poslužili za pravljenje standardne krive, a zatim uzorci. Pokrivena ploča se inkubirala 2h na sobnoj temperaturi na mešalici uz blago mešanje. Zatim je izvršeno ispiranje bez ispiranja, nakon čega se u svaki bazen dodalo po 100 µL detekcionih antitela. Ploče su pokrivene i inkubirane 1h na temperaturi od 37°C. Ispiranje je izvršeno 3 puta dodatkom po 200 µL pufera za ispiranje po bazenu, na kraju nakon okretanja i sušenja ploče u svaki bazen je dodato 100 µL radnog razblaženja HRP-avidina. Pokrivene ploče su inkubirane 1h na temperaturi od 37°C zaštićene od svetlosti. Postupak ispiranja je ponovljen, nakon čega je dodato po 90 µL TMB-supstrata u svaki bazen. Ploče su ponovo inkubirane 15-30 min na tamnom mestu na temperaturi od 37°C. U svaki bazen je dodato po 50 µL stop-rastvora, izvršeno je blago mešanje na mešalici i očitavanje apsorbance na 450 nm na ELISA čitaču (sa korekcijom na 540 nm). Pomoću standardne krive izračunata je koncentracija CyPA u svakom uzorku.

13. **AOPP** određivan je na analizatoru ILAB 300+ (Instrumentation Laboratory, Milano, Italija) prema metodi Witko-Sarsat i sar. (148). U uzorak plazme razblažen fosfatnim puferom dodata je sirćetna kiselina i rastvor kalijum jodida i merena je apsorbance na 340 nm. Koncentracija AOPP je izražena preko ekvivalenta hloramina T koji se koristi za pravljenje standardne krive.
14. Ukupni **sadržaj SH grupa** određivan je na analizatoru ILAB 300+ (Instrumentation Laboratory, Milano, Italija) Ellmanovom metodom (147) koja se zasniva na reakciji 2,2'-dinitro-5,5'-ditiobenzoeve kiseline (DTNB) sa alifatičnim tiolnim jedinjenjima u baznoj sredini, pri čemu se stvara jedan mol p-nitrofenol anjona po jednom molu tiola (Slika 5). Apsorbancija žuto obojenog anjona TNB²⁻ meri se na 412 nm.



Slika 5. Reakcija DTNB sa tiolima u alkalnoj sredini

(Izvor: Peng H, Chen W, Cheng Y, et al. Thiol reactive probes and chemosensors. *Sensors* 2012;12(11):15907-15946)

15. Koncentracija ukupnih antioksidanasa izražena kao **TAS** određivana je na analizatoru ILAB 300+ (Instrumentation Laboratory, Milano, Italija) modifikovanom Erelovom metodom upotrebom standardne krive. Najčešće se za određivanje TAS kao standard koristi Trolox – hidrosolubilni ekvivalent vitamina E. Rezultati se izražavaju u mmol/L Trolox ekvivalenta (124).
16. Koncentracija ukupnih oksidanasa izražena kao **TOS** određivana je na analizatoru ILAB 300+ (Instrumentation Laboratory, Milano, Italija) modifikovanom Erelovom metodom. Glavne komponente sistema TOS su H₂O₂ i lipidni hidroperoksidi. Ukupni oksidansi u uzorku oksiduju fero jon-orto-dianizidni kompleks u feri jon, koji zatim gradi obojeni kompleks sa ksilenol-oranžom koji se meri na 560 nm (126).
17. Aktivnost enzima **SOD** u plazmi određivana je na analizatoru ILAB 300+ (Instrumentation Laboratory, Milano, Italija) prema metodi Misra i Fridovich (146) koja se zasniva na

sposobnosti SOD da inhibira spontanu autooksidaciju adrenalina u baznoj sredini. Aktivnost SOD se izražava u relativnim jedinicama, koje se dobijaju merenjem apsorbancije nastalog crvenog proizvoda oksidacije adrenalina na 480 nm, bez prisustva SOD (kontrola) i u prisustvu SOD (analiza). Aktivnost SOD u uzorku se izračunava kao procenat inhibicije autooksidacije adrenalina.

18. **PAB** određivan je ručno na mikrititarskoj ploči i meren na ELISA čitaču, prema metodi Alamdari i sar. (149). U testu se određuje koncentracija vodonik peroksida u antioksidativnom okruženju. Hromogen 3,3',5,5'-tetrametilbenzidin (TMB) reaguje i sa vodonik-peroksidom i sa mokraćnom kiselinom kao antioksidansom, koji se nalaze u istoj sredini. Reakcija H_2O_2 i TMB je katalizovana peroksidazom, a oksidovanjem TMB nastaje plavo obojeni proizvod. Reakcija između mokraćne kiseline i TMB je nekatalizovana, a redukcijom TMB nastaje bezbojan proizvod. Vrednosti PAB se izražavaju u arbitrarnim jedinicama HKU (hidrogen-peroksid komplementarne jedinice), koje predstavljaju procenat H_2O_2 u standardnim rastvorima pomnožen sa 6.

3.4. Statistička analiza

Za statističku analizu korišćen je PASW® Statistic v. 25 (Chicago, Illinois, USA). Parametarskim i neparametarskim testovima poređene su dve i veći broj populacija u zavisnosti od distribucije podataka. Raspodela podataka proveravana je *Kolmogorov-Smirnov* testom. Podaci su prikazani kao aritmetička srednja vrednost \pm standardna devijacija za normalno distribuirane kontinuirane varijable i kao relativne i apsolutne frekvencije za kategoričke varijable. Pošto distribucije glukoze, TG, HDL-h, mokraćne kiseline, LDH, hsCRP, TnI, PTX3, HB-EGF, CyPA, AOPP, SH, TAS, TOS, SOD i PAB, nisu bile normalne, podaci su predstavljeni kao medijana i interkvartilni opseg.

Mann Whitney test ili *Student's t-test* za dve nezavisne populacije korišćeni su za poređenje dve grupe podataka. Za analizu malog broja podataka korišćen je *Mann Whitney exact* test. *Wilcoxon* test ili *Student's t-test* dve zavisne populacije korišćeni su za poređenje parametara pre i nakon sprovođenja pPCI procedure. Analiza varijanse sa *Tukey's post hoc* testom i *Kruskall Wallis* test sa *Mann Whitney U* testom kao post hoc testom uz *Bonferroni* korekciju korišćeni su za poređenje tri nezavisne grupe (kontrolna grupa, STEMI i SAP). Za ispitivanje homogenosti frekvencija korišćen je *Chi-kvadrat* test. Testiranje jačine veze između varijabli izvršeno je *Spearman* korelacijom analizom.

Referentni interval definisan je prema preporukama IFCC, tako što je određen interval između percentila od 95%; donja i gornja granica referentnog intervala su 2,5. odnosno 97,5. percentil (151).

Receiver operation curve (ROC) analizom ispitana je dijagnostička sposobnost analiziranih parametara u razdvajanju MINOCA od STEMI-KAB bolesnika. Swets (152) je predložio sledeći vodič za interpretaciju površine ispod ROC krivih (AUC): 0,5-0,7 niska tačnost; 0,7-0,9 tačnost koja je zadovoljavajuća za neke potrebe; >0,9 visoka tačnost. Pravljeni su modeli kombinovanjem inflamatornih parametara sa TnI a površine ispod krivih prikazane su kao C-statistika. ROC analiza je korišćena za definisanje visokih vrednosti inflamatornih parametara, a primenjena je na svim STEMI bolesnicima i kontrolnoj grupi. Za inflamatorne parametre sa statistički značajnom dijagnostičkom tačnošću izračunate su *cut off* vrednosti bazirane na maksimalnom Youden indeksu koji se određuje u tački u kojoj je razlika između osetljivosti (Se) odnosno pravih pozitivnih rezultata i 1-specifičnosti (Sp) ili lažno pozitivnih rezultata maksimalna (153).

U slučaju analize velikog broja varijabli postoji rizik od prekomernog fitovanja modela, tako da razumevanje odnosa između svake varijable može biti pogrešno. Kako bi se izbeglo formiranje prediktivnih modela baziranih na subjektivnom mišljenju istraživača korišćena je *Principal component* faktorska analiza (PCA). PCA je primenjena da bi se redukovao veliki broj ispitivanih nezavisnih

varijabli u grupi, pri čemu je svaka „nova“ varijabla kombinacija svake od početnih varijabli. Smanjenjem broja varijabli smanjena je verovatnoća za prekomerno fitovanje modela. Pošto PCA kombinuje početne prediktore, olakšano je razumevanju kako je svaka varijabla povezana sa drugom varijablom. Obradeni podaci uključili su normalno distribuirane varijable, dok su promenljive sa raspodelom koja nije bila normalna uvrštene nakon logaritamske transformacije. Izdvojeni faktori su određeni na osnovu *eigenvalues* >1. Za interpretaciju faktora korišćene su varijable sa faktorskim opterećenjima $\geq 0,5$. Rezultati su izračunati za faktore sa *eigenvalues* >1 i ti faktori su uključeni kao nezavisne promenljive u logističkoj regresionoj analizi.

Za procenu prediktivne sposobnosti ispitivanih parametara kao i dobijenih skorova za novoformljene faktore korišćena je logistička regresiona analiza. *Odds ratio* (OR) u logističkom modelu pokazuje koliko puta veću verovatnoću za pojavu nekog ishoda ima osoba koja ima povišenu vrednost posmatranog prediktora, u poređenju sa osobom koja nema povišenu vrednost datog prediktora. Izračunat je 95% interval pouzdanosti za predikciju. Odluke su donošene za nivo značajnosti <0,05.

4. REZULTATI

4.1. Ispitivani parametri kod STEMI bolesnika, bolesnika sa stabilnom anginom pektoris i zdravih osoba

Kod 87 STEMI bolesnika, 15 bolesnika sa SAP i 193 zdrave osobe izvršeno je poređenje demografskih i kliničkih karakteristika, lipidnih i inflamatornih parametara (hsCRP, PTX3, HBEGF i CypA) kao i parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite.

4.1.1. Poređenje demografskih i kliničkih karakteristika kao i osnovnih biohemijskih parametara u tri ispitivane grupe

Demografske i kliničke karakteristike kao i koncentracije analiziranih parametara u kontrolnoj, STEMI i SAP grupi prikazane su u Tabeli 1. Sve tri ispitivane grupe bile su ujednačene po starosti kao i po BMI. Zastupljenost muškaraca i pušača bila je značajno veća kod STEMI i bolesnika sa SAP u odnosu na kontrolne ispitanike. Osim toga, SAP bolesnici imali su manji broj okludiranih krvnih sudova u odnosu na STEMI bolesnike. SYNTAX skor je određen samo kod STEMI bolesnika, a kod 75% ovih bolesnika vrednost SYNTAX skora je bila niža od 22, što ih svrstava u grupu sa niskim skorom.

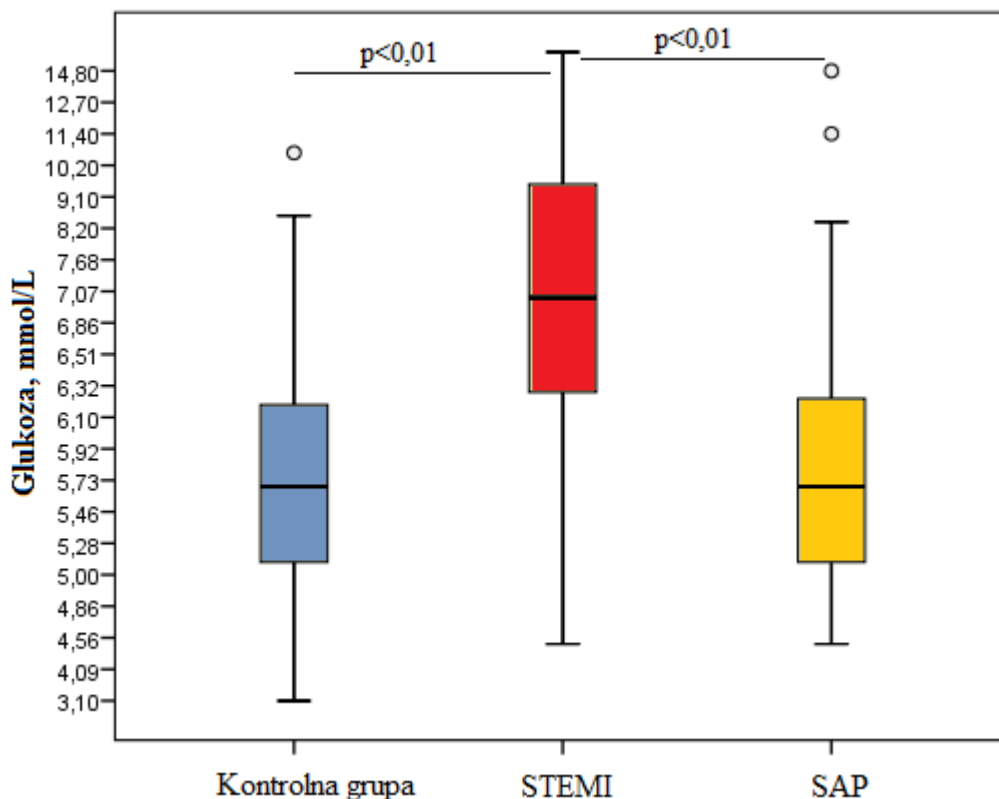
Svi ispitivani biohemijski parametri (glukoza, TH, TG, HDL-h, LDL-h, mokraćna kiselina i LDH), razlikovali su se između STEMI bolesnika i kontrolne grupe. Koncentracije najvećeg broja parametara (osim TH i HDL-h) bile su više kod STEMI bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu, a jedino su vrednosti TH i HDL-h bile značajno niže dok su koncentracije mokraćne kiseline bile značajno više kod SAP bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu. Na Slikama 6-12 prikazani su parametri čije su se koncentracije razlikovale između sve tri grupe.

Pokazana je statistički značajna razlika između SAP i STEMI grupa samo u četiri laboratorijska parametra: glukoza, TH, LDL-h i LDH. Koncentracije sva četiri parametra bile su više kod STEMI u poređenju sa grupom bolesnika sa SAP (Tabela 1).

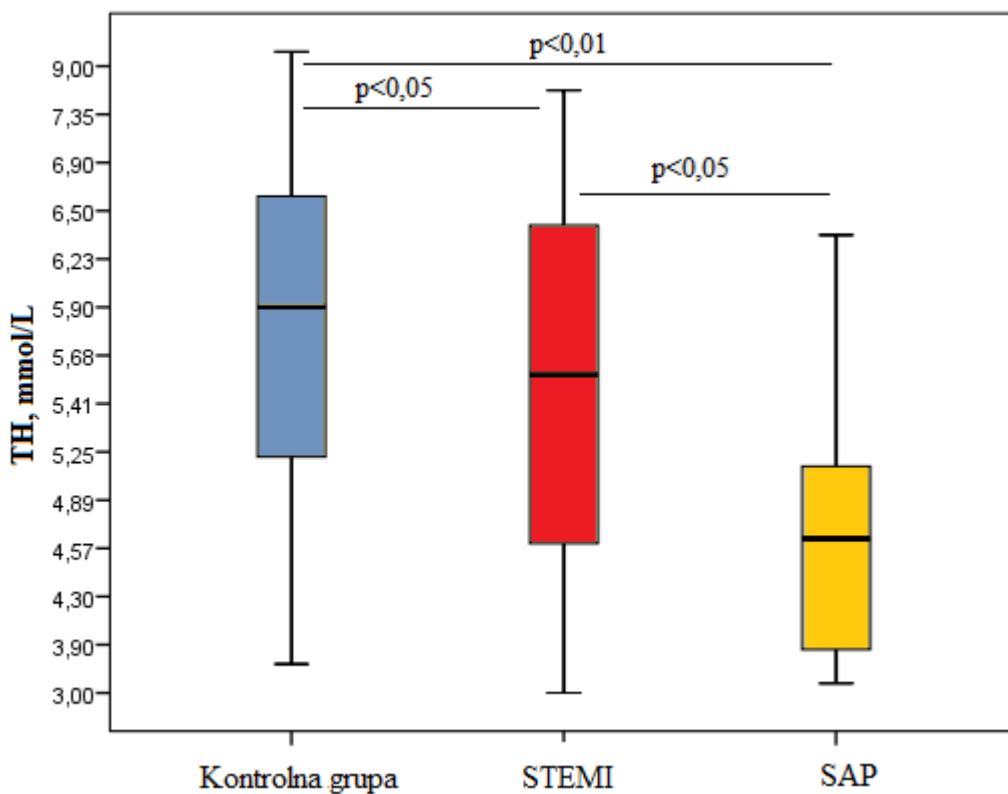
Tabela 1. Demografske i kliničke karakteristike kao i koncentracije biohemijskih parametara u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP

Varijabla	Kontrolna grupa	STEMI	SAP	p
N	193	87	15	
Starost, godine	56,06±10,16	60,49±12,21	60,07±8,99	0,922 ^a
Pol, muškarci %	36,8	68,9 ^{**}	66,7 ^{**}	<0,01 ^b
BMI, kg/m ²	26,08±4,48	26,34±4,05	28,32±4,84	0,898 ^a
Pušači, %	25,9	43,3 ^{**}	40,0 ^{**}	<0,001 ^b
Okludirani krvni sudovi, N	/	1,0 (1,0-3,0)	0,0 (0,0-1,0)	0,002 ^c
Implantirani stentovi, N	/	1,0 (1,0-2,0)	/	/
SYNTAX skor	/	14,0 (8,0-18,0)	/	/
Glukoza, mmol/L	5,65 (5,20-6,21)	7,00 (6,30-9,53) ^{**}	5,70 (5,10-6,50) ^{##}	<0,001 ^c
TH, mmol/L	5,90±1,09	5,51±1,16 [*]	4,56±0,91 ^{*,#}	<0,01 ^a
TG, mmol/L	1,27 (0,93-1,73)	1,68 (1,20-2,56) ^{***}	1,52 (1,08-3,04)	<0,001 ^c
HDL-h, mmol/L	1,46 (1,29-1,76)	0,99 (0,82-1,26) ^{***}	1,17 (0,95-1,40) ^{**}	<0,001 ^c
LDL-h, mmol/L	2,99±0,76	3,43±1,07 [*]	2,36±0,42 [#]	<0,001 ^a
Mokraćna kiselina, μmol/L	263,5 (208,9-329,3)	306,0 (241,0-364,7) ^{**}	316,5 (283,7-424,0) ^{**}	0,001 ^c
LDH, IU/L	352 (289-418)	456 (349-658) ^{***}	284 (224-351) ^{##}	<0,001 ^c
TnI _{prijem} , μg/L	/	0,33 (0,06-2,62)	/	/
TnI _{max} , μg/L	/	14,35 (4,30-28,79)	/	/

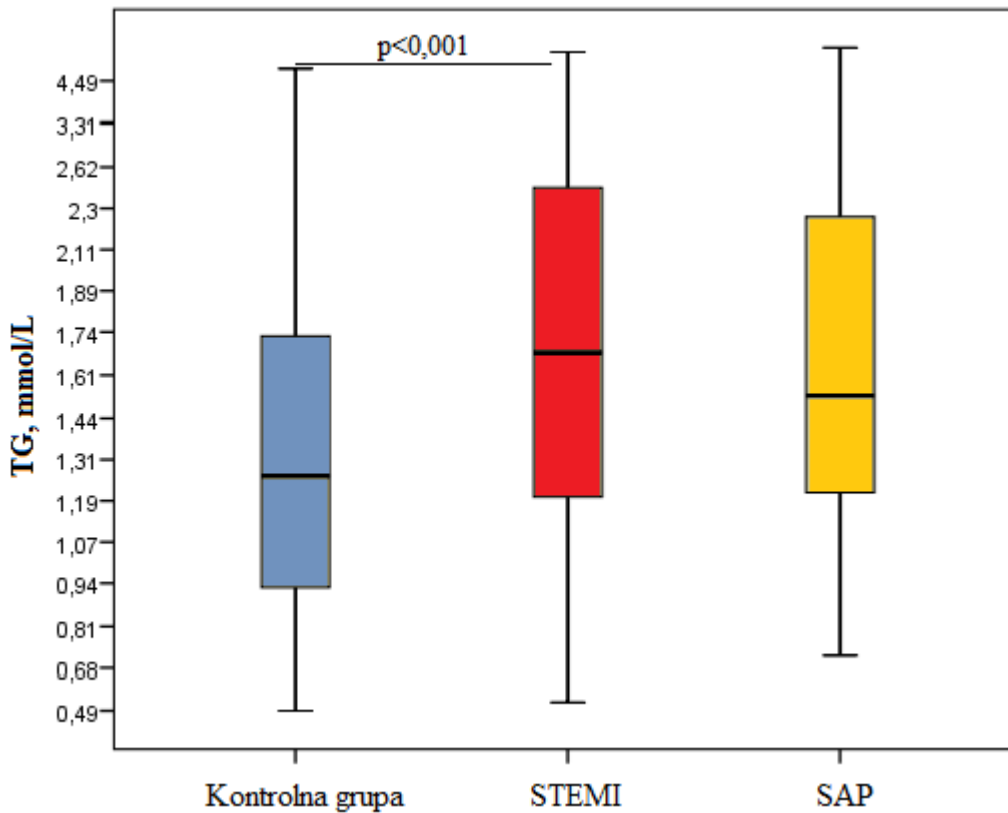
* $p < 0,05$ vs kontrolna grupa; *** $p < 0,001$ vs kontrolna grupa; # $p < 0,05$ vs STEMI; ## $p < 0,01$ vs STEMI; Poređenje ^aANOVA sa Tuckey post hoc testom, ^b χ^2 testom homogenosti, ^cKruskal Wallis testom sa Mann Whitney post hoc testom uz Bonferony korekciju; Normalno distribuirane kontinuirane varijable predstavljene su kao srednja vrednost \pm SD, varijable sa distribucijom koja nije bila normalna predstavljene su kao medijana i interkvartilni raspon, kategoričke varijable prikazane su kao apsolutne i relativne frekvence; (BMI-indeks telesne mase; TH-totalni holesterol; TG-trigliceridi; HDL-h - HDL-holesterol; LDL-h – LDL-holesterol; LDH-laktat dehidrogenaza; TnI – troponin I).



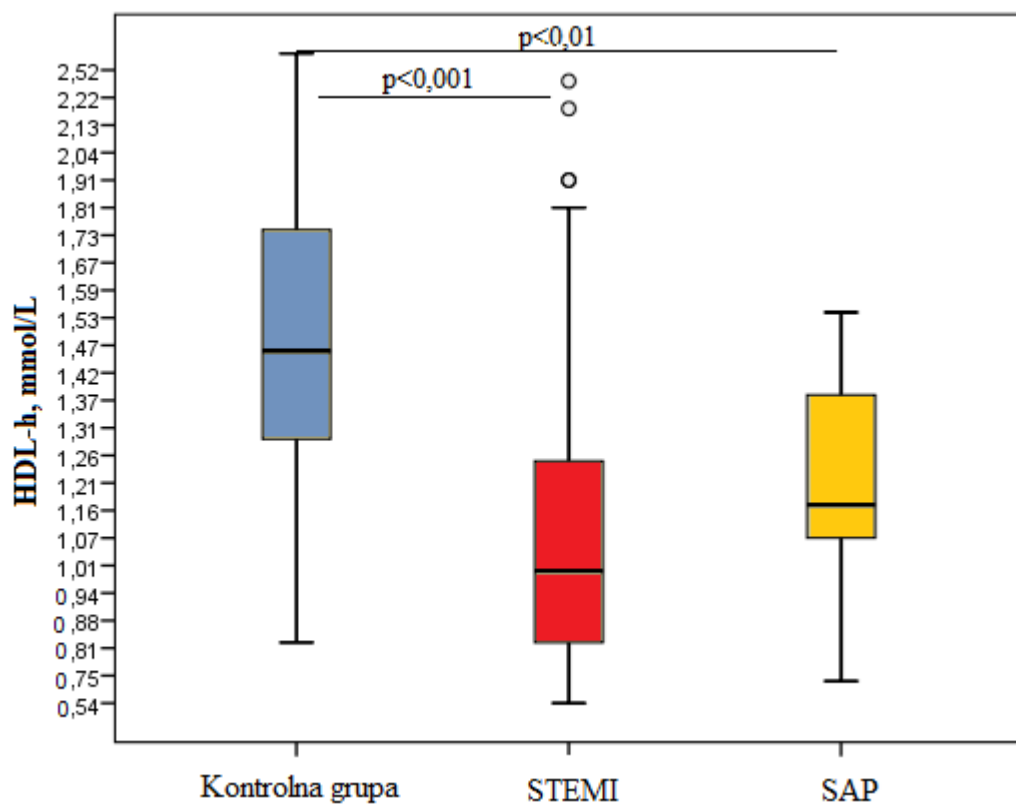
Slika 6. Koncentracija glukoze u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP



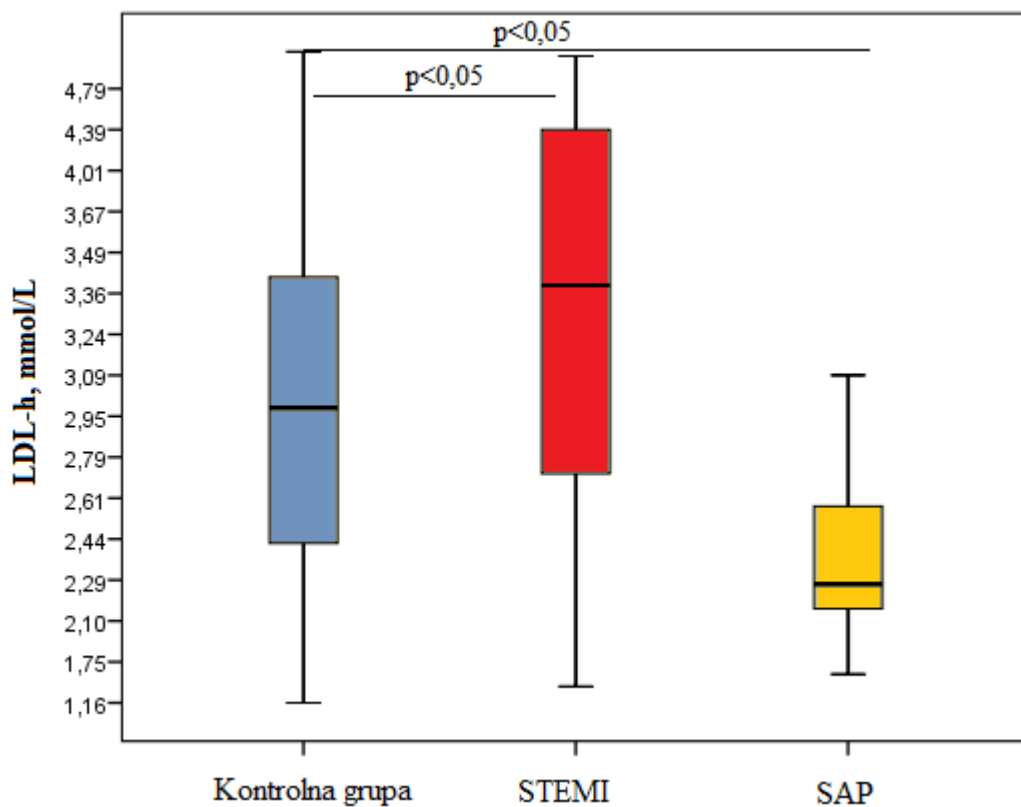
Slika 7. Koncentracija TH u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP



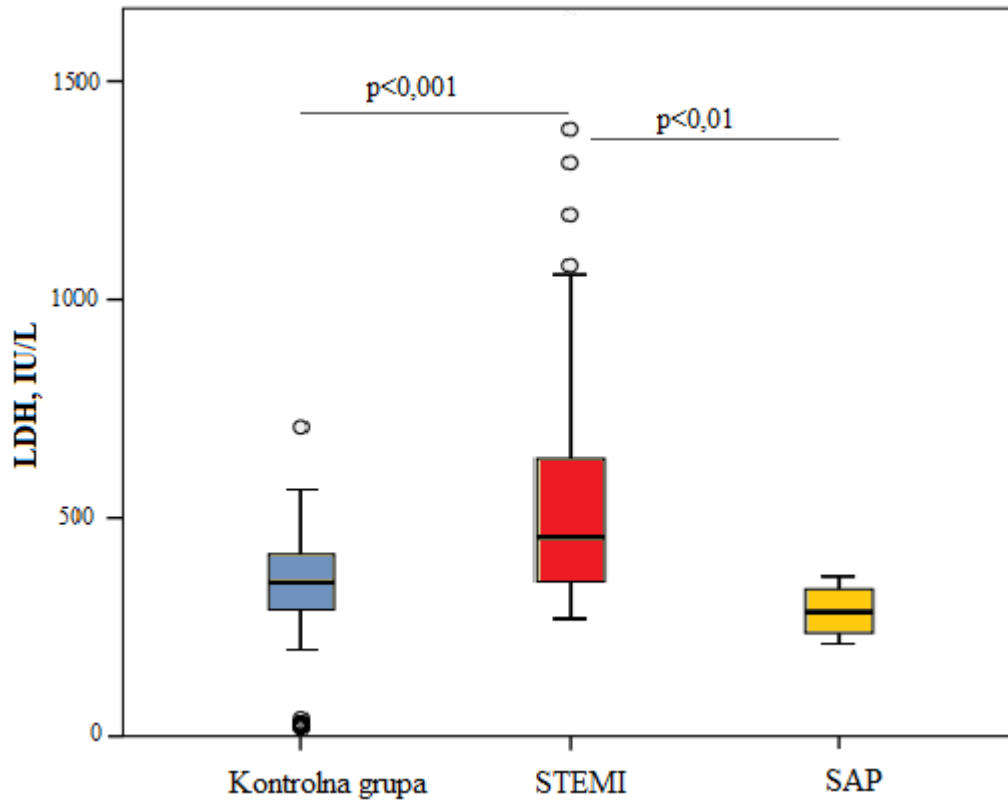
Slika 8. Koncentracija TG u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP



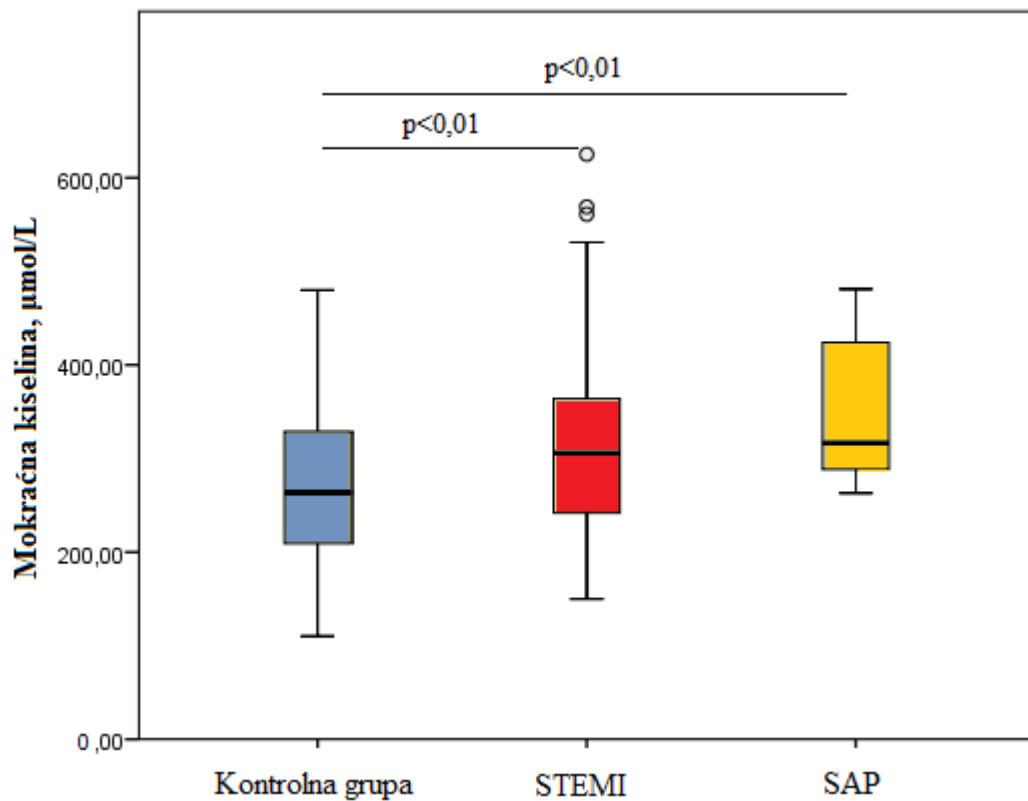
Slika 9. Koncentracija HDL-h u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP



Slika 10. Koncentracija LDL-h u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP



Slika 11. Aktivnost LDH u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP



Slika 12. Koncentracija mokraćne kiseline u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP

4.1.2. Inflamatorni parametri u tri ispitivane grupe

U Tabeli 2 prikazane su vrednosti inflamatornih parametara u kontrolnoj grupi i kod STEMI i SAP bolesnika. Koncentracije PTX3 i hsCRP bile su značajno više ($p < 0,001$ za PTX3, $p < 0,01$ za hsCRP) u obe grupe bolesnika u poređenju sa kontrolnim ispitanicima (Slike 13 i 14) dok su koncentracije HB-EGF bile više u STEMI grupi u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,001$, Slika 15). Koncentracija CyPA nisu bile statistički značajno različite između tri grupe. Rezultati su prikazani u Tabeli 2.

Tabela 2. Koncentracije inflamatornih parametara u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP

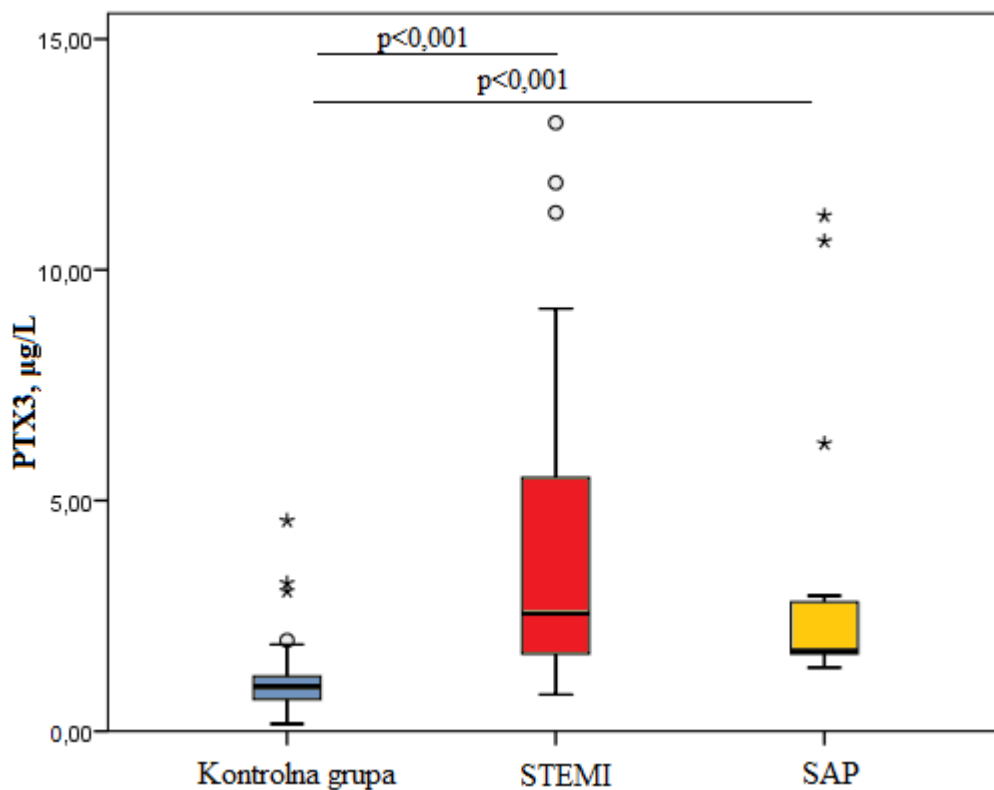
Varijabla	Kontrolna grupa	STEMI	SAP	p
N	193	87	15	
hsCRP, mg/L	0,60 (0,25-1,75)	4,50 (2,10-15,40)**	3,09 (0,85-6,89)**	<0,01
PTX3, $\mu\text{g/L}$	0,97 (0,69-1,19)	2,55 (1,67-5,52)***	1,74 (1,65-2,94)***	<0,001
CyPA, $\mu\text{g/L}$	6,64 (3,35-14,71)	8,62 (4,37-15,26)	13,48 (3,59-32,33)	0,156
HB-EGF, ng/L	7,33 (2,55-15,69)	12,26 (10,91-14,28)***	10,74 (9,76-17,79)	<0,001

** $p < 0,01$ vs kontrolna grupa; *** $p < 0,001$ vs kontrolna grupa

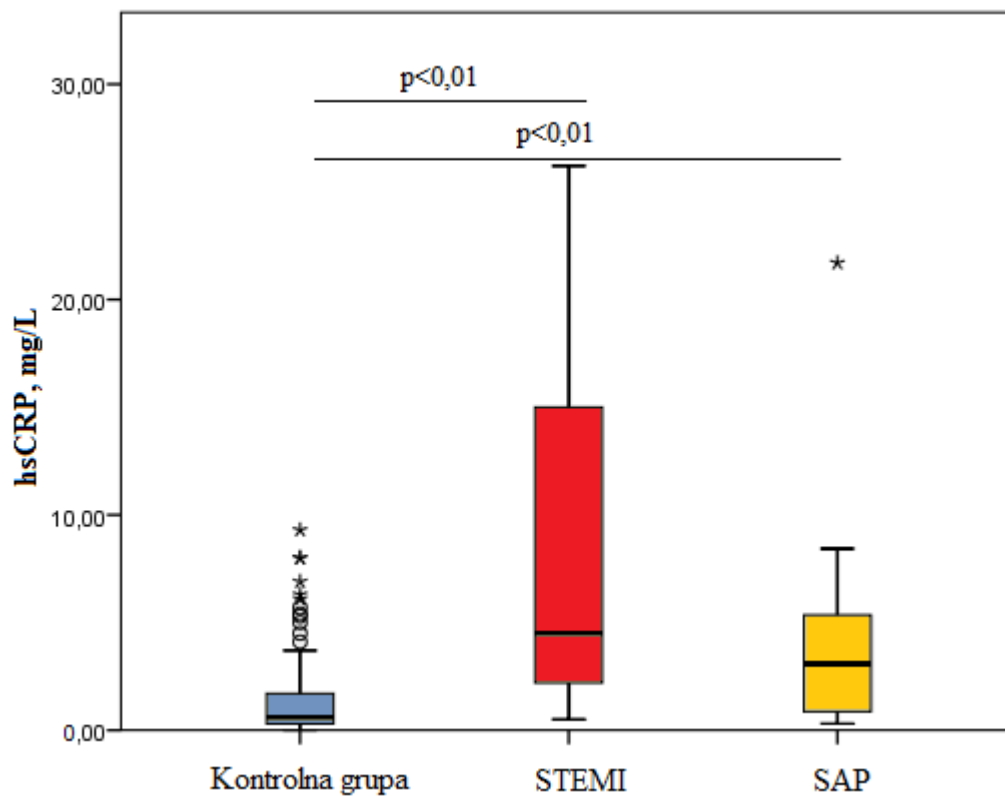
Poređenje izvršeno Kruskal Wallis testom sa Mann Whitney post hoc testom uz Bonferony korekciju;

Vrednosti svih parametara predstavljene su kao medijana i interkvartilni raspon.

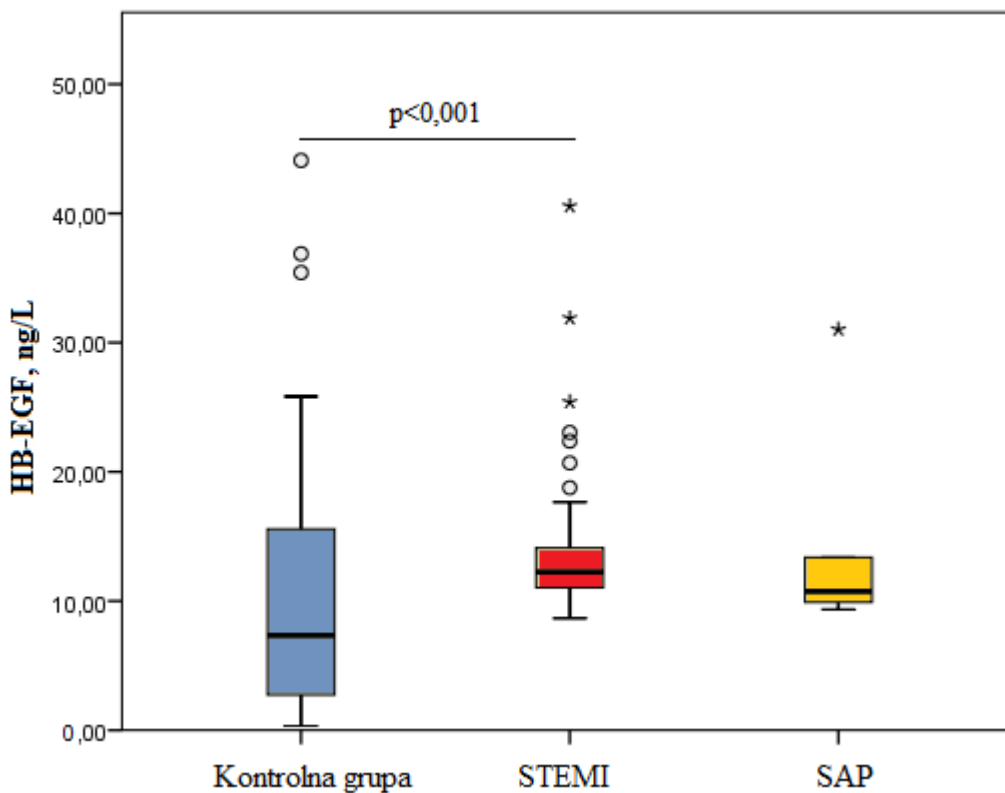
(PTX3 – pentraksin-3; hsCRP – visokoosetljivi C-reaktivni protein; CyPA – ciklofilin A; HB-EGF – heparin-vezujući epidermalni faktor rasta)



Slika 13. Koncentracija PTX3 u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP



Slika 14. Koncentracija hsCRP u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP



Slika 15. Koncentracija HB-EGF u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP

4.1.3. Parametari oksidativnog stresa u tri ispitivane grupe

U Tabeli 3 prikazani su parametri oksidativnog stresa kod bolesnika sa STEMI i SAP kao i kod kontrolnih ispitanika. Bolesnici sa STEMI imali su značajno više vrednosti PAB (Slika 16), u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,001$) kao i u odnosu na SAP grupu ($p < 0,05$). Vrednosti AOPP bile su značajno niže kod STEMI bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0,001$, Slika 17).

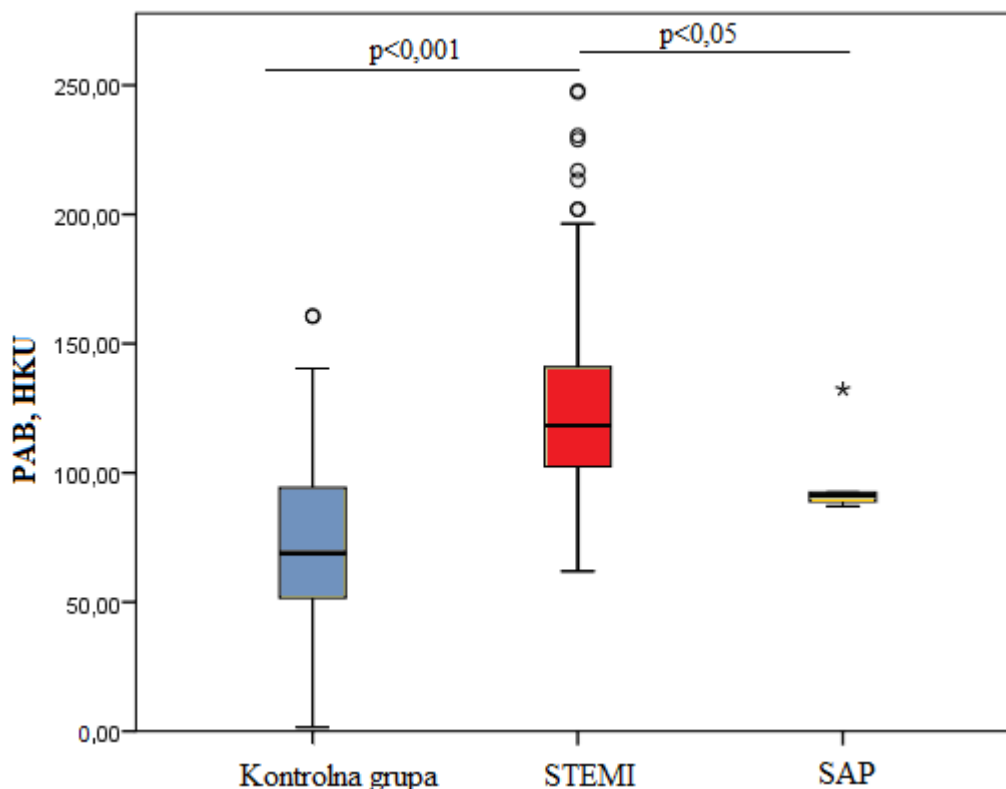
Tabela 3. Vrednosti parametara oksidativnog stresa u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP

Varijabla	Kontrolna grupa	STEMI	SAP	p
N	193	87	15	
AOPP, $\mu\text{mol/L}$	31,6 (26,3-38,2)	22,7 (14,0-35,9) ^{***}	23,6 (20,3-35,6)	<0,001
TOS, mmol/L	18,1 (11,4-23,1)	18,7 (7,6-27,3)	20,3 (18,4-34,7)	0,400
PAB, HKU	68,9 (51,6-94,3)	118,3 (101,1-141,3) ^{***}	91,2 (88,4-102,4) [#]	<0,001

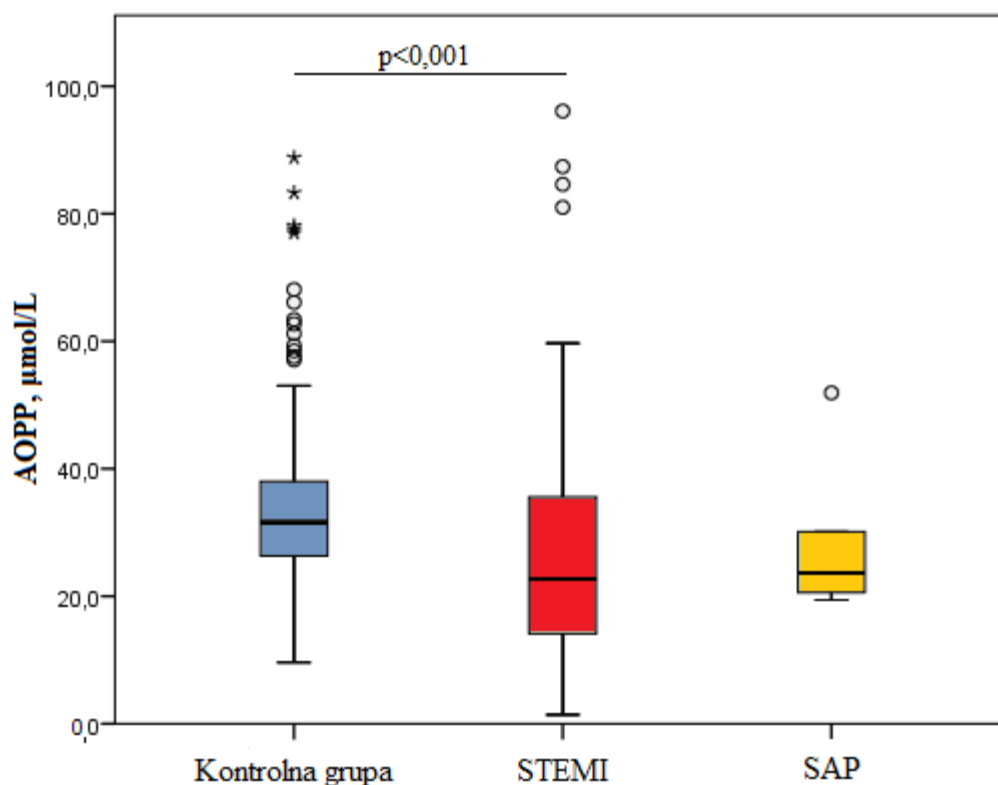
^{***} $p < 0,001$ vs kontrolna grupa; [#] $p < 0,05$ vs STEMI

Poređenje izvršeno Kruskal Wallis testom sa Mann Whitney post hoc testom uz Bonferony korekciju; Vrednosti svih parametara predstavljene su kao medijana i interkvartilni raspon.

(AOPP – uznapredovali produkti oksidacije proteina; TOS - totalni oksidativni status; PAB - prooksidativno-antioksidativni balans)



Slika 16. Vrednosti PAB u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP



Slika 17. Koncentracija AOPP u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP

4.1.4. Parametari antioksidativne zaštite u tri ispitivane grupe

U Tabeli 4 prikazane su vrednosti parametara antioksidativne zaštite kod bolesnika sa STEMI, SAP i u kontrolnoj grupi. Koncentracije SH-grupa i TAS bile su značajno niže kod STEMI bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu ($p<0,001$ za SH-grupe, $p<0,01$ za TAS). SAP grupa imala je značajno više vrednosti SH-grupa i TAS i u odnosu na kontrolnu grupu ($p<0,05$ za SH-grupe, $p<0,01$ za TAS), kao i u odnosu na STEMI grupu ($p<0,01$ za oba parametra, Slike 18 i 19). Bolesnici sa STEMI imali su značajno više aktivnosti SOD u odnosu na kontrolnu grupu ($p<0,001$, Slika 20).

Tabela 4. Vrednosti parametara antioksidativne zaštite u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP

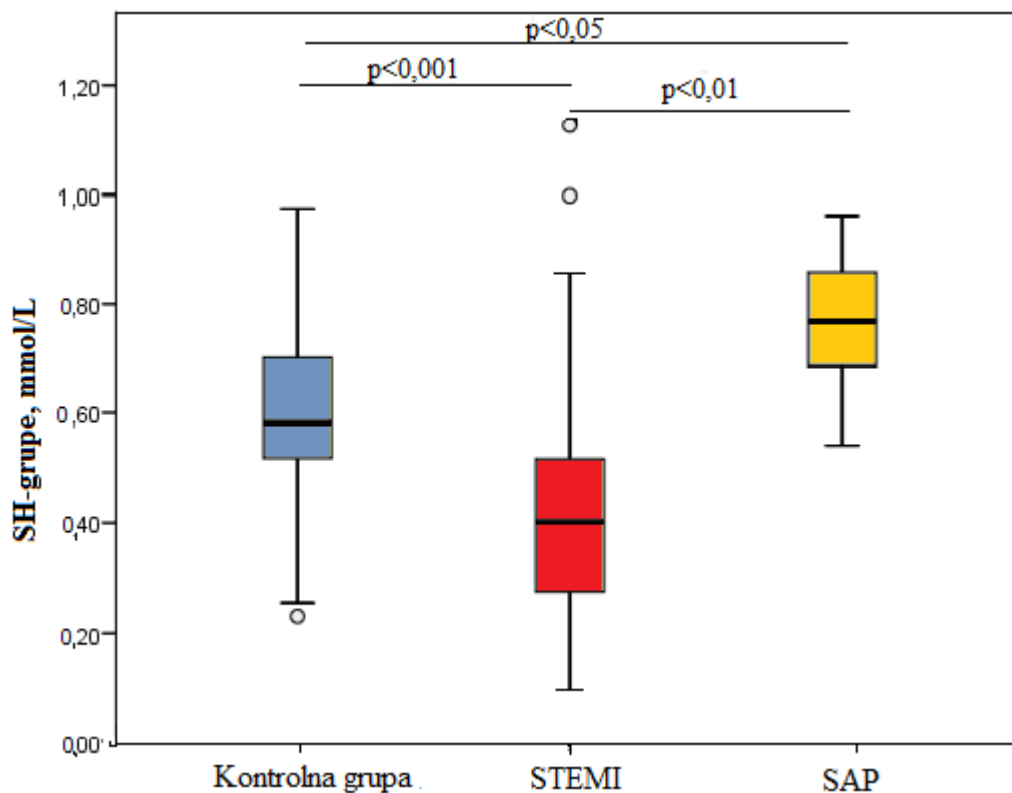
Varijabla	Konrolna grupa	STEMI	SAP	p
N	193	87	15	
SH, mmol/L	0,58 (0,52-0,71)	0,40 (0,27-0,52)***	0,77 (0,65-0,88)*,##	<0,001
TAS, mmol/L	1140 (775-1300)	897 (700-1126)**	1586 (1397-1871)*,##	0,003
SOD, U/L	126 (83-134)	138 (118-184)***	102 (100-145)	<0,001

* $p<0,05$ vs kontrolna grupa; ** $p<0,01$ vs kontrolna grupa; *** $p<0,001$ vs kontrolna grupa;

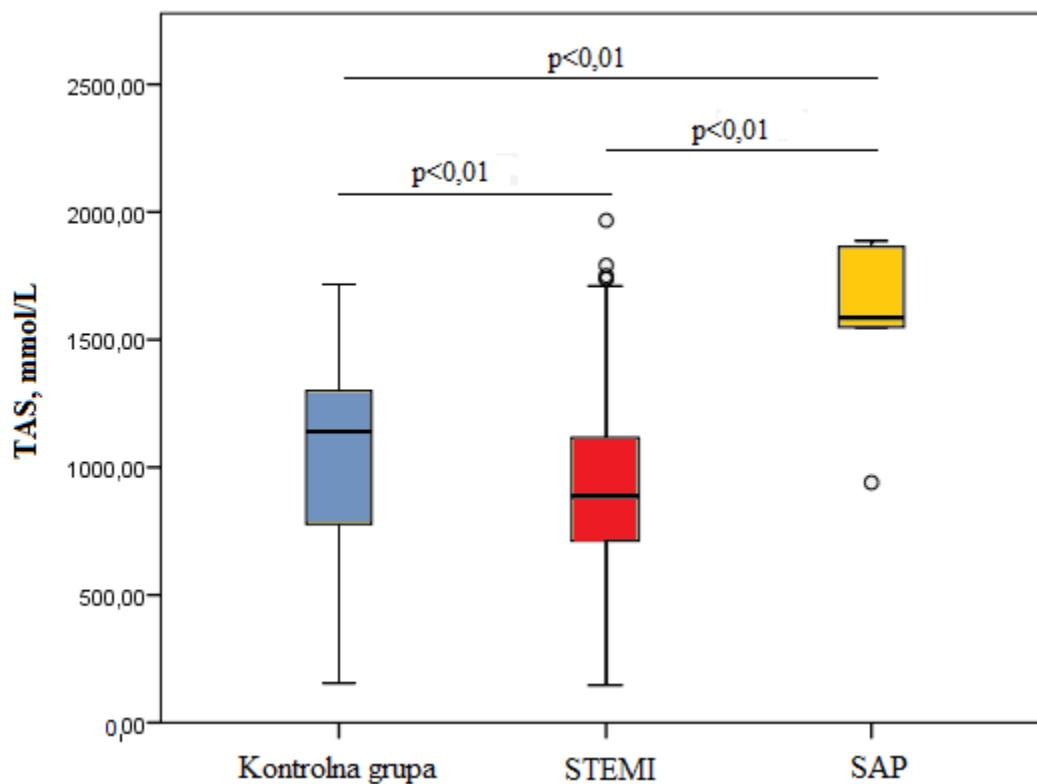
$p<0,01$ vs STEMI

Kontinuirane varijable su poređene Kruskal Wallis testom (sa Mann Whitney post hoc testom uz Bonferony korekciju). Vrednosti svih parametara predstavljene su kao medijana i interkvartilni raspon.

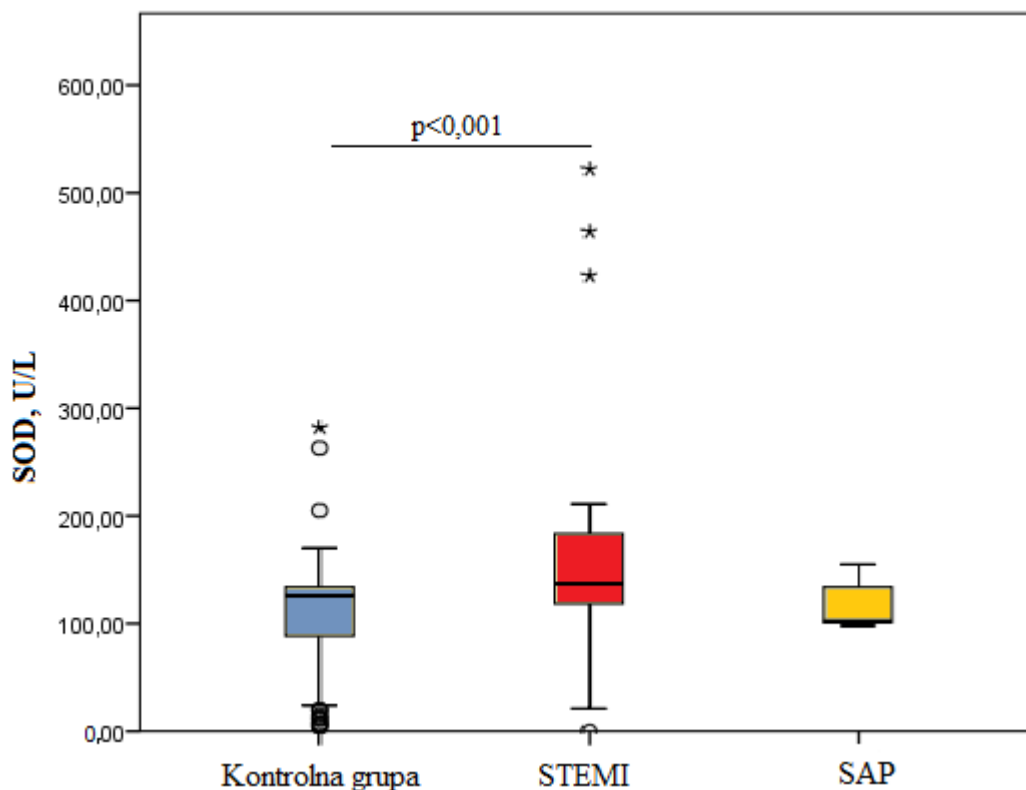
(SH – sadržaj sulfhidrilnih grupa; TAS – totalni antioksidativni status; SOD – superoksid dismutaza)



Slika 18. Sadržaj SH-grupa u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP



Slika 19. Vrednosti TAS u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP



Slika 20. Aktivnost SOD u kontrolnoj grupi i kod bolesnika sa STEMI i SAP

4.2. Poređenje inflamatornih parametara kod kontrolnih ispitanika i STEMI bolesnika prema polu i starosti

Zastupljenost muškaraca bila je veća u STEMI grupi u odnosu na kontrolnu grupu dok su dve grupe bile ujednačene u odnosu na starost (Tabela 1). Kako bi se utvrdilo da li pol i starost interferiraju sa ispitivanim inflamatornim parametrima testirana je promena ovih parametara u odnosu na pol i godine u svakoj grupi posebno. Dodatno su u kontrolnoj grupi izračunati referentni intervali za nove inflamatorne parametre.

4.2.1. Poređenje inflamatornih parametara kod kontrolnih ispitanika prema polu

U Tabeli 5 prikazane su koncentracije inflamatornih parametara kod muškaraca i žena u kontrolnoj grupi. Nađena je značajno viša koncentracija HB-EGF kod muškaraca u odnosu na žene ($p=0,002$, Slika 21), dok se ostali ispitivani inflamatorni parametri nisu razlikovali u odnosu na pol.

Tabela 5. Koncentracije inflamatornih parametara kod muškaraca i žena u kontrolnoj grupi

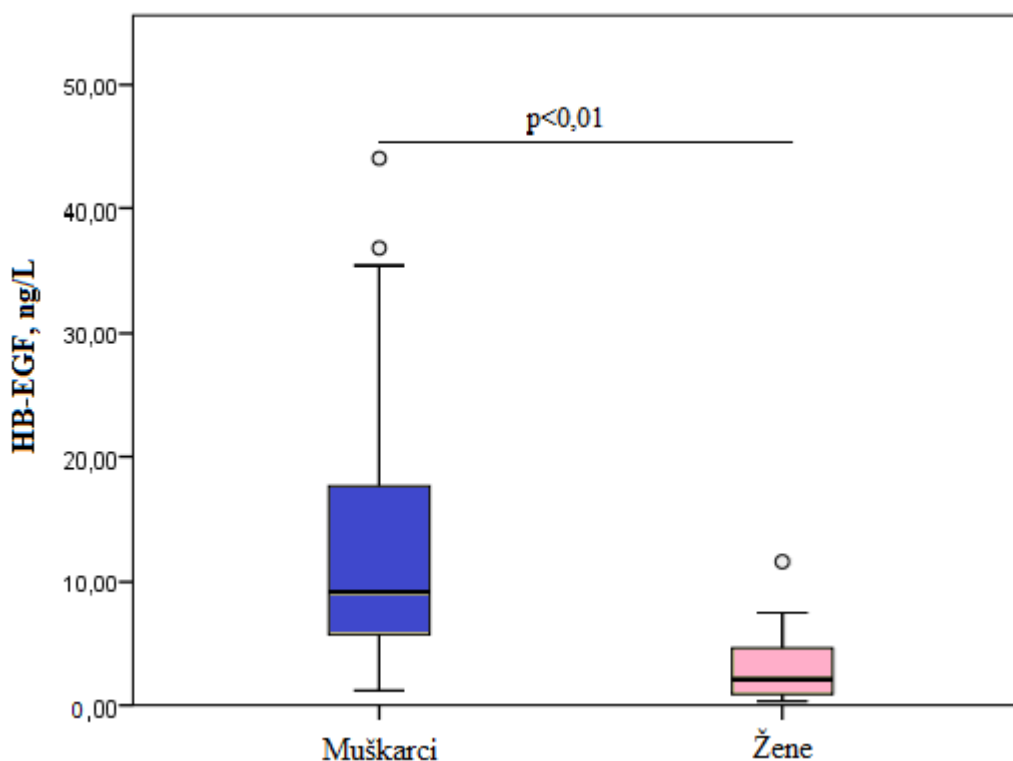
Varijabla	Muškarci	Žene	P
N	71	122	
hsCRP, mg/L	0,65 (0,30-2,70)	0,50 (0,20-1,60)	0,327
PTX3, µg/L	0,96 (0,59-1,16)	0,99 (0,72-1,30)	0,160
CyPA, µg/L	9,02 (3,18-18,82)	6,45 (3,38-14,46)	0,383
HB-EGF, ng/L	9,17 (5,83-18,01)	2,14 (0,70-6,08)	0,002

Poređenje izvršeno Mann Whitney testom.

Sve varijable su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon.

(PTX3 – pentraksin-3; hsCRP – visokoosetljivi C-reaktivni protein; CyPA – ciklofilin A;

HB-EGF - heparin-vezujući epidermalni faktor rasta)



Slika 21. Koncentracija HB-EGF u grupi kontrolnih ispitanika podeljenih prema polu

4.2.2. Poređenje inflamatornih parametara kod kontrolnih ispitanika prema godinama starosti

U Tabeli 6 prikazane su vrednosti inflamatornih parametara kod kontrolnih ispitanika podeljenih u tri starosne grupe. U grupi kontrolnih ispitanika, osobe preko 65 godina starosti imale su najviše vrednosti PTX3 ($p=0,018$ u odnosu na grupu mlađih od 55 godina, Slika 22), dok su koncentracije HB-EGF značajno opadale sa starenjem ($p=0,023$ za starosnu grupu 56-65 godina u odnosu na najmlađu grupu, Slika 23).

Tabela 6. Koncentracije inflamatornih parametara kod kontrolnih ispitanika podjeljenih prema godinama starosti

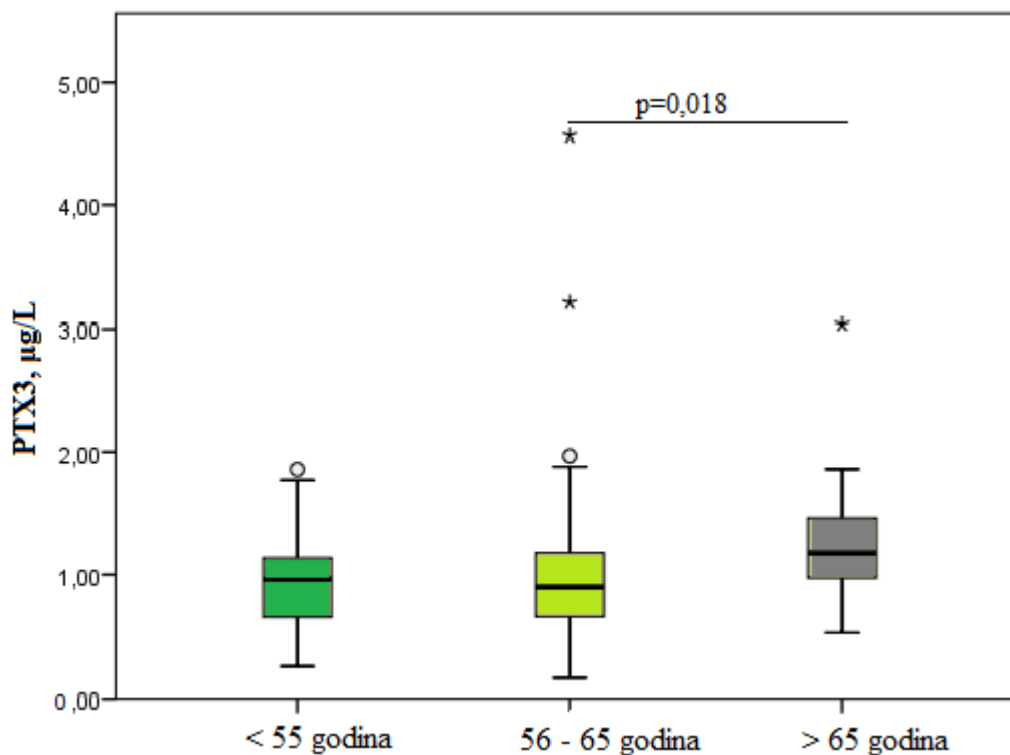
Varijabla	< 55 godina	56-65 godina	> 65 godina	P
N	77	91	25	
hsCRP, mg/L	0,50 (0,27-1,50)	1,10 (0,25-2,35)	0,45 (0,20-3,37)	0,373
PTX3, µg/L	0,96 (0,66-1,14)	0,90 (0,66-1,18)	1,18 (0,94-1,48) [#]	0,018
CyPA, µg/L	6,54 (3,92-12,83)	6,55 (3,08-14,37)	10,11 (3,87-18,87)	0,880
HB-EGF, ng/L	9,17 (5,83-19,17)	4,72 (1,04-10,97) [*]	2,26 (2,14-2,56)	0,023

^{*} $p < 0,05$ vs starosna grupa <55 godina; [#] $p < 0,05$ vs starosna grupa od 56-65 godina

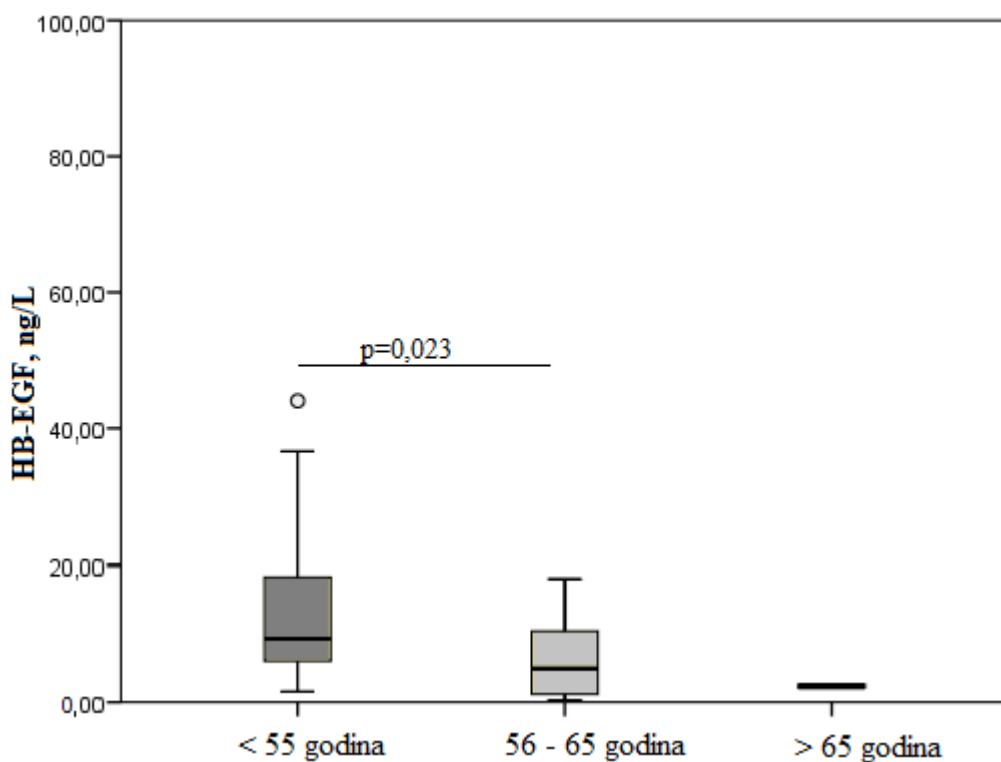
Poređenje izvršeno Kruskal Wallis testom (sa Mann Whitney post hoc testom uz Bonferony korekciju).

Sve varijable predstavljene su kao medijana i interkvartilni raspon.

(PTX3 – pentraksin-3; hsCRP – visokoosetljivi C-reaktivni protein; CyPA – ciklofilin A; HB-EGF – heparin-vezujući epidermalni faktor rasta)



Slika 22. Koncentracija PTX3 u grupi kontrolnih ispitanika podjeljenih prema godinama starosti



Slika 23. Koncentracija HB-EGF u grupi kontrolnih ispitanika podjeljenih prema godinama starosti

4.2.3. Referentni intervali za ispitivane inflamatorne parametre

Kao što se može videti iz Tabela 5 i 6, koncentracija CyPA se ne razlikuje značajno ni u odnosu na starost ispitanika, niti u odnosu na pol. Rezultati analize PTX3 su pokazali da među kontrolnim ispitanicima postoji statistički značajna razlika u koncentracijama ovog parametra kod osoba mlađih od 65 godina u odnosu na starije osobe, dok razlika u odnosu na pol nije dokazana. Koncentracije HB-EGF značajno se razlikuju u odnosu na pol, ali nije dokazana statistički značajna razlika u odnosu na godine starosti u populaciji muškaraca, kao ni među ženama. Određivanjem 2,5. i 97,5. percentila kod kontrolnih ispitanika određeni su referentni intervali za sve ispitivane inflamatorne parametre (Tabela 7).

Tabela 7. Referentni intervali za ispitivane inflamatorne parametre

Parametar	N	Referentni interval	
PTX3, µg/L (osobe mlađe od 65 godina)	168	0,27-1,89	
CyPA, µg/L	193	0,21-15,21	
HB-EGF, ng/L	Muškarci	71	1,20-18,97
	Žene	122	0,34-14,59

4.2.4. Poređenje inflamatornih parametara kod STEMI bolesnika prema polu

U Tabeli 8 prikazane su koncentracije inflamatornih parametara kod STEMI bolesnika podeljenih prema polu. U ovoj grupi bolesnika nije zabeležena statistički značajna razlika između muškaraca i žena ni za jedan od ispitivanih parametara inflamacije.

Tabela 8. Koncentracije inflamatornih parametara kod muškaraca i žena sa STEMI

Varijabla	Muškarci	Žene	P
N	62	25	
hsCRP, mg/L	4,15 (2,15-13,85)	6,50 (1,60-18,70)	0,671
PTX3, µg/L	2,59 (1,71-5,43)	2,40 (1,51-5,04)	0,417
CyPA, µg/L	7,93 (4,92-14,71)	8,82 (3,90-19,02)	0,796
HB-EGF, ng/L	12,18 (10,57-13,89)	12,29 (10,91-14,03)	0,721

Poređenje izvršeno Mann Whitney testom. Sve varijable su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon (PTX3 – pentraksin-3; hsCRP – visokoosetljivi C-reaktivni protein; CyPA – ciklofilin A; HB-EGF - heparin-vezujući epidermalni faktor rasta)

4.2.5. Poređenje inflamatornih parametara kod bolesnika sa STEMI prema godinama starosti

U Tabeli 9 prikazane su koncentracije ispitivanih inflamatornih parametara kod STEMI bolesnika podeljenih u tri starosne grupe. Kao što se može videti, nije nađena statistički značajna razlika u inflamatornim parametrima u odnosu na starosnu dob u ovoj grupi bolesnika.

Tabela 9. Koncentracije inflamatornih parametara u plazmi STEMI bolesnika podeljenih prema godinama starosti

Varijabla	< 55 godina	56-65 godina	> 65 godina	P
N	28	32	27	
hsCRP, mg/L	4,30 (2,92-5,92)	3,15 (1,27-20,30)	7,50 (2,30-23,00)	0,637
PTX3, µg/L	2,54 (1,59-5,79)	2,23 (1,62-3,68)	2,55 (1,89-6,75)	0,332
CyPA, µg/L	8,72 (5,80-16,74)	6,64 (3,87-16,94)	7,04 (3,92-14,23)	0,444
HB-EGF, ng/L	12,26 (11,19-14,39)	11,70 (10,35-13,38)	12,25 (10,85-14,34)	0,300

Poređenje izvršeno Kruskal Wallis testom (sa Mann Whitney post hoc testom uz Bonferony korekciju). Sve varijable su predstavljene su kao medijana i interkvartilni raspon. (PTX3 – pentraksin-3; hsCRP – visokoosetljivi C-reaktivni protein; CyPA – ciklofilin A; HB-EGF - heparin-vezujući epidermalni faktor rasta)

4.3. Korelacija inflamatornih parametara sa drugim ispitivanim parametrima u kontrolnoj grupi i kod STEMI bolesnika

Spearman korelacionom analizom ispitivana je povezanost i jačina veze između inflamatornih markera (PTX3, hsCRP, CyPA i HB-EGF) i drugih ispitivanih laboratorijskih parametara, demografskih i kliničkih karakteristika, kao i parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite među kontrolnim ispitanicima i STEMI bolesnicima.

4.3.1. Korelacija inflamatornih parametara sa demografskim i biohemijskim parametrima u kontrolnoj grupi

U Tabeli 10 i na Slikama 24-26 prikazana je zavisnost demografskih i biohemijskih parametara sa inflamatornim markerima u kontrolnoj grupi. Utvrđena je značajna negativna korelacija između HB-EGF i starosti ($p < 0,001$, Slika 24), kao i između PTX3 i BMI ($p < 0,05$, Slika 25), dok je hsCRP u pozitivnoj korelaciji sa BMI ($p < 0,05$) i koncentracijom TG ($p < 0,01$) među kontrolnim ispitanicima (Slika 26, Tabela 10).

Tabela 10. Korelacija demografskih i biohemijskih parametara sa markerima inflamacije kod kontrolnih ispitanika

Varijabla	hsCRP	PTX3	HB-EGF	CyPA
Starost, godine	-0,011	0,106	-0,439***	0,046
BMI, kg/m ²	0,242*	-0,267*	0,166	0,098
Glukoza, mmol/L	-0,080	-0,028	-0,129	-0,024
TH, mmol/L	-0,052	-0,060	-0,023	-0,036
TG, mmol/L	0,318**	0,059	-0,052	0,073
HDL-h, mmol/L	-0,177	-0,151	-0,239	0,004
LDL-h, mmol/L	0,028	-0,154	0,121	-0,093
Mokraćna kiselina, μmol/L	0,109	0,014	0,289	0,092
LDH, IU/L	0,042	0,109	-0,110	-0,043

*** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$

Prikazane su vrednosti Spearman koeficijenata korelacije (ρ)

4.3.2. Korelacija između inflamatornih parametara u kontrolnoj grupi

Ispitivana je međuzavisnost inflamatornih parametara u kontrolnoj grupi. Nije uočena značajna povezanost između ispitivanih inflamatornih parametara kod kontrolnih ispitanika. Rezultati su prikazani u Tabeli 11.

Tabela 11. Spearman korelaciona analiza između markera inflamacije kod kontrolnih ispitanika

Varijabla	hsCRP	PTX3	CyPA	HB-EGF
hsCRP, mg/L	1	-0,081	-0,074	0,032
PTX3, μg/L	-0,081	1	0,050	-0,031
CyPA, μg/L	-0,074	0,050	1	0,020
HB-EGF, ng/L	0,032	-0,031	0,020	1

Prikazane su vrednosti Spearman koeficijenata korelacije (ρ)

4.3.3. Korelacija inflamatornih parametara sa parametrima oksidativnog stresa u kontrolnoj grupi

U grupi kontrolnih ispitanika ispitana je zavisnost inflamatornih markera od parametara oksidativnog stresa, i utvrđena je pozitivna korelacija između hsCRP i TOS ($p < 0,01$, Slika 26). Rezultati su prikazani u Tabeli 12.

Tabela 12. Spearman korelaciona analiza između parametara oksidativnog stresa i markera inflamacije kod kontrolnih ispitanika

Varijabla	hsCRP	PTX3	CyPA	HB-EGF
AOPP, $\mu\text{mol/L}$	0,020	-0,037	0,042	-0,067
TOS, mmol/L	0,358**	0,017	0,049	0,072
PAB, HKU	0,141	0,108	0,003	-0,112

** $p < 0,01$

Prikazane su vrednosti Spearman koeficijenata korelacije (ρ)

4.3.4. Korelacija inflamatornih parametara sa parametrima antioksidativne zaštite u kontrolnoj grupi

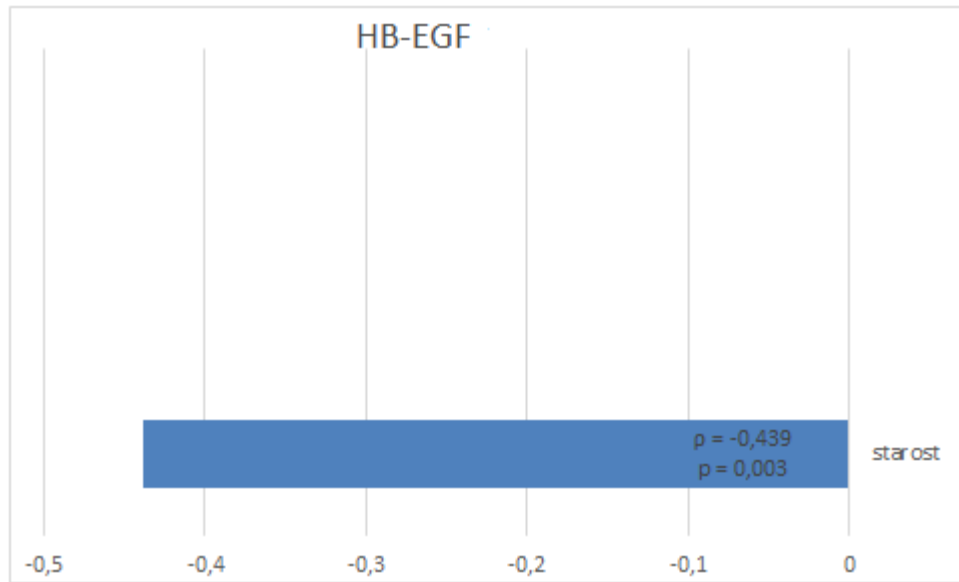
Ispitivana je zavisnost inflamatornih markera od parametara antioksidativne zaštite u kontrolnoj grupi. Utvrđena je značajna negativna povezanost između PTX3 i sadržaja SH-grupa ($p < 0,05$, Slika 25), dok je za hsCRP pokazana negativna korelacija sa TAS ($p < 0,05$, Slika 26). Rezultati su prikazani u Tabeli 13.

Tabela 13. Spearman korelaciona analiza između parametara antioksidativne zaštite i markera inflamacije kod kontrolnih ispitanika

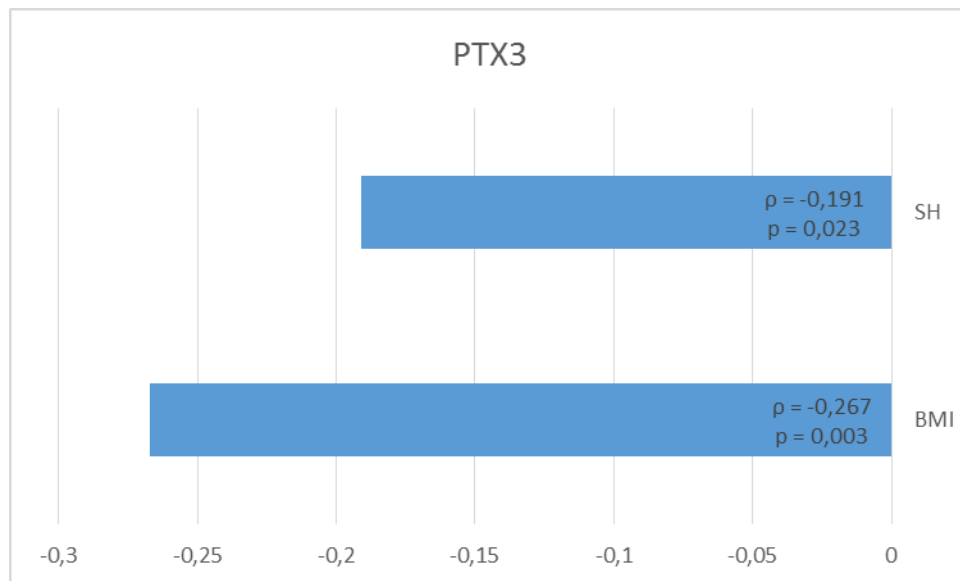
Varijabla	hsCRP	PTX3	CyPA	HB-EGF
SH, mmol/L	-0,131	-0,191*	0,003	-0,159
TAS, mmol/L	-0,231*	-0,118	-0,119	-0,078
SOD, U/L	-0,222	0,024	0,156	-0,328

* $p < 0,05$

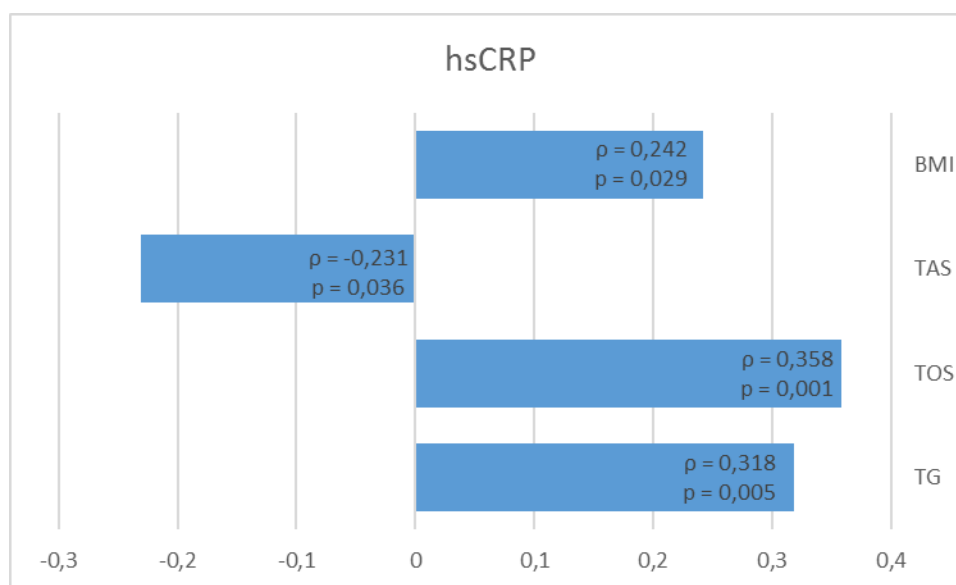
Prikazane su vrednosti Spearman koeficijenata korelacije (ρ)



Slika 24. Spearman korelacija između starosti i HB-EGF kod kontrolnih ispitanika



Slika 25. Spearman korelacija PTX3 sa BMI i SH-grupama kod kontrolnih ispitanika



Slika 26. Spearman korelacija hsCRP sa BMI, TAS, TOS i TG kod kontrolnih ispitanika

4.3.5. Korelacija inflamatornih parametara sa demografskim i biohemijskim parametrima kod STEMI bolesnika

U Tabeli 14 i na Slikama 27-30 prikazana je zavisnost ispitivanih inflamatornih markera od demografskih i biohemijskih parametara kod STEMI bolesnika. Korelacionom analizom utvrđena je pozitivna povezanost između hsCRP i vrednosti BMI ($p < 0,05$) i SYNTAX skora ($p < 0,01$, Slika 27), između HB-EGF i BMI ($p < 0,05$, Slika 28), kao i između PTX3 i aktivnosti LDH ($p < 0,05$, Slika 29) kod STEMI bolesnika (Tabela 14).

Tabela 14. Spearman korelaciona analiza između demografskih i biohemijskih parametara i markera inflamacije kod STEMI bolesnika

Varijabla	hsCRP	PTX3	CyPA	HB-EGF
Starost, godine	-0,070	0,020	-0,113	-0,020
BMI, kg/m ²	0,304*	-0,084	0,067	0,274*
SYNTAX skor	0,363**	0,079	0,015	0,212
Glukoza, mmol/L	0,038	0,141	-0,085	0,063
TH, mmol/L	-0,207	0,046	0,008	0,056
TG, mmol/L	-0,080	0,012	0,179	0,054
HDL-h, mmol/L	-0,115	-0,043	-0,116	-0,098
LDL-h, mmol/L	-0,216	-0,071	0,091	-0,037
Mokraćna kiselina, $\mu\text{mol/L}$	-0,200	0,035	-0,088	0,051
LDH, IU/mL	0,068	0,341*	-0,149	0,105
TnI _{max} , $\mu\text{g/L}$	0,165	0,096	0,098	0,204

** $p < 0,01$; * $p < 0,05$

Prikazane su vrednosti Spearman koeficijenta korelacije (ρ)

4.3.6. Korelacija između inflamatornih parametara kod STEMI bolesnika

Ispitivana je međuzavisnost inflamatornih parametara u grupi bolesnika sa STEMI. Rezultati su prikazani u Tabeli 15. U ovoj grupi ispitanika utvrđena je pozitivna povezanost koncentracije HB-EGF sa PTX3 ($p < 0,05$, Slike 28 i 29) i hsCRP ($p < 0,05$, Slike 27 i 28), kao i negativna zavisnost između vrednosti PTX3 i CyPA ($p < 0,05$, Slike 29 i 30, Tabela 15).

Tabela 15. Spearman korelaciona analiza između markera inflamacije kod STEMI bolesnika

Varijabla	hsCRP	PTX3	CyPA	HB-EGF
hsCRP, mg/L	1	0,097	0,074	0,277*
PTX3, μ g/L	0,097	1	-0,288*	0,330*
CyPA, μ g/L	0,074	-0,288*	1	0,159
HB-EGF, ng/L	0,277*	0,330*	0,159	1

* $p < 0,05$

Prikazane su vrednosti Spearman koeficijenata korelacije (ρ)

4.3.7. Korelacija inflamatornih parametara sa parametrima oksidativnog stresa kod STEMI bolesnika

Ispitivana je veza inflamatornih markera sa parametrima oksidativnog stresa kod STEMI bolesnika. Nije utvrđena značajna veza između ispitivanih inflamatornih parametara i parametara oksidativnog stresa u ovoj grupi ispitanika. Rezultati su prikazani u Tabeli 16.

Tabela 16. Spearman korelaciona analiza između parametara oksidativnog stresa i markera inflamacije kod STEMI bolesnika

Varijabla	hsCRP	PTX3	CyPA	HB-EGF
AOPP, μ mol/L	-0,063	-0,081	0,150	-0,068
TOS, mmol/L	0,067	0,008	0,092	0,086
PAB, HKU	-0,037	0,091	-0,189	-0,071

Prikazane su vrednosti Spearman koeficijenata korelacije (ρ)

4.3.8. Korelacija inflamatornih parametara sa parametrima antioksidativne zaštite kod STEMI bolesnika

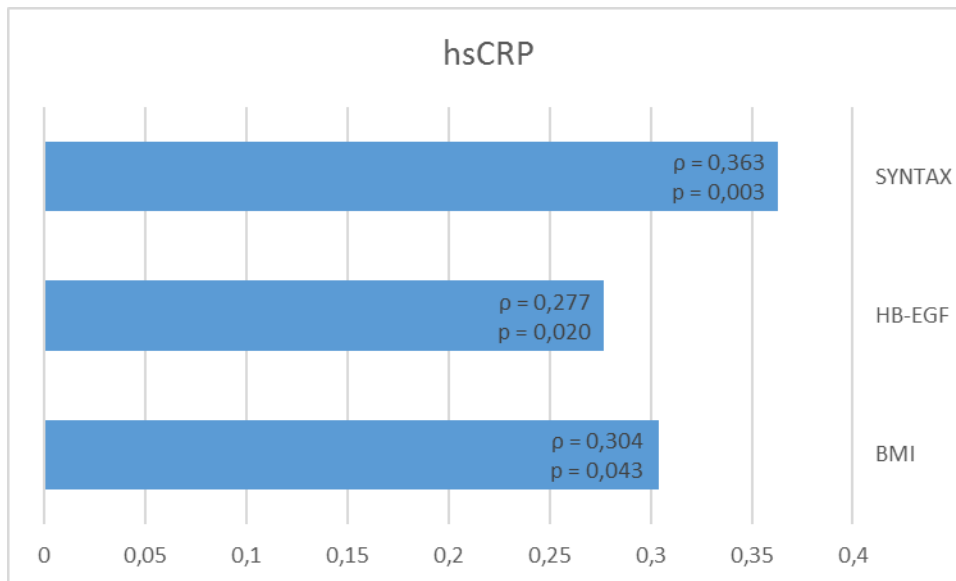
Ispitivana je zavisnost inflamatornih markera od parametara antioksidativne zaštite kod STEMI bolesnika. Utvrđena je značajna negativna povezanost između PTX3 i sadržaja SH-grupa ($p < 0,01$, Slika 29), dok je između CyPA i sadržaja SH-grupa zavisnost pozitivna ($p < 0,05$, Slika 30). Rezultati su prikazani u Tabeli 17.

Tabela 17. Spearman korelaciona analiza između parametara antioksidativne zaštite i markera inflamacije kod kontrolnih ispitanika

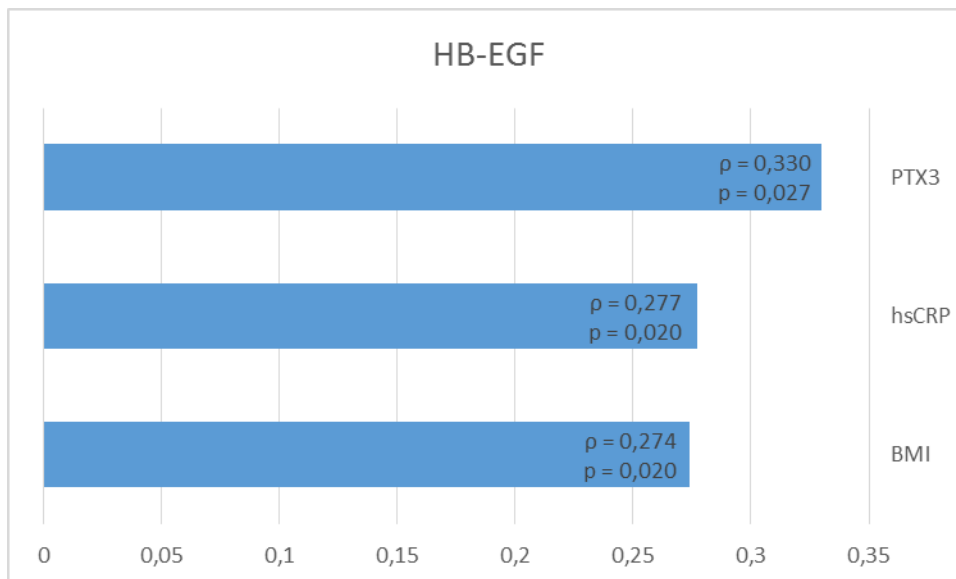
Varijabla	hsCRP	PTX3	CyPA	HB-EGF
SH, mmol/L	0,072	-0,349**	0,248*	-0,063
TAS, mmol/L	0,040	-0,197	0,092	0,106
SOD, U/L	-0,127	0,026	-0,189	-0,146

** $p < 0,01$; * $p < 0,05$

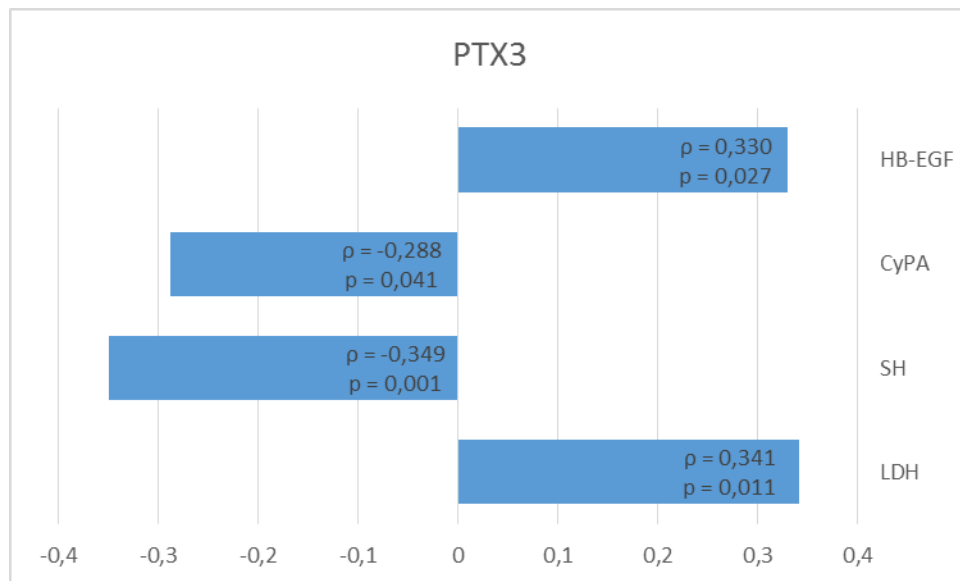
Prikazane su vrednosti Spearman koeficijenata korelacije (ρ)



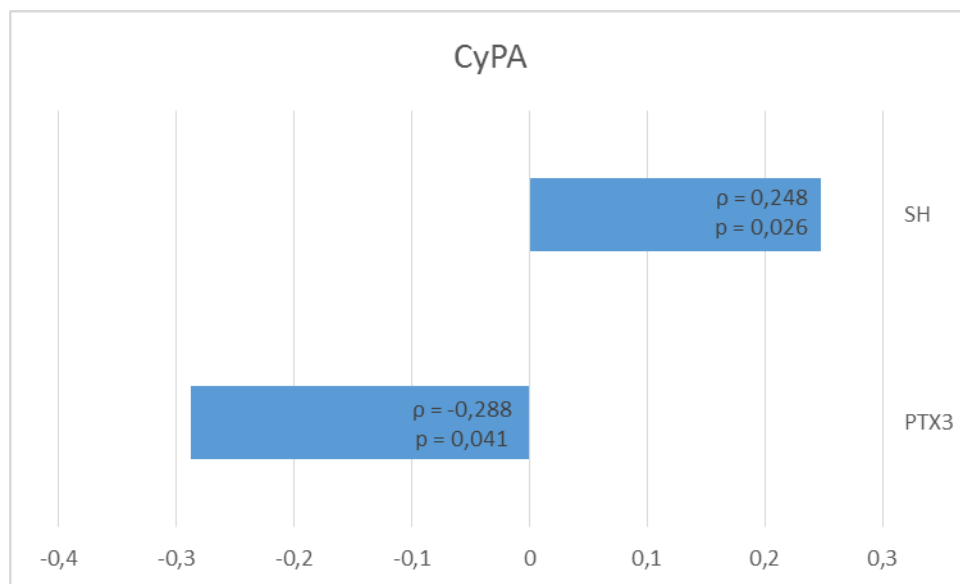
Slika 27. Spearman korelacija hsCRP sa SYNTAX skorom, HB-EGF i BMI kod STEMI bolesnika



Slika 28. Spearman korelacija HB-EGF sa PTX3, hsCRP i BMI kod STEMI bolesnika



Slika 29. Spearman korelacija PTX3 sa HB-EGF, CyPA, SH-grupama, LDH kod STEMI bolesnika



Slika 30. Spearman korelacija CyPA sa SH-grupama i PTX3 kod STEMI bolesnika

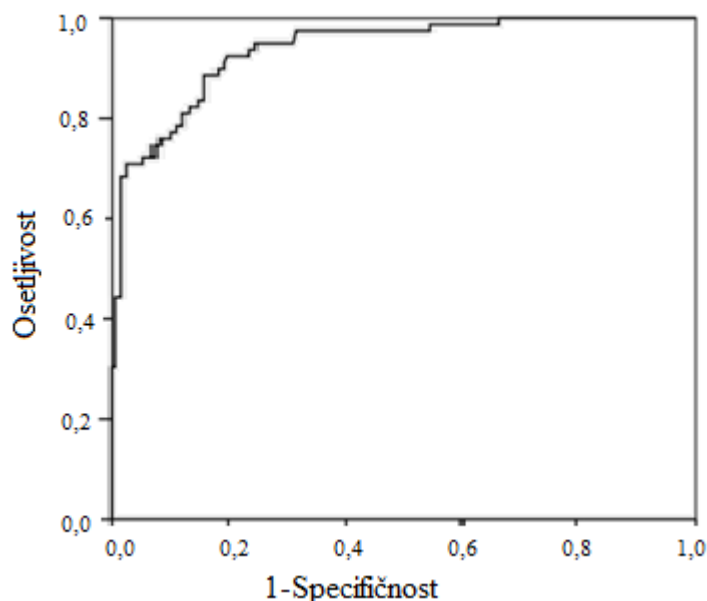
4.4. Definisane visokih vrednosti inflamatornih parametara

Pomoću ROC analize je ispitana sposobnost PTX3, hs-CRP, CyPA i HB-EGF za detekciju bolesnika sa STEMI u odnosu na zdrave osobe (Tabela 18). Izračunata AUC za PTX3 bila je 0,944 ($p < 0,001$), za hsCRP 0,868 ($p < 0,001$) i za HB-EGF 0,814 ($p < 0,001$) (Slike 31 do 33). AUC za CypA je bila bez dijagnostičke sposobnosti da razlikuje bolesnike sa STEMI od zdravih osoba [AUC = 0,552 ($p = 0,492$), Tabela 18].

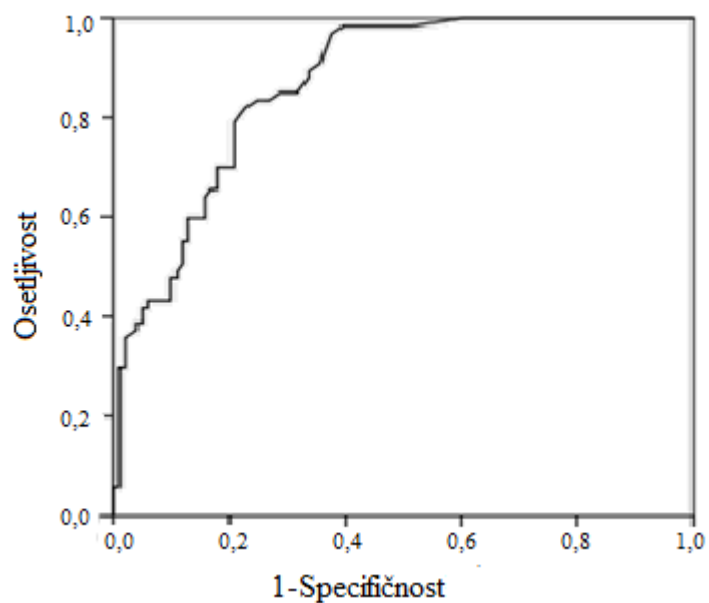
Određene su *cut off* vrednosti za PTX3, HB-EGF i hsCRP sa optimalnom sposobnošću razlikovanja bolesnika sa STEMI od zdravih osoba. Optimalne granične vrednosti su bile 1,61 $\mu\text{g/L}$ za PTX3, 10,41 ng/L za HB-EGF i 1,85 mg/L za hsCRP. Pošto je CypA bio bez dijagnostičke sposobnosti da razlikuje STEMI bolesnike od zdravih osoba za ovaj parametar nisu izračunate optimalne granice. Najveća specifičnost u detekciji STEMI dokazana je za PTX3 (100%), dok su najveće osetljivosti zabeležene za hsCRP i HB-EGF (81%) (Slike 31-33).

Tabela 18. Površine ispod krivih i *cut off* vrednosti ispitivanih inflamatornih parametara za razlikovanje STEMI bolesnika od zdravih osoba

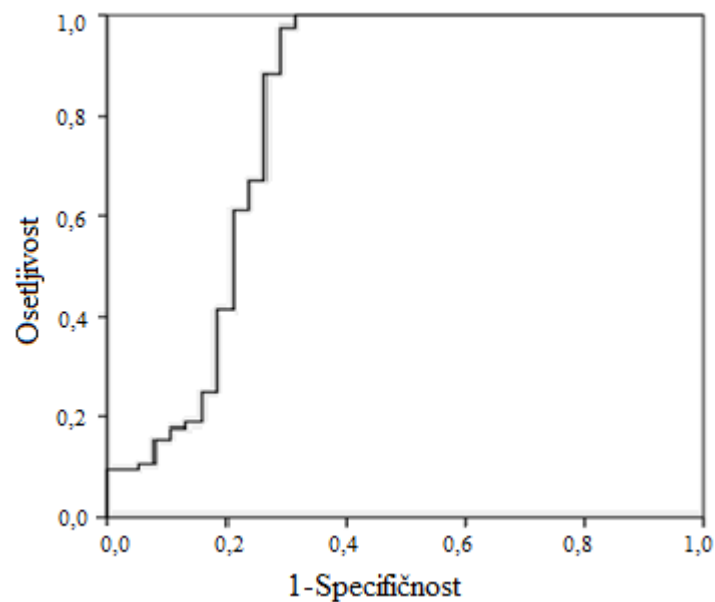
Varijabla	AUC	95% interval pouzdanosti	p	Cut off vrednost	Osetljivost	Specifičnost
hsCRP	0,868	0,816-0,920	< 0,001	1,85 mg/L	0,810	0,733
PTX3	0,944	0,898-0,990	< 0,001	1,61 $\mu\text{g/L}$	0,772	1,000
CyPA	0,552	0,392-0,712	0,492	/	/	/
HB-EGF	0,814	0,642-0,985	< 0,001	10,41 ng/L	0,810	0,778



Slika 31. ROC kriva za PTX3 za razlikovanje STEMI bolesnika od zdravih osoba



Slika 32. ROC kriva za hsCRP za razlikovanje bolesnika sa STEMI od zdravih osoba



Slika 33. ROC kriva za HB-EGF za razlikovanje bolesnika sa STEMI od zdravih osoba

4.5. Poređenje ispitivanih parametara prema definisanoj *cut off* vrednosti za PTX3 i HB-EFG kod STEMI bolesnika

STEMI bolesnici su podeljeni u dve grupe na osnovu optimalne *cut off* vrednosti za koncentraciju PTX3 (više i niže koncentracije od 1,61 µg/L) kao i na dodatne dve grupe na osnovu *cut off* vrednosti za koncentraciju HB-EFG (više i niže koncentracije od 10,41 ng/L). Posmatrana je razlika u ispitivanim parametrima (demografskim, kliničkim i lipidnim parametrima, markerima oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite) između bolesnika sa koncentracijama PTX3 i HB-EFG nižim ili višim od definisanih *cut off* vrednosti.

4.5.1. Poređenje demografskih i kliničkih karakteristika kao i ispitivanih biohemijskih parametara prema definisanoj *cut off* vrednosti za PTX3 kod STEMI bolesnika

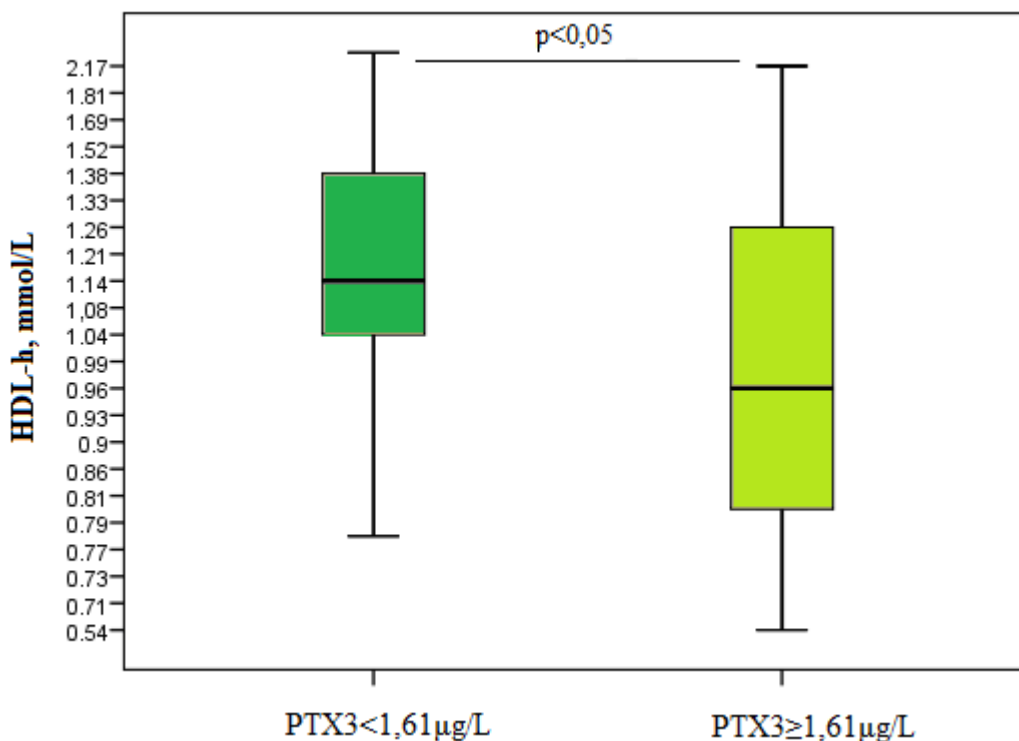
U Tabeli 19 prikazane su demografske karakteristike i koncentracije analiziranih parametara u plazmi STEMI bolesnika podeljenih prema *cut off* vrednosti PTX3 od 1,61 µg/L. Među bolesnicima sa vrednostima PTX3 iznad *cut off* vrednosti bila je veća zastupljenost muškaraca od žena ($p < 0,001$), a ovi bolesnici su imali značajno niže vrednosti HDL-h u odnosu na osobe koje imaju koncentraciju PTX3 ispod 1,61 µg/L ($p = 0,049$, Tabela 19, Slika 34).

Tabela 19. Demografske i kliničke karakteristike kao i koncentracije analiziranih parametara u plazmi STEMI bolesnika podeljenih prema definisanoj *cut off* vrednosti za PTX3

Varijabla	PTX3 < 1,61 µg/L	PTX3 ≥ 1,61 µg/L	P
N	20	67	
Starost, godine	61,8 ± 12,29	61,0 ± 11,10	0,917 ^a
Pol, muškarci %	58,8%	73,4%	<0,001 ^b
BMI, kg/m ²	25,7 ± 2,66	26,5 ± 3,84	0,494 ^a
Pušači, %	73,3%	60,0%	0,070 ^b
Okludirani sudovi, N	1,0 (1,0-2,0)	1,0 (1,0-3,0)	0,984 ^c
Implantirani stentovi, N	1,0 (1,0-2,0)	1,0 (1,0-2,0)	0,930 ^c
SYNTAX skor	11,5 (5,5-20,5)	14,5 (9,5-18,0)	0,724 ^c
Glukoza, mmol/L	6,40 (5,70-7,20)	7,20 (6,40-11,90)	0,055 ^c
TH, mmol/L	5,67 ± 1,158	5,41 ± 1,167	0,425 ^a
TG, mmol/L	1,70 (1,20-2,99)	1,68 (1,12-2,32)	0,426 ^c
HDL-h, mmol/L	1,14 (1,04-1,55)	0,95 (0,80-1,25)	0,049 ^c
LDL-h, mmol/L	3,32 ± 0,887	3,48 ± 1,158	0,712 ^a
Mokraćna kiselina, µmol/L	320,0 (251,0-328,0)	299,0 (237,0-392,0)	0,989 ^c
LDH, U/L	410 (312-862)	456 (341-636)	0,766 ^c
TnI _{prijem} , µg/L	0,18 (0,03-3,58)	0,36 (0,07-2,72)	0,368 ^c
TnI _{max} , µg/L	22,8 (19,2-80,0)	10,2 (4,4-27,1)	0,278 ^c

Kontinuirane varijable su poređene ^aStudent t-testom za nezavisne populacije ili ^cMann Whitney testom. Kategoričke varijable poređene su ^bchi-kvadrat testom. Normalno distribuirane kontinuirane varijable su predstavljene kao srednja vrednost ± SD (starost, BMI, TH i LDL-h), a kategoričke varijable kao apsolutne i relativne frekvence. Ostali parametri predstavljani su kao medijana i interkvartilni raspon.

(BMI-indeks telesne mase; TH-totalni holesterol; TG-trigliceridi; HDL-h - HDL-holesterol; LDL-h - LDL-holesterol; LDH-laktat dehidrogenaza; TnI-troponin I)



Slika 34. Koncentracija HDL-h kod STEMI bolesnika podeljenih u odnosu na definisanu *cut off* vrednost za PTX3

4.5.2. Poređenje ispitivanih inflamatornih parametara prema definisanoj *cut off* vrednosti za PTX3 kod STEMI bolesnika

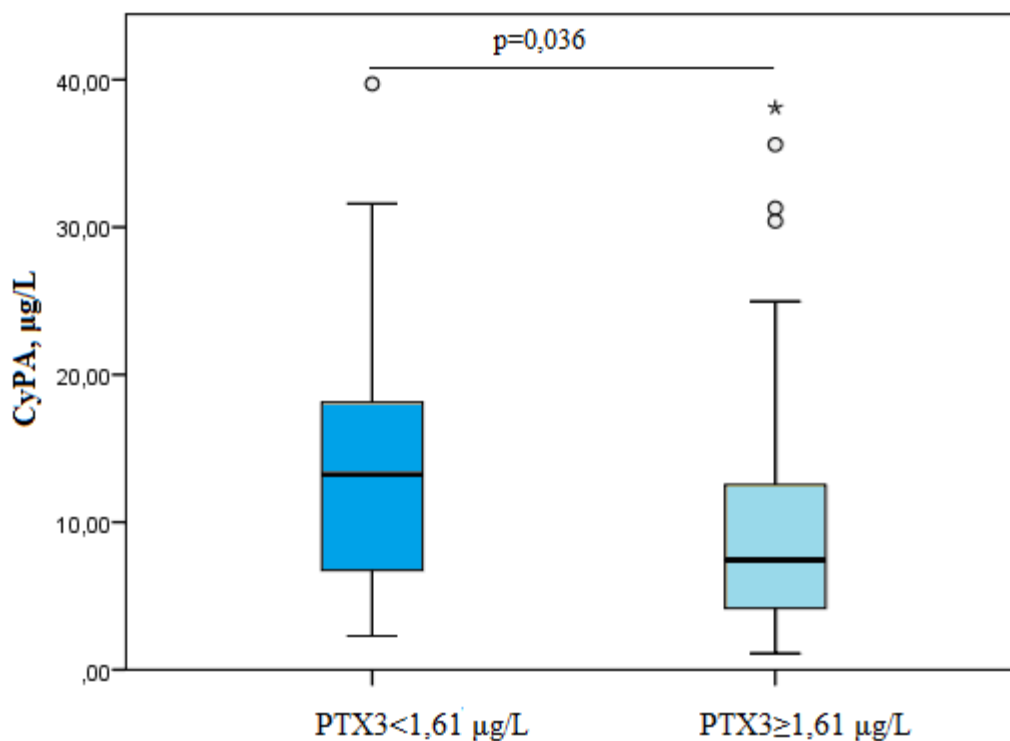
U Tabeli 20 prikazane su vrednosti inflamatornih parametara kod STEMI bolesnika u odnosu na *cut off* vrednost za PTX3 od 1,61 µg/L. U grupi bolesnika sa vrednostima PTX3 iznad 1,61 µg/L, bolesnici su imali značajno niže vrednosti CyPA ($p=0,036$, Slika 35), dok se vrednosti ostalih markera inflamacije nisu razlikovali značajno između ove dve grupe bolesnika (Tabela 21).

Tabela 20. Koncentracije inflamatornih parametara u plazmi STEMI bolesnika podeljenih prema *cut off* vrednosti za PTX3

Varijabla	PTX3 < 1,61 µg/L	PTX3 ≥ 1,61 µg/L	p
N	20	67	
hsCRP, mg/L	5,1 (3,9-14,6)	4,6 (2,1-16,9)	0,494
CyPA, µg/L	13,23 (6,62-18,13)	7,43 (4,07-13,18)	0,036
HB-EGF, ng/L	11,98 (10,35-13,27)	12,26 (10,91-14,28)	0,416

Poređenje je izvršeno Mann Whitney testom. Sve varijable su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon.

(PTX3 – pentraksin-3; hsCRP – visokoosetljivi C-reaktivni protein; CyPA – ciklofilin A; HB-EGF - heparin-vezujući epidermalni faktor rasta)



Slika 35. Koncentracija CyPA kod STEMI bolesnika podeljenih u odnosu na definisanu *cut off* vrednost za PTX3

4.5.3. Poređenje markera oksidativnog stresa prema definisanoj *cut off* vrednosti za PTX3 kod STEMI bolesnika

U Tabeli 21 prikazane su vrednosti parametara oksidativnog stresa kod STEMI bolesnika u odnosu na *cut off* vrednost za PTX3. Nije bilo značajnih razlika u vrednostima parametara oksidativnog stresa između bolesnika sa vrednostima PTX3 nižim i višim od 1,61 µg/L (Tabela 22).

Tabela 21. Vrednosti parametara oksidativnog stresa u serumu STEMI bolesnika podeljenih prema *cut off* vrednosti za PTX3

Varijabla	PTX3 < 1,61 µg/L	PTX3 ≥ 1,61 µg/L	p
N	20	67	
AOPP, µmol/L	27,85 (19,40-35,55)	20,75 (13,65-38,80)	0,426
TOS, mmol/L	19,5 (11,9-25,7)	19,0 (8,5-27,0)	0,745
PAB, HKU	113,9 (100,2-138,2)	119,4 (105,8-149,5)	0,248

Poređenje je izvršeno Mann Whitney testom. Sve varijable su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon.

(AOPP – uznapredovali produkti oksidacije proteina; TOS - totalni oksidantni status; PAB - prooksidativno-antioksidativni balans)

4.5.4. Poređenje parametara antioksidativne zaštite prema definisanoj *cut off* vrednosti za PTX3 kod STEMI bolesnika

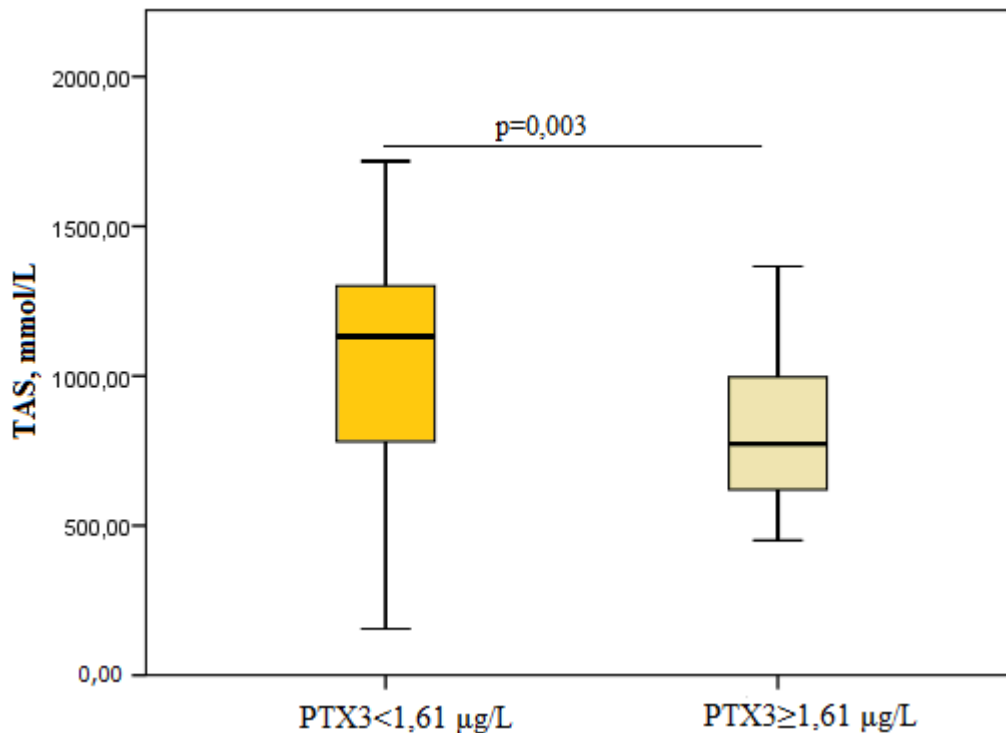
U Tabeli 22 prikazane su vrednosti parametara antioksidativne zaštite kod STEMI bolesnika u odnosu na definisanu *cut off* vrednost za PTX3. Bolesnici sa koncentracijom PTX3 iznad 1,61 µg/L imali su značajno niže vrednosti TAS od osoba sa koncentracijom PTX3 nižom od *cut off* vrednosti (p=0,003, Tabela 22, Slika 36).

Tabela 22. Vrednosti parametara antioksidativne zaštite u serumu STEMI bolesnika podeljenih prema *cut off* vrednosti PTX3

Varijabla	PTX3<1,61 µg/L	PTX3≥1,61 µg/L	p
N	20	67	
SH, mmol/L	0,52 (0,34-0,65)	0,37 (0,26-0,48)	0,079
TAS, mmol/L	1249 (931-1551)	862 (712-1039)	0,003
SOD, U/L	125 (90-167)	135 (117-179)	0,243

Poređenje je izvršeno Mann Whitney testom. Sve varijable su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon.

(SH – sadržaj sulfhidrilnih grupa; TAS – totalni antioksidativni status; SOD – superoksid dismutaza)



Slika 36. Vrednosti TAS kod STEMI bolesnika podeljenih na osnovu definisane *cut off* vrednosti za PTX3

4.5.5. Poređenje demografskih karakteristika i ispitivanih biohemijskih parametara prema definisanoj *cut off* vrednosti za HB-EGF kod STEMI bolesnika

U Tabeli 23 prikazane su demografske karakteristike i koncentracije analiziranih parametara u plazmi STEMI bolesnika podeljenih prema *cut off* vrednosti za HB-EGF od 10,41 ng/L. Među bolesnicima sa vrednostima HB-EGF iznad *cut off* vrednosti bila je veća zastupljenost pušača u odnosu na osobe sa HB-EGF ispod 10,41 ng/L ($p=0,025$, Tabela 23).

Tabela 23. Demografske i kliničke karakteristike kao i koncentracije analiziranih parametara u plazmi STEMI bolesnika podeljenih prema *cut off* vrednosti HB-EGF

Varijable	HB-EGF<10,41ng/L	HB-EGF≥10,41ng/L	p
N	18	69	
Starost, godine	61,35±7,85	61,09±12,09	0,977 ^a
Pol, muškarci, %	70,6	70,3	0,090 ^b
BMI, kg/m ²	26,21±4,21	26,39±3,55	0,593 ^a
Pušači, %	50,0	66,7	0,025 ^b
Okludirani krvni sudovi, N	1,0 (1,0-3,0)	1,0 (1,0-3,0)	0,765 ^c
Implantirani stentovi, N	1,0 (1,0-2,0)	1,0 (1,0-2,0)	0,893 ^c
SYNTAX skor	10,0 (5,0-22,0)	15,0 (10,0-18,0)	0,623 ^c
Glukoza, mmol/L	7,10 (5,75-10,15)	6,90 (6,12-9,57)	0,931 ^c
TH, mmol/L	5,09±1,23	5,57±1,15	0,129 ^a
TG, mmol/L	1,42 (1,06-2,12)	1,69 (1,21-2,64)	0,152 ^c
HDL-h, mmol/L	1,04 (0,85-1,34)	0,98 (0,80-1,31)	0,608 ^c
LDL-h, mmol/L	2,91±1,08	3,41±1,12	0,273 ^a
Mokraćna kiselina, μmol/L	326,5 (248,2-398,2)	298,5 (240,7-364,7)	0,227 ^c
LDH, U/L	359 (322-507)	488 (341-702)	0,100 ^c
TnI _{prijem} , μg/L	0,16 (0,02-0,79)	0,42 (0,07-3,39)	0,104 ^c
TnI _{max} , μg/L	10,61 (0,81-22,78)	12,13 (4,45-28,58)	0,486 ^c

Kontinuirane varijable su poređene ^aStudent *t*-testom i ^cMann Whitney testom. Kategoričke varijable poređene su ^bchi-kvadrat testom. Normalno distribuirane kontinuirane varijable su predstavljene kao srednja vrednost ± SD (starost, BMI, TH i LDL-h), a kategoričke varijable kao apsolutne i relativne frekvence. Ostali parametri predstavljeni su kao medijana i interkvartilni raspon.

(BMI-indeks telesne mase; TH-totalni holesterol; TG-trigliceridi; HDL-h - HDL-holesterol; LDL-h – LDL-holesterol; LDH-laktat dehidrogenaza; TnI-troponin I)

4.5.6. Poređenje ispitivanih inflamatornih parametara prema definisanoj *cut off* vrednosti za HB-EGF kod STEMI bolesnika

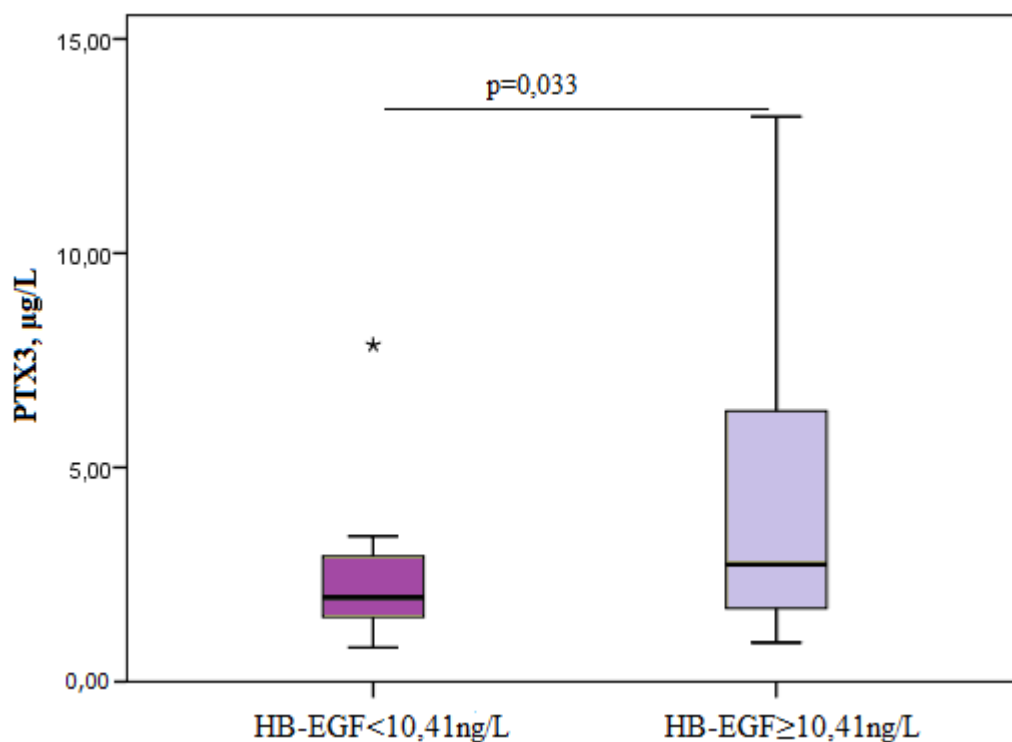
U Tabeli 24 prikazane su vrednosti inflamatornih parametara kod STEMI bolesnika u odnosu na *cut off* vrednost za HB-EGF od 10,41 ng/L. Bolesnici sa vrednostima HB-EGF iznad 10,41ng/L imali su značajno više vrednosti PTX3 u odnosu na osobe sa HB-EGF ispod ove *cut off* vrednosti ($p=0,033$, Tabela 24, Slika 37).

Tabela 24. Koncentracije inflamatornih parametara u plazmi STEMI bolesnika podeljenih prema definisanoj *cut off* vrednosti za HB-EGF

Varijabla	HB-EGF<10,41ng/L	HB-EGF≥10,41ng/L	p
N	18	69	
PTX3, µg/L	1,76 (1,48-2,91)	3,35 (1,87-6,53)	0,033
hsCRP, mg/L	3,90 (2,05-4,40)	6,20 (2,85-16,15)	0,190
CyPA, µg/L	6,25 (4,22-12,73)	8,72 (4,41-15,45)	0,435

Poređenje je izvršeno Mann Whitney testom. Sve varijable su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon.

(PTX3 – pentraksin-3; hsCRP – visokoosetljivi C-reaktivni protein; CyPA – ciklofilin A; HB-EGF - heparin-vezujući epidermalni faktor rasta)



Slika 37. Koncentracija PTX3 kod STEMI bolesnika podeljenih na osnovu definisane *cut off* vrednosti za HB-EGF

4.5.7. Poređenje markera oksidativnog stresa prema definisanoj *cut off* vrednosti za HB-EGF kod STEMI bolesnika

U Tabeli 25 prikazane su vrednosti parametara oksidativnog stresa kod STEMI bolesnika u odnosu na definisanu *cut off* vrednost za HB-EGF. Nije bilo značajnih razlika u vrednostima parametara oksidativnog stresa između bolesnika sa vrednostima HB-EGF nižim i višim od 10,41 ng/L (Tabela 25).

Tabela 25. Vrednosti parametara oksidativnog stresa u serumu STEMI bolesnika podeljenih prema *cut off* vrednosti za HB-EGF

Varijabla	HB-EGF<10,41ng/L	HB-EGF≥10,41ng/L	p
N	18	69	
AOPP, μmol/L	21,30 (11,75-35,60)	22,70 (14,80-35,90)	0,497
TOS, mmol/L	18,7 (9,8-22,9)	19,2 (10,4-28,6)	0,297
PAB, HKU	122,3 (106,1-149,1)	118,3 (100,9-140,1)	0,410

Poređenje je izvršeno Mann Whitney testom. Sve varijable su predstavljene kao medijana i interkvartilni raspon.

(AOPP – uznapredovali produkti oksidacije proteina; TOS - totalni oksidantni status; PAB - prooksidativno-antioksidativni balans)

4.5.8. Poređenje parametara antioksidativne zaštite prema definisanoj *cut off* vrednosti za HB-EGF kod STEMI bolesnika

U Tabeli 26 prikazane su vrednosti parametara antioksidativne zaštite kod STEMI bolesnika u odnosu na *cut off* vrednost za HB-EGF. Nije bilo značajnih razlika u vrednostima parametara antioksidativne zaštite između bolesnika sa vrednostima HB-EGF nižim i višim od 10,41 ng/L (Tabela 26)

Tabela 26. Vrednosti parametara antioksidativne zaštite u serumu STEMI bolesnika podeljenih prema *cut off* vrednosti za HB-EGF

Varijabla	HB-EGF<10,41ng/L	HB-EGF≥10,41ng/L	p
N	18	69	
SH, mmol/L	0,38 (0,31-0,53)	0,41 (0,25-0,51)	0,822
TAS, mmol/L	850 (712-1041)	910 (766-1236)	0,377
SOD, U/L	137 (125-178)	131 (112-171)	0,549

Poređenje je izvršeno Mann Whitney testom. Sve varijable su predstavljene su kao medijana i interkvartilni raspon.

(SH – sadržaj sulfhidrilnih grupa; TAS – totalni antioksidativni status; SOD – superoksid dismutaza)

4.6. Faktorska analiza

Kako bi se ispitali nezavisni prediktori visokih koncentracija (koncentracija iznad definisanih *cut off* vrednosti) PTX3 i HB-EGF kod bolesnika sa STEMI, primenjena je *Principal component* faktorska analiza. Broj ispitivanih nezavisnih varijabli je smanjen tako što su parametri koji su u značajnoj korelaciji svrstani u izdvojene klastere odnosno faktore. Izdvojena četiri faktora objašnjavaju 70% varijacija u svim ispitivanim parametrima. Prvi faktor objašnjava 21% ukupne varijacije i povezan je sa pozitivnim opterećenjima AOPP i SH-grupa, a nazvan je „faktor zavisan od proteina". U drugi faktor uključene su glukoza i PAB sa pozitivnim opterećenjima, a nazvan je “faktor metaboličko-oksidativnog stresa”. Drugi faktor objašnjava 17% ukupne varijacije, isto kao i treći faktor. Treći faktor uključuje TOS sa pozitivnim opterećenjem i SOD sa negativnim opterećenjem, a nazvan je "faktor prooksidativno-antioksidativnog balansa". Četvrti faktor objašnjava 15% ukupne varijacije i karakterišu ga starost i TAS sa pozitivnim opterećenjem, a nazvan je "antioksidativni faktor vezan za starost". Rezultati faktorske analize prikazani su u Tabeli 27.

Tabela 27. Rezultati faktorske analize

Faktori	Uključene varijable sa opterećenjem	Varijacija faktora
Faktor zavisan od proteina	AOPP (0,812) SH-grupe (0,861)	21%
Faktor metaboličko-oksidativnog stresa	glukoza (0,775) PAB (0,733)	17%
Faktor prooksidativno-antioksidativnog balansa	TOS (0,818) SOD (-0,718)	17%
Antioksidativni faktor vezan za starost	starost (0,767) TAS (0,757)	15%

Dobijeni faktori kao i pojedinačni inflamatorni parametri uvršteni su u univarijantnu logističku regresionu analizu kako bi se odredili faktori koji su prediktori visokih vrednosti PTX3 i HB-EGF (Tabela 28). Na osnovu dobijenih rezultata vidi se da su značajni prediktori visokih vrednosti PTX3 faktor metaboličko-oksidativnog stresa odnosno glukoza i PAB. Sa porastom vrednosti glukoze i PAB raste i verovatnoća da STEMI bolesnici imaju visoke vrednosti PTX3. Drugi značajni prediktor visokih vrednosti PTX3 je CyPA. Sa porastom koncentracije CypA smanjuje se verovatnoća da STEMI bolesnici imaju visoke vrednosti PTX3. Značajan prediktor visokih vrednosti HB-EGF je PTX3. Za svaku jedinicu povećanja koncentracije PTX3, verovatnoća da STEMI bolesnici imaju visoke vrednosti HB-EGF povećava se 1,4 puta.

Tabela 28. Univarijantna logistička regresiona analiza prediktora visokih vrednosti PTX3 i HB-EGF

Prediktori	Visoke vrednosti PTX3 OR (95% interval pouzdanosti)	Visoke vrednosti HB-EGF OR (95% interval pouzdanosti)
Faktor vezan za proteine	0,918 (0,497-1,693)	1,721 (0,781-3,792)
Faktor metaboličko- oksidativnog stresa	4,449 (1,341-14,760)*	1,288 (0,546-3,038)
Faktor prooksidativno- antioksidativnog balansa	0,918 (0,471-1,789)	1,061 (0,465-2,421)
Antioksidativni faktor vezan za starost	0,579 (0,283-1,184)	0,950 (0,392-2,306)
CypA	0,932 (0,878-0,990)*	1,023 (0,933-1,121)
HB-EGF	0,994 (0,895-1,105)	/
PTX3	/	1,427 (1,010-2,014)*

* $p < 0,05$

Kada su značajni prediktori iz univarijantne logističke regresije uključeni u multivarijantni model, kao nezavisan prediktor visokih vrednosti PTX3 pokazao se faktor definisan parametrima metaboličko-oksidativnog stresa. Nakon korekcije za vrednosti CyPA u multivarijantnom modelu prediktivna vrednost faktora metaboličko-oksidativnog stresa je ostala skoro nepromenjena, odnosno povećanje vrednosti parametara metaboličko-oksidativnog stresa udruženo je sa 4,5 puta većom verovatnoćom za pojavu visokih vrednosti PTX3 nezavisno od vrednosti CyPA.

4.7. Inflamatorni parametri kod bolesnika sa STEMI-KAB pre i neposredno nakon završetka pPCI

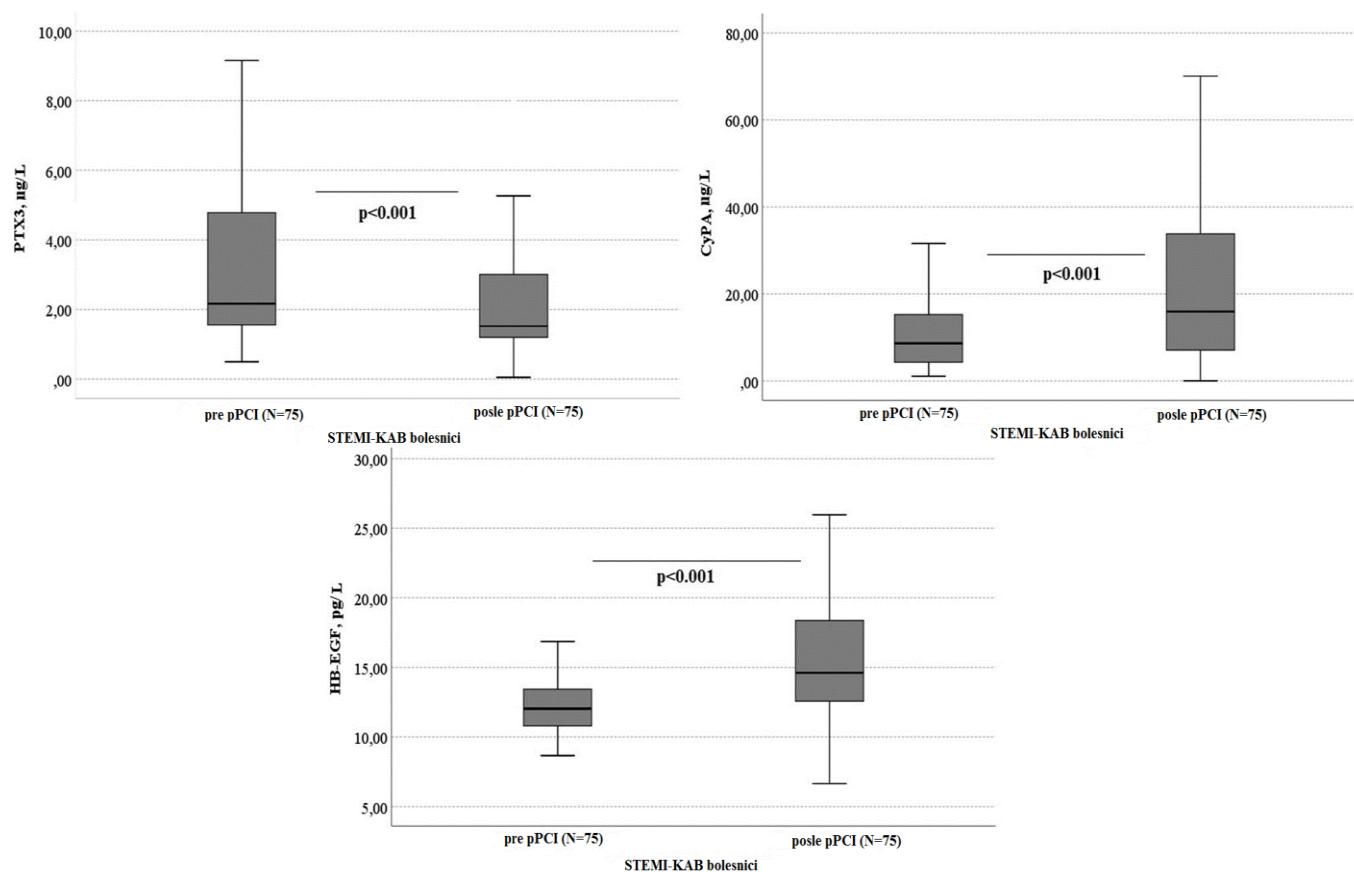
Inflamatorni markeri testirani su kod STEMI-KAB bolesnika pre i odmah nakon pPCI procedure i implantiranja stenta. Iz testiranja je isključeno 6 bolesnika kojima zbog lošeg stanja krvnih sudova nije bilo moguće ugraditi stent, kao i 6 bolesnika sa dijagnozom MINOCA, a u Tabeli 29 prikazani su dobijeni rezultati. U plazmi bolesnika neposredno po završetku pPCI zabeležen je statistički značajan porast koncentracija HB-EGF i CyPA ($p < 0,001$ za oba parametra), kao i smanjenje koncentracije PTX3 u odnosu na vrednosti pre izvođenja pPCI ($p < 0,001$, Tabela 2, Slika 38).

Tabela 29. Koncentracije parametara inflamacije kod bolesnika sa STEMI-KAB pre i neposredno po završetku pPCI

Varijabla	pre pPCI	posle pPCI	p
N	75	75	
PTX3, $\mu\text{g/L}$	2,55 (1,67-5,52)	1,70 (1,24-3,78)	<0,001
CyPA, $\mu\text{g/L}$	8,62 (4,37-15,26)	17,24 (7,06-31,22)	<0,001
HB-EGF, ng/L	12,26 (10,91-14,28)	14,28 (12,51-15,71)	<0,001

Parametri pre i posle pPCI su poređene Wilcoxon testom za dve zavisne populacije.

(PTX3 – pentraksin-3; hsCRP – visokoosetljivi C-reaktivni protein; CyPA – ciklofilin A; HB-EGF - heparin-vezujući epidermalni faktor rasta)



Slika 38. Ispitivani markeri inflamacije pre i posle pPCI procedure kod bolesnika sa STEMI-KAB (varijable su poređene Wilcoxon testom)

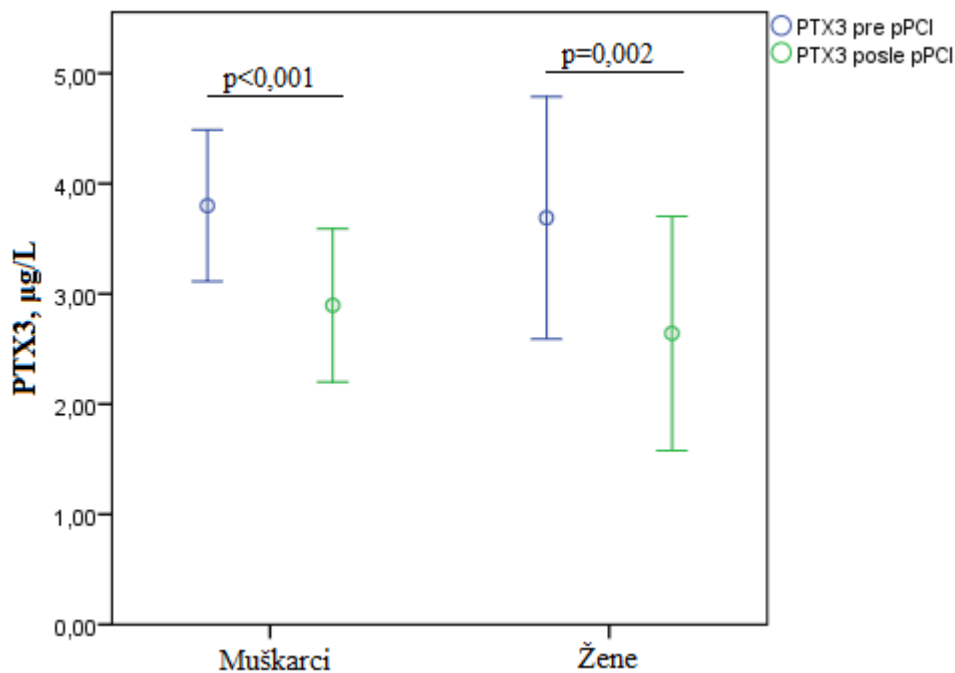
Kako bi se utvrdilo da li pol interferira sa promenom inflamatornih parametara pre i nakon pPCI procedure izvršena je dodatna analiza gde su ispitane promene koncentracija inflamatornih parametara PTX3, CyPA i HB-EGF pre i nakon pPCI intervencije kod STEMI-KAB bolesnika podeljenih prema polu, a dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 30. Koncentracije PTX3 se značajno smanjuju dok se koncentracije CyPA i HB-EGF povećavaju nakon izvođenja pPCI kod oba pola (Slike 39-41). Razlike u vrednostima između muškaraca i žena pre kao i posle pPCI intervencije nisu bile statistički značajne (Tabela 30).

Tabela 30. Koncentracije inflamatornih parametara PTX3, CyPA i HB-EGF pre i nakon pPCI intervencije kod STEMI-KAB bolesnika podeljenih prema polu

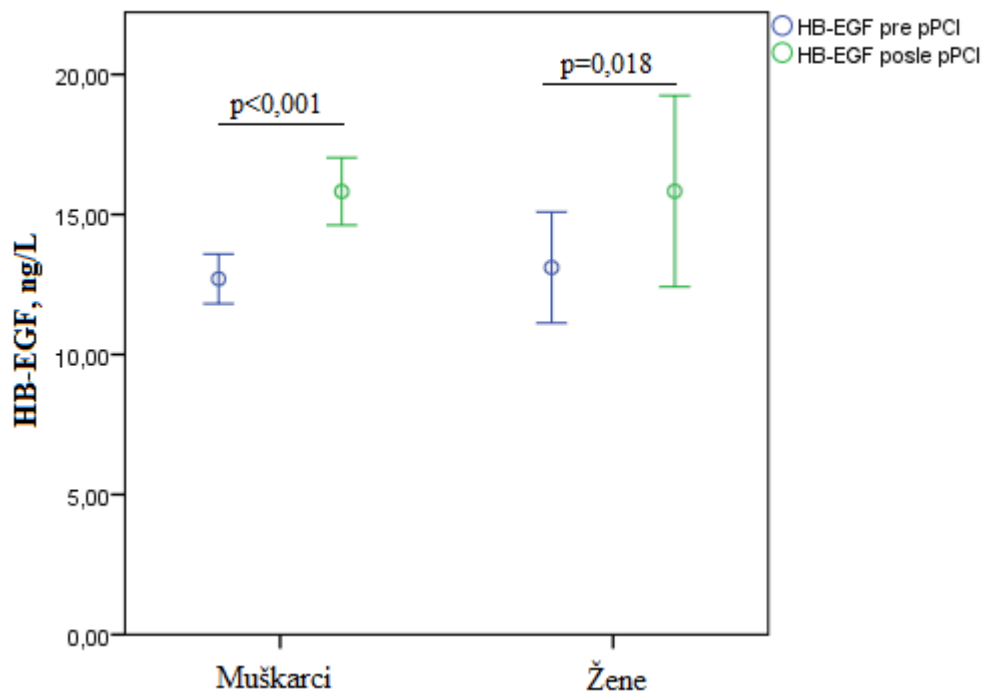
Varijabla	Pol	N	pre pPCI	posle pPCI	p
PTX3, µg/L	M	58	2,59 (1,71-5,43)	1,74 (1,22-3,79)	<0,001
	Ž	17	2,40 (1,51-5,04)	1,59 (1,27-3,21)	0,002
			<i>p=0,417</i>	<i>p=0,821</i>	
CyPA, µg/L	M	58	7,93 (4,92-14,71)	15,36 (7,14-29,61)	<0,001
	Ž	17	8,82 (3,90-19,02)	18,72 (5,87-32,39)	0,008
			<i>p=0,796</i>	<i>p=0,899</i>	
HB-EGF, ng/L	M	58	12,18 (10,57-13,89)	14,62 (12,93-16,30)	<0,001
	Ž	17	12,29 (10,91-14,03)	13,04 (12,26-14,84)	0,018
			<i>p=0,721</i>	<i>p=0,070</i>	

Varijable pre i posle pPCI su poređene Wilcoxon testom za dve zavisne populacije. Varijable su između muškaraca i žena poređene Mann-Whitney testom.

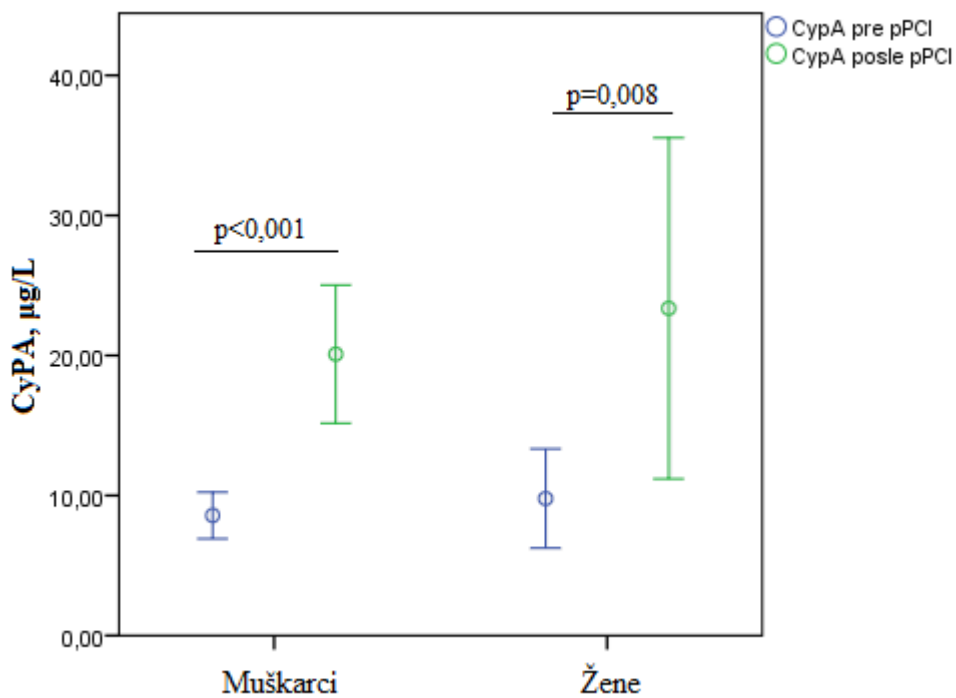
(PTX3 – pentraksin-3; hsCRP – visokoosetljivi C-reaktivni protein; CyPA – ciklofilin A; HB-EGF - heparin-vezujući epidermalni faktor rasta)



Slika 39. Promene koncentracija PTX3 kod muškaraca i žena sa STEMI-KAB posle izvedene pPCI u odnosu na vrednosti pre intervencije



Slika 40. Promene koncentracija HB-EGF kod muškaraca i žena sa STEMI-KAB posle izvedene pPCI u odnosu na vrednosti pre intervencije



Slika 41. Promene koncentracija CyPA kod muškaraca i žena sa STEMI-KAB posle izvedene pPCI u odnosu na vrednosti pre intervencije

4.8. Poređenje ispitivanih parametara između STEMI-KAB i MINOCA bolesnika

Dijagnoza MINOCA je postavljena kod 6 bolesnika sa STEMI kojima angiografijom nije utvrđeno postojanje značajne stenozе (veće od 50%) ni na jednom koronarnom krvnom sudu. Ispitivana je razlika u demografskim, kliničkim i lipidnim parametrima, kao i markerima inflamacije između STEMI-KAB (pre izvođenja pPCI) i MINOCA bolesnika.

4.8.1. Poređenje demografskih, kliničkih i biohemijskih parametara između STEMI-KAB i MINOCA bolesnika

U Tabeli 31 prikazane su demografske i kliničke karakteristike, kao i ispitivani biohemijski parametri kod STEMI-KAB i MINOCA bolesnika. STEMI-KAB bolesnici imali su veći procenat pušača ($p < 0,01$), veći broj okludiranih krvnih sudova ($p < 0,001$) i veće vrednosti SYNTAX skora ($p < 0,001$) i TnI_{max} ($p = 0,038$), a niže vrednosti TH ($p = 0,016$), LDL-h ($p = 0,008$) i LDH ($p = 0,023$) u odnosu na MINOCA bolesnike.

Tabela 31. Demografske karakteristike i ispitivani biohemijski parametri kod STEMI-KAB i MINOCA bolesnika

Varijabla	STEMI-KAB	MINOCA	p
N	75	6	
Starost, godine	60,67±11,86	51,33±7,61	0,592 ^a
Pol, muškarci %	74	50	< 0,01 ^b
BMI, kg/m ²	26,26±3,67	25,38±3,53	0,212 ^a
Pušači, %	68,5	33,3	< 0,01 ^b
Okludirani krvni sudovi, N	1,0 (1,0-2,0)	0,0 (0,0-0,0)	< 0,001 ^c
SINATAX skor	14,0 (9,0-18,0)	11,2 (8,0-17,3)	< 0,001 ^c
Glukoza, mmol/l	7,00 (6,30-9,30)	6,50 (5,60-7,05)	0,009 ^c
TH, mmol/L	5,34±1,18	5,95±1,73	0,016 ^a
TG, mmol/L	1,68 (1,16-2,60)	1,41 (0,64-1,85)	0,412 ^c
HDL-h, mmol/L	0,99 (0,82-1,25)	1,57 (1,01-1,91)	0,072 ^c
LDL-h, mmol/L	3,40±1,04	3,88±1,47	0,008 ^a
Mokraćna kiselina, μmol/L	299,5 (239,0-362,0)	312,0 (232,0-470,0)	0,251 ^c
LDH, U/L	442 (351-605)	499 (322-601)	0,023 ^c
TnI _{prijem} , μg/L	0,26 (0,06-2,59)	0,22 (0,05-3,90)	0,834 ^c
TnI _{max} , μg/L	19,22 (4,38-35,61)	0,08 (0,06-0,12)	0,038 ^c

Kontinuirane varijable su poređene ^aStudent t-testom i ^cMann Whitney exact testom. Kategoričke varijable poređene su ^bchi-kvadrat testom. Normalno distribuirane kontinuirane varijable su predstavljene kao srednja vrednost ± SD tarost, BMI, TH i LDL-h), a kategoričke varijable kao apsolutne i relativne frekvence. Ostali parametri predstavljani su kao medijana i interkvartilni raspon.

(BMI-indeks telesne mase; TH-totalni holesterol; TG-trigliceridi; HDL-h - HDL-holesterol; LDL-h - LDL-holesterol; LDH-laktat dehidrogenaza; TnI-troponin I)

4.8.2. Ispitivani inflamatorni parametri kod STEMI-KAB i MINOCA bolesnika

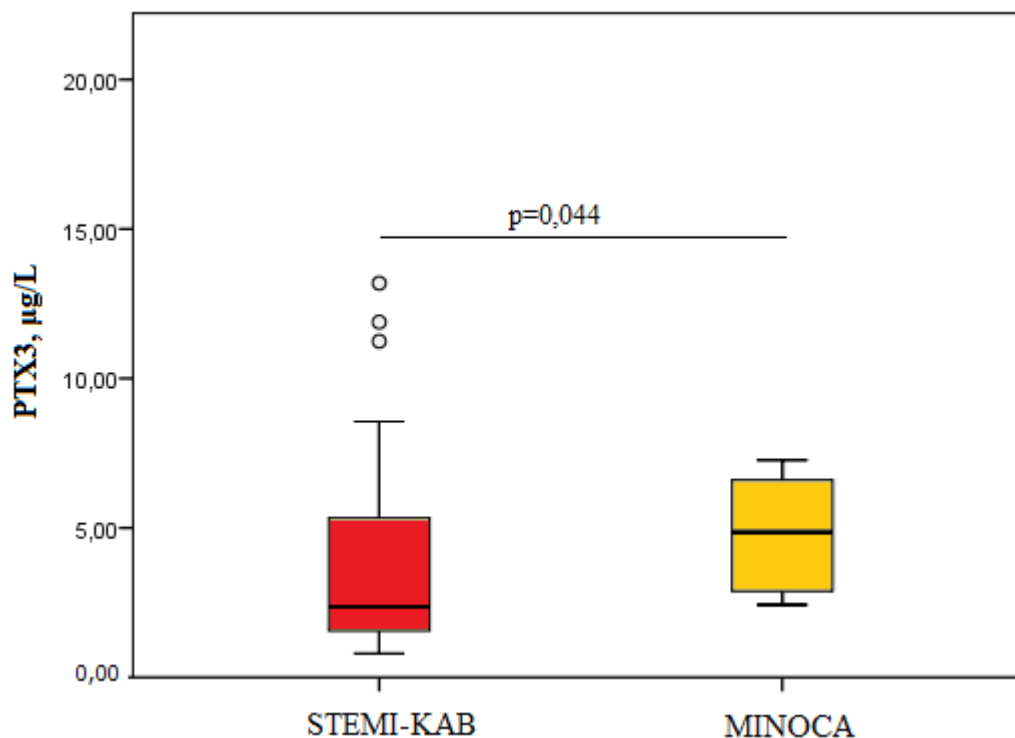
Testirana je razlika u koncentracijama PTX3, hsCRP, HB-EGF i CyPA između STEMI-KAB i MINOCA bolesnika, a dobijeni rezultati su prikazani u Tabeli 32. Kao što se može videti, MINOCA bolesnici imali su značajno više vrednosti PTX3 nego STEMI-KAB bolesnici ($p=0,046$, Slika 42). Nije bilo razlike u koncentracijama HB-EGF, CyPA i hsCRP između MINOCA i STEMI-KAB bolesnika.

Tabela 32. Koncentracije parametara inflamacije kod STEMI-KAB pre izvođenja pPCI i MINOCA bolesnika

Varijabla	MINOCA	STEMI-KAB	p
N	6	75	
hsCRP, mg/L	3,75 (1,00-24,00)	5,10 (2,10-22,20)	0,393
PTX3 pre pPCI, $\mu\text{g/L}$	5,06 (2,77-6,77)	2,18 (1,55-5,10)	0,046
CyPA pre pPCI, $\mu\text{g/L}$	5,31 (1,68-8,82)	8,62 (4,27-15,26)	0,103
HB-EGF pre pPCI, ng/L	12,31 (10,66-13,87)	12,03 (10,69-13,49)	0,968

Poređenje je izvršeno Mann Whitney exact testom. Sve varijable su predstavljene su kao medijana i interkvartilni raspon.

(PTX3 – pentraksin-3; hsCRP – visokoosetljivi C-reaktivni protein; CyPA – ciklofilin A; HB-EGF - heparin-vezujući epidermalni faktor rasta)



Slika 42. Koncentracija PTX3 kod STEMI-KAB i MINOCA bolesnika

4.8.3. Dijagnostička vrednost ispitivanih parametara za razlikovanje STEMI-KAB od MINOCA bolesnika

Pomoću ROC analize ispitana je sposobnost PTX3, hs-CRP, CyPA i HB-EGF za razlikovanje MINOCA od STEMI-KAB bolesnika, a dobijene vrednosti AUC prikazane su u Tabeli 33. Formirani su modeli kombinovanjem inflamatornih parametara sa TnI, prikazani u Tabeli 33 kao C-statistika. PTX3 je pokazao dobru sposobnost razlikovanja MINOCA od STEMI-KAB bolesnika (AUC 0,744, $p=0,047$), a još bolju sposobnost za diferenciranje ove dve grupe bolesnika pokazali su modeli koji su uključili istovremeno određivanje CyPA sa TnI (AUC 0,886, $p=0,027$) i HB-EGF sa TnI (AUC 0,854, $p=0,043$).

Tabela 33. Površine ispod krivih ispitivanih parametara za razlikovanje MINOCA i STEMI-KAB bolesnika

Varijabla	AUC	95% Interval pouzdanosti	SE	p
PTX3	0,744	0,613-0,876	0,067	0,047
CyPA	0,702	0,517-0,887	0,094	0,101
HB-EGF	0,506	0,285-0,726	0,112	0,964
hsCRP	0,608	0,335-0,880	0,139	0,382
TnI	0,853	0,609-1,000	0,125	0,043
TnI+PTX3	0,813	0,542-1,000	0,138	0,073
TnI+CyPA	0,886	0,694-1,000	0,098	0,027
TnI+HB-EGF	0,854	0,611-1,000	0,124	0,043
TnI+hsCRP	0,837	0,620-1,000	0,111	0,053

4.8.4. Inflamatorni parametri kod MINOCA bolesnika i STEMI-KAB bolesnika podeljenih prema SCORE riziku

STEMI-KAB bolesnici su na osnovu izračunatog SCORE rizika podeljeni u dve grupe – grupu bolesnika sa niskim do umerenim SCORE rizikom (< 5) i grupu sa visokim do veoma visokim SCORE rizikom (≥ 5). Grupe su uparene u odnosu na pol, starost i broj ispitanika po principu slučajnosti. Grupe bolesnika su upoređene međusobno, kao i sa grupom MINOCA bolesnika, i u svakoj grupi je urađena korelacija inflamatornih parametara sa SCORE rizikom. Rezultati su pokazali da MINOCA bolesnici imaju nizak 10-godišnji fatalni rizik od KVB izražen kao SCORE, i ta vrednost je slična SCORE riziku u grupi STEMI-KAB bolesnika sa niskim do umerenim rizikom, i značajno niža u odnosu na vrednost u grupi sa visokim SCORE rizikom ($p<0,001$). Od ispitivanih inflamatornih parametara jedino se koncentracija PTX3 razlikovala između grupa, i bila je značajno viša kod MINOCA bolesnika u poređenju sa STEMI-KAB grupom niskog do umerenog rizika ($p=0,032$). Dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 34.

Tabela 34. Inflamatorni parametri kod MINOCA bolesnika i kod STEMI-KAB bolesnika sa različitim SCORE rizikom

Varijabla	MINOCA	STEMI-KAB Nizak do umeren SCORE rizik	STEMI-KAB Visok do veoma visok SCORE rizik	<i>p</i>
N	6	16	18	
Starost, godine	51,3±18,65	57,4±8,81	62,4±7,99	0,071 ^a
Pol, muškarci %	50	50	50	1,000 ^b
SCORE indeks	3 (0-3)	3 (2-3,75)	6 (5-8)* [#]	<0,001 ^c
hsCRP, mg/L	3,75 (1,00-24,00)	5,35 (2,61-35,11)	8,65 (1,55-29,06)	0,597 ^c
PTX3, µg/L	5,06 (2,77- 6,77)	1,67 (1,38-2,09)*	2,37 (1,48-4,00)	0,032 ^c
CyPA, µg/L	5,31 (1,68-8,82)	10,07 (4,69-19,02)	10,21 (3,94-15,72)	0,132 ^c
HB-EGF, ng/L	12,31 (10,66-13,87)	11,58 (10,54-13,19)	12,31 (10,66-13,87)	0,711 ^c

* $p < 0,01$ vs MINOCA ; [#] $p < 0,001$ vs STEMI-CAD Nizak do umeren SCORE rizik

Poređenje ^aANOVA sa Tuckey post hoc testom, ^b χ^2 testom homogenosti, ^c Kruskal Wallis testom sa Mann Whitney post hoc testom uz Bonferony korekciju; Normalno distribuirane kontinuirane varijable predstavljene su kao srednja vrednost \pm SD, varijable sa distribucijom koja nije bila normalna predstavljene su kao medijana i interkvartilni raspon, kategoričke varijable prikazane su kao apsolutne i relativne frekvence.

(hsCRP- visokoosetljivi C-reaktivni protein; PTX3 – pentraxin-3; CyPA – ciklofilin A; HB-EGF - heparin-vezujući epidermalni faktor rasta).

5. DISKUSIJA

Svrha ove studije bila je da se ispituju koncentracije PTX3, HB-EGF i CyPA kod STEMI bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu i bolesnike sa SAP kako bi se utvrdilo da li su promene ovih parametara posledica hronične srčane bolesti ili im se vrednosti menjaju usled akutnih poremećaja u infarktu miokarda. Dodatno je analizirano da li primena pPCI procedure dovodi do oštećenja krvnih sudova srca što će se manifestovati kroz promenu u koncentracijama navedenih ispitivanih parametara. Analizirane su i koncentracije ovih parametara kod STEMI-KAB bolesnika u odnosu na bolesnike sa MINOCA dijagnozom kao i njihova dijagnostička sposobnost u razdvajanju ove dve grupe bolesnika. Kako bi se utvrdilo da li su visoke koncentracije PTX3, HB-EGF i CyPA kod STEMI bolesnika posledica metaboličkih poremećaja ili poremećaja u lipidnom statusu ili oksidativnom stresu i antioksidativnoj zaštiti ovi parametri su grupisani u nekoliko faktora (klastera) i analiziran je njihov značaj u predviđanju visokih vrednosti inflamatornih parametara. Prema našim saznanjima, ovo je prva studija koja je koristila faktorsku analizu za procenu povezanosti između statusa oksidativnog stresa i metaboličkih faktora sa visokim vrednostima PTX3 i HB-EGF kod STEMI bolesnika.

Koncentracije PTX3, hsCRP i HB-EGF u cirkulaciji bile su značajno više kod STEMI i SAP bolesnika u poređenju sa kontrolnom grupom dok su se samo PTX3 i hsCRP razlikovali između SAP i kontrolne grupe. Nije uočena razlika u ispitivanim inflamatornim parametrima između STEMI i SAP grupe (Tabela 2).

STEMI bolesnici u našoj studiji imali su značajno više koncentracije PTX3 u poređenju sa zdravim ispitanicima (Tabela 2). Brojne studije dale su dokaze o povišenim koncentracijama PTX3 kod STEMI bolesnika, kao i tome da su one povezane sa lošijom prognozom. Rezultati u vezi sa povišenom koncentracijom PTX3 u odnosu na zdrave osobe u skladu su sa studijama Helseth i sar. (33), Tomadlove i sar. (47), kao i Peri i sar. (154). Tomandlova i sar. su objavili da PTX3 raste u krvi bolesnika sa AIM i to 6-8h od pojave simptoma (47). Lee i sar. su pokazali da je koncentracija PTX3 značajno viša kod bolesnika sa STEMI u poređenju sa vrednostima kod bolesnika sa NSAP, i da ovaj parametar daje dodatne informacije koje, uz GRACE (*The Global Registry of Acute Coronary Events*) skor, pomažu u stratifikaciji bolesnika sa AKS (8). Osim toga, naši rezultati su pokazali da i bolesnici sa SAP imaju značajno više koncentracije PTX3 od kontrolnih ispitanika (Tabela 2). Smatra se da je povišen PTX3 kod osoba sa SAP povezan sa lošim ishodom (140). Soeki i sar. su kod bolesnika sa SAP pokazali da je PTX3 osetljiviji marker vulnerabilnosti koronarnog plaka od CRP (155). U studiji Hudzik i sar. povećane koncentracije PTX3 u plazmi nađene su kod bolesnika sa srčanom slabošću, kao i nakon implantacije stenta kada ukazuju na moguć razvoj restenoze (156).

Pošto je uočeno da se povišene koncentracije PTX3 javljaju u AIM i SAP, brojne studije su proučavale način na koji PTX3 utiče na razvoj KVB i AIM, ali do danas precizni mehanizmi još uvek nisu u potpunosti objašnjeni. PTX3 se ubrzano stvara u tkivima na mestu infarkta miokarda, ateroskleroze, vaskularnog oštećenja ili inflamacije, odakle se oslobađa se u plazmu (33). Dosadašnja istraživanja su pokazala da povišen PTX3 može imati dva efekta – zaštitni i oštećujući tj. proinflamatoran i antiinflamatoran, u zavisnosti od lokalizacije AIM. Studije sa PTX3-deficijentnim miševima pokazale su povećanu sklonost ka oštećenju kardiomiocita u odnosu na miševe bez deficijencije PTX3; ovi nalazi ukazuju na to da visoke koncentracije PTX3 nakon AIM imaju za cilj ublažavanje štetnih posledica oštećenja miokarda (33). Kardioprotektivna uloga PTX3 dokazana je eksperimentalno, kako *in vitro*, tako i *in vivo*. PTX3-deficijentni miševi razvijaju veći stepen ateroskleroze (157). Lokalno iz neutrofila oslobođen PTX3 u okludiranoj arteriji inhibira agregaciju trombocita i akumulaciju leukocita na endotelnim ćelijama, delujući kao antiinflamatorno sredstvo (158). Čini se, međutim, da PTX3 može imati dvojnu funkciju u urođenom imunskom odgovoru – u zaštititi od aktivacije komplementa sa jedne strane, i pojačavanju komplementom posredovanog oštećenja tkiva u ishemiji na drugoj strani (159). PTX3 predstavlja marker vaskularne aktivacije

povezane sa aterosklerozom (160), i njegova koncentracija u plazmi je pokazatelj lokalne inflamacije na samom mestu aterosklerotske lezije (155). Ipak, precizna uloga PTX3 u vaskularnim bolestima još uvek nije sasvim poznata.

Dodatno, deficijencija PTX3 je povezana sa povećanim deponovanjem fibrina u oštećenom tkivu, pojačanim inflamatornim odgovorom kao rezultat poremećaja kontrole nakupljanja neutrofila posredovane P-selektinom, pojačanim razvojem ateroskleroze i tromboze uz oštećenje kardiomiocita, što sve ukazuje na protektivnu ulogu PTX3 u kardiovaskularnom sistemu. Povećane koncentracije PTX3 kod kardiovaskularnih bolesnika tumače se pokušajem organizma da ograniči inflamaciju. Bonacina i sar. su u svojoj eksperimentalnoj studiji na miševima pokazali da je PTX3 lokalizovan unutar tromba gde svojim N-terminalnim domenom intaraguje sa fibrinogenom a C-terminalnim domenom sa kolagenom i na taj način sinergistički umanjuje adheziju i agregaciju trombocita, odnosno prevenira razvoj tromboze. Ovi autori su međutim pokazali i da se protektivni efekat PTX3 odnosi na protein sintetisan u vaskularnim ćelijama ali ne i u hematopetskim ćelijama (161). Qui i sar. su predložili da PTX3 može biti ciljno mesto delovanja terapijskih agenasa u lečenju aterosklerotskih promena (162).

Prema raspoloživim podacima, do sada je samo nekoliko studija ispitivalo vrednosti HB-EGF kod AIM bolesnika i pokazane su povećane koncentracije ovog markera nakon AIM (40,163). Mi smo u našoj studiji takođe pronašli značajno veće koncentracije kod STEMI bolesnika u poređenju sa zdravim ispitanicima (Tabela 2), i to je u skladu sa studijama koje ukazuju na ushodnu regulaciju HB-EGF nakon AMI (40,163). HB-EGF učestvuje u brojnim fiziološkim procesima, ali njegovi efekti mogu biti različiti, zavisno od tkiva gde se eksprimira (40). Nakata i sar. su pokazali da su makrofage koje ekspimiraju HB-EGF više zastupljene u područjima uznapredovale ateroskleroze, a infiltracija intime makrofagama učestvuje u zadebljanju endotela (113).

Smatra se da faktori rasta stimulišu GMC intime, što je najvažniji proces koji dovodi do stabilizacije aterosklerotskog plaka. Kolagen je najzastupljeniji protein ekstraćelijskog matriksa u plakovima i odgovoran je za održavanje stabilnosti fibrozne kape. Rattik i sar. su analizirali HB-EGF u plazmi i homogenatima karotidnih plakova dobijenih endarterektomijom i pronašli su vezu između koncentracije HB-EGF u plazmi i sadržaja kolagena i elastina u plaku. Ovi autori su zaključili da je visoka koncentracija HB-EGF poreklom iz GMC u plazmi povezana sa prisustvom stabilnijeg fenotipa plaka i da ovaj faktor rasta stimuliše GMC u intimi čime se povećava stabilnost plaka, što mu daje važnu ulogu u zaštiti od KVB. Smatra se da snižena koncentracija HB-EGF može da ukaže na inflamatornu destabilizaciju plaka, kao i da ovaj faktor rasta može da posluži kao koristan biomarker za procenu kardiovaskularnog rizika, odnosno za detekciju postojanja visokorizičnih plakova (97). Jin i sar. smatraju da HB-EGF ima neuroprotektivni efekat; ovi autori su pokazali da primena HB-EGF kod pacova smanjuje veličinu infarkta i poboljšava neurološki ishod nakon fokalne cerebralne ishemijske (108).

Sa druge strane, Ushikoshi i sar. su na modelu pacova pokazali da prekomerna ekspresija HB-EGF ima patološku ulogu koja dovodi do pogoršanja remodelovanja srca nakon AIM (40). Tanaka i sar. su pokazali da je ekspresija HB-EGF iRNK povećana nakon infarkta miokarda što dovodi do remodelovanja srca (163), a HB-EGF interferira sa remodelovanjem srca nakon infarkta miokarda u najvećoj meri aktiviranjem fibroblasta i sledstvenim razvojem intersticijalne fibroze (111,163). Smatra se da povećanje koncentracije HB-EGF kod bolesnika sa potvrđenom KVB ukazuje da ovaj marker nema protektivnu ulogu (103), ali sa druge strane može da označava i aktivaciju protektivnih procesa reparacije u krvnim sudovima zahvaćenim aterosklerozom (97). Važna uloga HB-EGF u postishemijskoj regeneraciji pokazana je u srcu, kao i u drugim organima (164).

Kao najznačajnije uloge HB-EGF smatraju se stimulacija rasta i migracija GMC arterija tokom vaskulogeneze i u odgovoru na traumatu, kao i u stvaranju aterosklerotskih plakova (97). Novija istraživanja su pokazala da se kod miševa deficijentnih u adiponektinu javlja veliko zadebljanje

neointime mehanički povređenih arterija, kao i pojačana proliferacija VGMĆ. Sa druge strane, u kulturi endotelnih ćelija adiponektin smanjuje ekspresiju HB-EGF stimulisanu posredstvom TNF α . Adipociti stvaraju i sekretuju različite biološki aktivne molekule, takozvane adipocitokine, uključujući TNF α , leptin, rezistin, inhibitor aktivatora plazminogena-1 i HB-EGF. Smatra se da osa adiponektin-vaskularni sistem direktno povezuje masne naslage sa arterijama, odnosno da disregulacija stvaranja adipocitokina učestvuje u razvoju metaboličkih i vaskularnih bolesti povezanih sa gojaznošću (165). Kako adiponektin ima direktan antiaterogeni i antiinflamatorni efekat na endotel, i interferira sa svim fazama u nastajanju plaka (166), pretpostavka je da bi terapija u smislu povećanja adiponektina u plazmi bila od koristi u prevenciji vaskularne restenoze posle koronarne angioplastike (165).

CyPA je protein koji se sekretuje u odgovoru na inflamaciju (70). Ekspimiran je u koronarnim aterosklerotskim plakovima bolesnika sa AIM (38,74). Nigro i sar. su pokazali da je koncentracija CyPA kod bolesnika sa AIM i NSAP značajno veća nego kod SAP i kontrola (74). U našem radu nismo pronašli značajnu razliku u koncentraciji CyPA između tri ispitivane grupe (Tabela 2). Objasnjenje za ovakve rezultate može biti kompenzatorni mehanizam gde se CyPA u reakciji na oksidativni stres tokom inflamatornog procesa oslobađa iz proinflamatornih ćelija ali se njegova koncentracija ne povećava jer učestvuje u zaštiti od apoptoze izazvane oksidativnim stresom (38). Osim toga, razlika u rezultatima koje smo dobili u odnosu na druge studije može biti i posledica različitog vremena uzorkovanja krvi za analizu CyPA, pošto je poznato da je vreme merenja biomarkera u odnosu na pojavu bola u grudima važan faktor u njegovoj evaluaciji u AIM (47).

Na osnovu dosadašnjih literaturnih podataka jasno je da je CyPA važan medijator zajedničkih puteva uključenih u procese ateroskleroze, vaskularnog remodelovanja i razvoja AAA. Studije su pokazale da povećana ekspresija CyPA korelira sa lošim ishodom kod bolesnika sa inflamatornim bolestima. Rezultati eksperimentalnih studija ukazuju na to da su CyPA deficijentni miševi zaštićeni od vaskularnog remodelovanja, AAA, ateroskleroze, hipertrofije miokarda (74). CyPA je povećan u plazmi bolesnika sa koronarnom bolešću i korelira sa težinom bolesti kao i sa brojnim klasičnim kardiovaskularnim faktorima rizika (75,78). Satoh i sar. su u svom radu dobili značajno povećane koncentracije CyPA kod bolesnika kod kojih su prisutni i tradicionalni faktori rizika (hipertenzija, dijabetes, pušenje, dislipidemija, starije životno doba). Pomenuti autori su pokazali i porast koncentracije CyPA sa povećanjem broja arterija zahvaćenih stenozom, i sugerisali da agensi koji inhibiraju sekreciju CyPA ili receptor za CyPA mogu biti potencijalni terapeutici za supresiju razvoja ateroskleroze i ruptur plaka (78).

STEMI i SAP bolesnici u ovoj studiji imali su značajno više koncentracije hsCRP u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 2). Brojne studije su pokazale da je povišena vrednost CRP tokom AIM odgovorna za oštećenje miokarda, usled aktivacije sistema komplementa i pokretanja makrofagama posredovane destrukcije kardiomiocita (167,168). CANTOS studija je ukazala na to da STEMI bolesnici kod kojih se postigne smanjenje hsCRP ispod 2 mg/L posle započinjanja terapije anti-IL-1 β monoklonskim antitelom canakinumab imaju za 25% manju verovatnoću da razviju ponovljeni veliki kardiovaskularni događaj (169).

U ovom radu je pokazano da se ni jedan od ispitivanih inflamatornih parametara ne razlikuje značajno između SAP i STEMI grupa (Tabela 2). To znači da bolesnici i sa akutnom i hroničnom KVB imaju povišene inflamatorne parametre (uključujući hsCRP), ali u akutnom stanju povećanje nije značajno veće ili smanjenje nije značajno niže, za šta razlog može biti i malo vremena koje u akutnom stanju prođe od pojave simptoma do određivanja koncentracija inflamatornih markera (150).

Što se ostalih ispitivanih kako demografskih i kliničkih tako i biohemijskih parametara tiče, pokazano je da je učestalost muškaraca i pušača bila značajno viša i kod STEMI i kod SAP bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 1), što je očekivano s obzirom na to da su muški pol i pušenje faktori rizika za razvoj KAB (170). Osim toga, SAP bolesnici su imali manji broj okludiranih krvnih sudova u odnosu na STEMI bolesnike (Tabela 1).

Utvrđili smo značajnu razliku između SAP i STEMI grupa bolesnika u koncentracijama glukoze, TH i LDL-h, kao i aktivnosti LDH, i sve vrednosti su bile viši kod STEMI u odnosu na SAP bolesnike (Tabela 1). Budući da su bolesnici sa STEMI i SAP imali povišene koncentracije glukoze, LDL-h i TG uz smanjen HDL-h u poređenju sa kontrolnim ispitanicima (Tabela 1), ova studija takođe potvrđuje da osobe sa dislipidemijom i visokom koncentracijom glukoze imaju veću verovatnoću za razvoj koronarne srčane bolesti (171). STEMI grupa je imala znatno veću aktivnost LDH u poređenju sa kontrolnom i SAP grupom (Tabela 1), što je očekivano s obzirom da je već poznato da se aktivnost LDH povećava ubrzo nakon pojave bola u grudima i ima relativno visoku specifičnost za AIM (172). Osim toga, i u STEMI i u SAP grupi bolesnici su imali veće vrednosti mokraćne kiseline u poređenju sa kontrolnom grupom (Tabela 1), što je u skladu sa drugim studijama koje su pokazale da je hiperurikemija veoma česta pojava kod bolesnika sa KAB i da korelira sa težinom bolesti (173,174).

Naši rezultati su otkrili značajnu promenu sadržaja SH-grupa i ostalih antioksidativnih markera nakon STEMI događaja u odnosu na zdrave ispitanike, pri čemu je ukupna koncentracija SH-grupa bila značajno niža u STEMI grupi (Tabela 4). Imajući u vidu da su SH-grupe izvedene iz različitih aminokiselina koje sadrže sumpor, kao što su ostaci cisteina i metionina, kao i njegovih derivata homocisteina i glutaciona, sve to bi moglo da doprinese ukupnom sadržaju SH-grupa. U stanju oksidativnog stresa SH-grupe pri ispoljavanju svog antioksidativnog potencijala podležu oksidaciji uz formiranje disulfidnih veza, pri čemu se ukupan sadržaj SH-grupa smanjuje (130). Rezultati koje smo dobili a odnose se na sadržaj SH-grupa u skladu su sa rezultatima Tanriverdi i sar. (129) i Kotur-Stevuljević i sar. (175), i idu u prilog tome da oksidativni stres smanjuje sadržaj SH-grupa. Pogoršanje antioksidativnog kapaciteta kod STEMI bolesnika u našem radu potvrđeno je i smanjenjem TAS u odnosu na zdrave osobe, što je u skladu je sa rezultatima studije LoPresti et al (109) i Surekha i sar. (176), a može biti posledica potrošnje antioksidanasa na ublažavanje posledica oksidativnog stresa u AIM. Usled intenziviranja oksidativnog stresa kod STEMI bolesnika, antioksidativni sistem je očekivano kompromitovan. Ukupni antioksidativni kapacitet predstavlja zbirno delovanje različitih redukujućih supstanci (kao što su glutation, albumin, vitamin C, bilirubin, mokraćna kiselina) (127), a merenje totalnog antioksidativnog statusa u plazmi je metoda koja se koristi za procenu antioksidativnog kapaciteta plazme. Smanjenje TAS je pokazano na životinjskom modelu AIM; nakon tretmana ovih životinja askorbinskom kiselinom, TAS se značajno povećao (177).

Aktivnost antioksidativnog enzima SOD bila je povišena kod STEMI bolesnika u poređenju sa zdravim ispitanicima (Tabela 4), što ukazuje na pojačanu antioksidativnu zaštitu u akutnom stanju, a to je u skladu sa rezultatima Lavall i sar. (178) i Dulce Bagatini i sar. (179). Nađeno je da je kod miševa sa povećanom ekspresijom SOD veličina infarkta značajno niža (180). Pored toga, povećanje aktivnosti SOD u serumu može nastati i usled izlaska intracelularne forme ovog enzima iz nekrotičnih kardiomiocita tokom infarkta miokarda (47), pa se postavlja pitanje da li SOD odražava status oksidativnog stresa ili stepen oštećenja ćelija kod bolesnika sa STEMI? Za razliku od antioksidativnih markera koji mere aktivnost ili koncentraciju nekoliko parametara uključenih u zaštitu od oksidativnog stresa (kao što je TAS) i pokazatelji su iscrpljivanja antioksidativnih sposobnosti ćelija, SOD odražava aktivnost samo jednog enzima, tako da pre pokazuje stepen oštećenja ćelija izazvanog oksidativnim stresom i može se koristiti ne samo kao marker oksidativnog stresa, već i za predviđanje ishoda.

Što se tiče markera oksidativnog stresa, STEMI bolesnici imali su značajno više vrednosti PAB od zdravih osoba (Tabela 3), što je u skladu sa rezultatima Alamdari i sar (131) i Ghayour-Mobarhan i sar. (181); smatra se da povišena vrednost PAB predstavlja znak perzistirajućeg oksidativnog stresa nakon AKS. Sadržaj AOPP smanjen je kod STEMI bolesnika u poređenju sa kontrolnim subjektima u našoj studiji (Tabela 3). Rezultati ispitivanja Vukićević i sar. pokazali su smanjenje vrednosti AOPP neposredno posle bajpas graftinga u odnosu na vrednosti pre intervencije (182). AOPP nastaju tokom oksidativnog stresa reakcijom tiol grupa proteina plazme sa oksidansima, a albumin je najzastupljeniji redukovani tiol velike molekulske mase u humanoј plazmi koji sadrži jednu slobodnu sulfhidrilnu

grupu lociranu na cisteinu-34 (183). Kako je albumin negativan reaktant akutne faze, sa smanjenjem sadržaja albumina tokom akutne faze STEMI, može se očekivati i smanjenje proizvodnje AOPP, pa se može pretpostaviti da smanjenje AOPP kod STEMI bolesnika može biti indikator težine akutne faze.

Bolesnici sa SAP imali su značajno niže vrednosti PAB od STEMI grupe (Tabela 3) i više vrednosti SH-grupa i TAS u odnosu na STEMI i kontrolnu grupu (Tabela 4). Ovakvi rezultati ukazuju na značajnu razliku u razvoju oksidativnog stresa i nivou antioksidativne zaštite u akutnoj u odnosu na hroničnu koronarnu bolest.

Posle podele svih ispitanika prema polu, u grupi zdravih osoba nađena je značajno viša koncentracija HB-EGF kod muškaraca u odnosu na žene, dok se ostali ispitivani inflamatorni parametri nisu razlikovali u odnosu na pol (Tabela 5). Sanchez-Vizcaino i sar. u svom radu nisu našli razlike u vrednostima HB-EGF između zdravih muškaraca i žena, ali smo mi koristili osetljiviju metodu (sa nižim donjim limitom detekcije) (107).

U ovom radu nije nađena značajna razlika u koncentracijama ispitivanih inflamatornih parametara između muškaraca i žena kod STEMI bolesnika (Tabele 8 i 30). Žene sa STEMI u proseku su bile starije od muškaraca sa istom dijagnozom što je u skladu sa činjenicom da se ishemijska bolest srca kod žena razvija u proseku 7-10 godina kasnije nego kod muškaraca (184).

Posle podele kontrolnih ispitanika na tri starosne grupe (Tabela 6), rezultati su pokazali da su osobe preko 65 godina starosti imale najviše vrednosti PTX3, što je u skladu sa rezultatima studije Yamasaki i sar. (185), dok su koncentracije HB-EGF značajno opadale sa starenjem, što je u skladu sa rezultatima Nakata i sar. (113).

Kada smo STEMI bolesnike podelili na tri starosne grupe, dobijeni rezultati su pokazali da među inflamatornim parametrima nema značajne razlike u odnosu na starost ispitanika (Tabela 9).

U skladu sa IFCC preporukama (151) definisali smo referentne vrednosti, odnosno vrednosti ispitivanih parametara u zdravoj populaciji (u referentnoj populaciji bez znakova i simptoma bolesti) (Tabela 7). Referentne vrednosti su za HB-EGF definisane posebno za muškarce i žene, dok su za PTX3 i CyPA definisane za celu populaciju. Yamasaki i sar. su u svojoj studiji odredili referentne vrednosti za HB-EGF kod 1749 zdravih osoba populacije Japana, prosečne starosti 37-87 godina. Gornja granica referentnog intervala za žene iz pomenute studije je veoma bliska gornjoj granici referentnog intervala dobijenog u našoj studiji. Ovi autori su dobili nešto više referentne vrednosti kod muškaraca u odnosu na žene, i uži opseg referentnog intervala (1,81-1,94 ng/mL) u odnosu na vrednosti dobijene u našoj studiji (0,27-1,89 ng/mL), za šta razlog može biti veći broj ispitanika u studijskoj grupi populacije Japana (185). Kjaer i sar. su ispitali referentni interval za HB-EGF za žene u grupi od 419 ispitanica starosti 26-78 godina (186). Ovi autori su dobili viši opseg referentnog intervala (18,0-36,0 pg/mL) u odnosu na vrednosti koje smo dobili u našoj studiji za žene (0,34-14,59 pg/mL), a razlog za ovu razliku može se tražiti u različitim metodama određivanja HB-EGF. Do sada nisu sprovedene studije sa ciljem definisanja referentnih vrednosti za CyPA. Ramachandran i sar. (187) su u studiji kod 121 zdravog ispitanika starosti 30-53 godine dobili vrednosti CyPA u opsegu od 9,4-17,0 ng/mL, što se delimično poklapa sa referentnim opsegom koji smo dobili u našoj studiji (0,21-15,1 ng/mL). Određivanjem referentnih vrednosti definiše se opseg u kome bi vrednosti nekog parametra trebale da budu u zdravoj populaciji, sa pretpostavkom da bi te vrednosti trebalo da ima 95% populacije. Ako osoba ima vrednosti nekog parametra više od referentnih, to znači da najverovatnije ne pripada zdravoj populaciji, te da uzroke povišenih vrednosti treba tražiti shodno karakteristikama samog parametra - kada i iz kojih razloga taj parametar može biti povišen. Ako se pogledaju vrednosti HB-EGF i CyPA dobijene kod bolesnika sa STEMI, vidi se da veći procenat bolesnika ima vrednosti u okviru referentnog intervala, odnosno da postoji preklapanje u vrednostima ovih parametara između bolesnika i zdravih osoba. To znači da HB-EGF i CyPA nisu najbolji parametri za dijagnostikovanje STEMI, što se vidi i iz vrednosti AUC. Za razliku od pomenutih parametara, među bolesnicima sa

STEMI nema osoba sa vrednostima PTX3 koje pripadaju referentnom intervalu, što ga čini dobrim dijagnostičkim markerom za detekciju STEMI.

Rezultati korelacione analize u ovoj studiji među zdravim osobama pokazali su postojanje značajne pozitivne povezanosti BMI sa hsCRP i negativne sa PTX3 (Tabela 10). To znači da gojaznost smanjuje PTX3, a negativna korelacija između PTX3 i BMI je u skladu sa rezultatima Knoflach i sar. u Bruneck studiji (188) kao i studiji Ogawa i sar. (189). Poznato je da i HDL-h stimuliše ekspresiju PTX3, tako da smanjenje HDL-h kod gojaznih osoba može biti jedan od razloga za sniženje PTX3 (190). Veza između hsCRP i gojaznosti je već poznata; gojazne osobe imaju povišene vrednosti hsCRP koji je prediktor budućih kardiovaskularnih događaja (189). Nakata i saradnici su utvrdili da se u GMĆ koronarnih arterija ekspresija HB-EGF postepeno smanjuje nakon 30. godine starosti, ukazujući na ulogu ovog proteina u strukturalnom održavanju koronarnih arterija (113). I mi smo u ovoj studiji dobili značajno smanjenje vrednosti HB-EGF sa povećanjem starosne dobi kod zdravih ispitanika (Tabela 6), a u skladu sa tim i značajnu negativnu korelaciju HB-EGF sa starošću ispitanika (Tabela 10). Osim toga, u grupi kontrolnih ispitanika nađena je značajna pozitivna korelacija između hsCRP i TOS (Tabela 12), i negativna između hsCRP i TAS, kao i između PTX3 i SH-grupa (Tabela 13). Negativna povezanost između CRP i TAS kod kontrolnih ispitanika u skladu je sa rezultatima studije Babaei i sar. (191).

Situacija je nešto drugačija u grupi STEMI bolesnika, gde je nađeno da PTX3 pozitivno korelira sa aktivnošću LDH (Tabela 14), koji je povećan kod bolesnika sa AIM; nismo našli značajnu korelaciju između PTX3 i TnI (Tabela 14). Parsa i sar. su takođe u svojoj studiji našli da je aktivnost LDH veća kod bolesnika sa višim koncentracijama PTX3 i nisu dobili korelaciju između PTX3 i TnI (61). Interesantno je da je PTX3 kod STEMI bolesnika u ovom radu u pozitivnoj korelaciji sa HB-EGF (Tabela 15), odnosno povećanje koncentracije PTX3 praćeno je povećanjem HB-EGF. Razlog tome verovatno leži u mogućnosti da akutno stanje pokreće mehanizam njihove sinteze ili se uključuju neki dodatni poremećaji, kao što je oksidativni stres, ali postoji mogućnost i da PTX3 i HB-EGF u pozitivnoj interakciji ispoljavaju zaštitni efekat u grupi bolesnika. Iako PTX3 i HB-EGF koreliraju u grupi bolesnika, njihov odnos je potpuno suprotan sa CyPA (Tabela 15). Razlog za negativnu korelaciju između PTX3 i CyPA mogao bi biti u tome što PTX3 efektom na CyPA smanjuje aktivnost proinflamatornog puta posredovanog NF-kB, pošto je poznato da CyPA ima regulatorni efekat na NF-kB, a aktivirani NF-kB se nalazi u aterosklerotskim plakovima i ima veoma važnu ulogu u ranoj fazi AIM (192). Kloniranje mišjeg PTX3 pokazalo je da je PTX3 eksprimiran u kardiomiocitima odakle se oslobađa u ishemiji ukazujući na nekrozu miocita, pa prema tome predstavlja rani indikator AIM (154). Peri i sar. su utvrdili da PTX3 raste brže od CRP u AIM i da ne postoji korelacija između PTX3 i CRP, pri čemu na otpustu većina bolesnika ima normalne vrednosti PTX3 a povišene vrednosti CRP (154). Mi u ovoj studiji takođe nismo našli korelaciju između PTX3 i hsCRP, ali smo dobili pozitivnu korelaciju između HB-EGF i hsCRP (Tabela 15).

Nismo našli povezanost koncentracije PTX3 sa SYNTAX skorom (Tabela 14). Karakas i sar. u svojoj studiji takođe nisu otkrili razliku u vrednostima PTX3 između bolesnika sa niskim (≤ 22) i intermedijarnim (23-32) SYNTAX skorom kod bolesnika sa SAP (140). Druge studije pokazale su pozitivnu korelaciju između PTX3 i SYNTAX skora, ali su te studije uključivale stabilne kardiovaskularne pacijente, a ne akutne kakvi su bili u našoj studijskoj grupi (193).

PTX3 je pokazao negativnu povezanost, dok je CyPA bio u pozitivnoj korelaciji sa SH-grupama u našoj studiji (Tabela 17), ukazujući na izraženi uticaj oksidativnog stresa na oba inflamatorna parametra kod STEMI bolesnika. Negativna korelacija između PTX3 i SH-grupa kao parametra antioksidantne zaštite može ukazati da potrošnja SH-grupa na smanjenje oštećenja izazvanog oksidativnim stresom stimuliše dalje oslobađanje PTX3 kako bi se pojačao zajednički zaštitni efekat. Prema studiji Tanriverdi i sar. (129), od svih ispitivanih parametara, SH-grupe imaju najveću koncentraciju među endogenim antioksidansima i verovatno je da poremećaj u njihovoj koncentraciji

ima najveći uticaj na inflamatorne markere. Pojačanje antioksidativne zaštite je često rezultat povećanog oksidativnog stresa koji je prisutan kod STEMI bolesnika, što se može zapaziti na primeru povećanja aktivnosti SOD. Pored toga, prekomerna proizvodnja ROS ubrzava oslobađanje CyPA putem aktivacije transkripcionog faktora NF- κ B (129). Yuan i sar. su pokazali da je interakcija CyPA-EMMPRIN kao odgovor na ROS verovatno ključni proinflamatorni put u monocitima (122). U studiji Seizer i sar. objavljeno je da se tokom inflamatornog procesa CyPA oslobađa iz inflamatornih ćelija kao odgovor na oksidativni stres (75). Međutim, povezanost između CyPA i SH-grupa u našoj studiji nije dokazana u kontrolnoj grupi ukazujući na bolju ravnotežu u parametrima oksidativnog stresa kod zdravih osoba. Ramachandran i sar. su pronašli da povišene vrednosti glukoze u krvi indukuju sekreciju CyPA iz monocita kroz oksidativni stres izazvan hiperglikemijom, kao i da kardiovaskularni lekovi (aspirin, klopidogrel i statini) ne utiču na nivo CyPA, dok metformin snižava nivo CyPA (187). U našoj studiji STEMI bolesnici imali su značajno više vrednosti glukoze u odnosu na kontrolnu grupu (Tabela 1).

Matsumoto i sar. su zabeležili porast koncentracije HB-EGF kod gojaznih bolesnika sa KAB usled akumulacije masnog tkiva. Ovi autori su našli da je HB-EGF iRNK povećano eksprimirana u humanom adipoznom tkivu, da se ekspresija HB-EGF iRNK povećava u masnom tkivu gojaznih miševa, kao i da vrednost HB-EGF raste u pazmi paralelno sa povećanjem količine humanog masnog tkiva (116). I mi smo u ovom radu našli značajnu pozitivnu korelaciju koncentracije HB-EGF sa BMI kod bolesnika sa STEMI (Tabela 14). Schickling i sar. su na miševima pokazali da u stanju hronične inflamacije niskog intenziteta izazvane gojaznošću, HB-EGF 2,6 puta povećava ekspresiju Nox1, aktivaciju NF- κ B i proliferaciju GMC. Proliferacija GMC posredovana HB-EGF može biti sprečena mitohondrijalnim ciljnim antioksidantom, mitoTEMPO (engl. *mitochondria-targeted antioxidant*). Ovi podaci sugerišu da je gojaznost povezana sa povećanjem koncentracije cirkulišućih EGF-liganda koji doprinose razvoju kardiovaskularnih bolesti mehanizmom koji uključuje mitohondrijalni ROS-om izazvan ROS i povećanom ekspresijom Nox1 (194).

Poznato je da kardiovaskularni bolesnici imaju povišene koncentracije hsCRP, tako da su rezultati koje smo dobili za hsCRP (Tabela 2) u skladu sa drugim studijama (195,196). To smo dokazali u našoj prethodnoj studiji (34) a sada smo potvrdili i na drugoj grupi bolesnika. Osim toga, u ovom radu smo dobili da hsCRP pozitivno i značajno korelira sa SYNTAX skorom (Tabela 14), što je u skladu sa rezultatima Karakas i sar. (140), kao i sa koncentracijom HB-EGF (Tabela 15). Inflamacija ima ključnu ulogu tokom akutne faze AIM, kao i tokom procesa oporavka. Inflamatorni odgovor je udružen sa stvaranjem brojnih medijatora. Pokazano je da povećanje koncentracija CRP tokom AIM predstavlja negativan prognostički faktor. Veoma snažan inflamatorni odgovor izražen u vidu prekomernog stvaranja CRP može dovesti do pogoršanja funkcije i remodelovanja leve komore (47). Komplementom posredovana inflamacija učestvuje u patogenezi tkivne povrede u AIM. CRP aktivira komplement klasičim putem; vezivanjem za oštećene ćelije, CRP može dovesti do komplementom posredovanog širenja oštećenja tkiva (41).

Posmatrano je i kako se lipidni parametri i oksidativni stres menjaju u uslovima kada su zastupljene visoke vrednosti PTX3 i HB-EGF. Pošto oksidativni stres utiče na modifikaciju lipida a dislipidemija na stvaranje, progresiju i nestabilnost aterosklerotskog plaka (197) a samim tim i osnovnog uzroka STEMI, ispitivana je promena ovih parametara u uslovima pojačane inflamacije. Zato su demografske i kliničke karakteristike, kao i koncentracije lipida i markera oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite analizirane kod pacijenata sa visokim vrednostima PTX3 (Tabele 19,21,22) i HB-EGF (Tabele 23,25,26) u odnosu na pacijente sa niskim vrednostima navedenih parametara. Visoke vrednosti ova dva parametra izračunate su iz ROC krive i predstavljaju optimalne vrednosti (razlika između pravih pozitivnih i lažno pozitivnih vrednosti je maksimalna) na osnovu kojih mogu u najboljoj meri da se razdvajaju STEMI pacijente od kontrolne grupe (Tabela 18), a iznose 1,61 μ g/L za PTX3 i 10,41 ng/L za HB-EGF. Uočeno je da su u grupi STEMI ispitanika sa visokim koncentracijama

PTX3 u većoj meri zastupljeni muškarci i da su koncentracije HDL-h, CypA i TAS niže u odnosu na ispitanike sa niskim vrednostima PTX3 (Tabele 19,20,22). Niže vrednosti CyPA koje smo našli kod bolesnika sa visokim koncentracijama PTX3 u skladu su sa negativnom korelacijom koju smo našli između ova dva parametra (Tabela 15). Što se HB-EGF tiče, kod ispitanika sa visokim vrednostima HB-EGF samo su koncentracije PTX3 više u odnosu na ispitanike sa nižim koncentracijama HB-EGF (Tabela 24), što je u skladu sa pozitivnom korelacijom koju smo dokazali za ova dva parametra (Tabela 15). Ovi podaci mogu da idu u prilog tome da su visoke vrednosti PTX3 pokazatelj pojačanog inflamatornog odgovora u cilju smanjenja štetnog efekta brojnih faktora rizika za KVB, što je svaki od pomenutih parametara (muškarci stariji od 45 godina, nizak HDL-h, snižena vrednost TAS). U ovoj studiji nismo bili u mogućnosti da isključimo uticaj antihipertenzivnih, hipolipemijskih i hipoglikemijskih lekova, mada je poznato da ovi lekovi mogu uticati na nivo PTX3 (157).

Brojne studije dale su dokaze o tome da su visoke koncentracije PTX3 kod STEMI bolesnika povezane sa lošijom prognozom kao i da povišen PTX3 nosi rizik za veći mortalitet. Dubin i sar. su u studiji u koje su uključene osobe sa stabilnom KAB zaključili da je PTX3 značajno povezan sa mortalitetom od svih uzroka i budućim kardiovaskularnim događajima (198). U studiji Hudzika i sar. merene su koncentracije PTX3 i hsCRP kod bolesnika sa stabilnom KAB; rezultati te studije su pokazali da je PTX3 superiorniji od hsCRP kao prediktor nastanka KVB (156). Brügger-Andersen i sar. su pokazali da bolesnici sa AKS i povišenim vrednostima PTX3 imaju veći rizik za 2-godišnji mortalitet i rekurentne ishemijske događaje (199). Tomadlova i sar. su našli da je povišena koncentracija PTX3 kod bolesnika sa STEMI povezana sa lošijom prognozom i većim rizikom od mortaliteta i razvoja disfunkcije leve komore (ejekciona frakcija $\leq 40\%$). Isti autori su zaključili da je koncentracija PTX3 24 sata nakon STEMI snažan prediktor 30-dnevnog i 1-godišnjeg mortaliteta, i da kao biomarker ima dobru prognostičku vrednost bar koliko i TIMI (engl. *Thrombolysis In Myocardial Infarction*) ili GRACE scoring sistem, ili kao drugi prediktori poput BNP (engl. *brain natriuretic peptide*) (47). Studija Akgül i sar. objavila je povezanost povišene koncentracije PTX3 na prijemu u hitnu službu i povećanog intrahospitalnog kardiovaskularnog mortaliteta kao i 2-godišnjeg mortaliteta različitih uzroka kod bolesnika sa STEMI kod kojih je sprovedena pPCI (39). Kimura i sar. pokazali su da su vrednosti PTX3 veće od 3,79 ng/mL pre pPCI povezane sa visokorizičnom strukturom plaka i sa smanjenom perfuzijom miokarda posle pPCI, što može da dovede do lošijeg ishoda kod bolesnika posle STEMI; to je potvrdilo klinički značaj PTX3 u nein vazivnoj proceni rizika kod bolesnika sa STEMI (60). Isti autor je u drugom radu pokazao dobre dijagnostičke potencijale PTX3 u predviđanju ishoda posle pPCI kod bolesnika sa SAP (200). I druge studije su pokazale da bi povećan PTX3 u AIM mogao imati prediktivnu vrednost za mortalitet od KAB, i da je čak superiorniji od troponina T, CK i pro-BNP (33). Fornai i sar. su izneli podatke da je povećanje PTX3 kod STEMI bolesnika nakon prijema u hitnu službu nezavisan prediktor 3-mesečnog mortaliteta (52). Osim toga, pokazano je da povišena koncentracija HB-EGF učestvuje u razvoju ateroskleroze (113). Zbog toga je ispitivan uticaj različitih kardiovaskularnih faktora rizika (glukoze, lipidnih parametara i parametara oksidativnog stresa) na pojavu visokih koncentracija PTX3 i HB-EGF. Da bismo bolje razumeli udruženi efekat ovih parametara na visoke koncentracije PTX3 i HB-EGF, primenom PCA analize grupisali smo ih u nekoliko faktora prema njihovim zajedničkim fiziološkim karakteristikama. Na ovaj način svaki od faktora objedinjuje efekte nekoliko sličnih parametara. Izdvojeno je 4 faktora koji su označeni kao faktor zavisen od proteina, faktor metaboličko-oksidativnog stresa, faktor prooksidativno-antioksidativnog balansa i antioksidativni faktor zavisen od starosti (Tabela 27). Ovi faktori objašnjavaju 70% ukupne varijanse u izvornim varijablama. Među njima, faktor metaboličkog-oksidativnog stresa koji je uključio glukozu i PAB pojavio se kao nezavisni prediktor visokih koncentracija PTX3 (Tabela 28). Naši podaci su pokazali postojanje veze između pojačanog oksidativnog stresa, visoke koncentracije glukoze i visokih vrednosti PTX3, čime se može objasniti zašto ljudi sa visokim vrednostima PTX3 imaju lošiju prognozu, ali to nam još uvek ne daje jasan

odgovor da li je porast koncentracije PTX3 usmeren na zaštitu. Prema studiji Akgul i sar. (39), ako osoba ima visoke vrednosti PTX3 (pored zaštitnog efekta), takođe će imati i veću verovatnoću lošijeg ishoda, posebno ako ne uspe da neutrališe efekte delovanja pojačanog oksidativnog stresa i visokih koncentracija glukoze. Pored toga, našli smo povezanost koncentracije HB-EGF sa visokim koncentracijama PTX3, a PTX3 je jedini značajan prediktor visokih vrednosti HB-EGF (Tabele 24,28). Poznato je da jedan od glavnih doprinosa povećanom stvaranju ROS u STEMI predstavlja hronična hiperglikemija. U našoj studiji, 50% bolesnika je imalo vrednosti glukoze više od 7,0 mmol/L, a samo 25% je imalo vrednosti manje od 6,3 mmol/L. Takođe je poznato da hronična hiperglikemija povećava nivo PTX3 i oksidativnog stresa (157). *In vitro* studija Shanmugam i sar. pokazala je da delovanje hiperglikemije na monocite dovodi do povećane ekspresije TNF α pomoću oksidativnog stresa i NF-kB puta (201), dok TNF α stimuliše sekreciju PTX3 (45). Nekoliko autora je potvrdilo da je PTX3 povezan sa gojaznošću, i da je povišen kod bolesnika sa metaboličkim sindromom koji se karakteriše visceralnim tipom gojaznosti (202,203). Gojaznost je udružena sa aktivacijom trombocita, pri čemu gubitak od 10% težine smanjuje oksidativni stres i stvaranje trombocitnog tromboksana A₂, što ukazuje na to da oksidativni stres dovodi i do aktivacije trombocita. Smatra se da PTX3 ima izvestan antitrombocitni efekat; rađene su i eksperimentalne studije sa ciljem da procene mogućnost delovanja PTX3 kao modulatora vaskularne bolesti (202). Istraživanja daju mogućnost da se PTX3 nalazi na raskršću delovanja pro- i antiinflamatornih stimulusa, i da ovaj marker predstavlja balans koji sprečava prekomernu aktivaciju proinflatorne, odnosno proaterogene kaskade (6).

Rana reperfuzija miokarda pomoću pPCI i dalje je najrelevantniji tretman za pacijente sa STEMI. Ipak, sama ova procedura dovodi do značajnog povećanja proizvodnje ROS u povređenom krvnom sudu (127). Iako pPCI nedvosmisleno ima benefite kod bolesnika sa STEMI, kao jedna od čestih neželjenih pojava javlja se ishemijsko-reperfuziona povreda. Oksidativni stres je jedan od glavnih faktora koji dovode do ove vrste povrede miokarda usled prekomernog stvaranja ROS tokom prekinute perfuzije miokarda (204), a smatra se da upotreba antioksidanasa može da zaštititi od reperfuzione povrede (88). Pošto smo utvrdili da se pojedini ispitivani parametri menjaju u akutnom stanju, postavlja se pitanje da li je ova promena trenutna i da li sama pPCI intervencija izaziva inflamatornu reakciju u povređenom zidu krvnog suda koja zatim dovodi do neželjenih kardiovaskularnih događaja. Vargova i sar. su pokazali da elektivna pPCI izaziva blagu povredu endotela i da su ishemija miokarda i sam aterotrombotski proces najodgovorniji za produženo oštećenje endotela (205), a Katooka i sar. su ukazali na to da pPCI izaziva značajnu inflamatornu reakciju u oštećenom krvnom sudu koja može pokrenuti akutnu ishemiju i kasnije restenozu (206). Neposredno posle završetka pPCI pratili smo koncentracije inflamatornih parametara. Kod bolesnika sa STEMI-KAB nakon izvođenja pPCI koncentracije PTX3 bile su značajno niže nego pre intervencije, dok su koncentracije CyPA i HB-EGF bile više (Tabela 29). Smanjenje koncentracije PTX3 koje smo zabeležili nakon izvođenja pPCI može biti dokaz da je to zaštitni marker i da se troši na otklanjanje posledica oštećenja krvnog suda, kao i da učestvuje u odbrani od reperfuzijom izazvanog oštećenja (41). Helseth i sar. su pokazali da su koncentracije PTX3 više u plazmi bolesnika sa AIM u odnosu na pacijente sa SAP 15 minuta nakon pPCI, pri čemu AIM *per se* izaziva povećanje PTX3, a da vrednosti PTX3 počinju da padaju 3 sata nakon pPCI. Autori su spekulirali da je vrednost PTX3 pre pPCI možda bila još veća i da je novonastala ishemija u AIM povezana sa porastom PTX3. Smanjenje PTX3 u AIM nakon pPCI može da bude posledica ispražnjenih depoa PTX3 u cirkulišućim leukocitima i drugim ćelijama koje sekretuju PTX3, kao što su ishemični kardiomiociti, ili može da znači da je akutni stimulus za sekreciju PTX3 uklonjen. Takođe postoji mogućnost da aktivacija neutrofila koja prethodi AIM dovodi do oslobađanja PTX3 ili je delimično odgovorna za rupturu plaka (33). Solheim i sar. su našli značajno smanjenje PTX3 kod bolesnika sa STEMI u vremenu od 3h do 12h nakon pPCI, uz kontinuirano smanjenje u narednim danima (207). Liu i sar. su utvrdili sniženje PTX3 u grupi STEMI bolesnika sa ishemijskim postkondicioniranjem nakon pPCI, u poređenju sa bolesnicima koji nisu

postkondicionirani (208). Naime, na početku reperfuzije, rekanalizacija koronarne arterije može ublažiti ishemijsko-reperfuzionu povredu i zaštititi miokard (efekat poznat kao ishemijsko postkondicioniranje). Na modelu ishemijske i reperfuzije kod psa, utvrđeno je da ishemijsko postkondicioniranje štiti miokard od reperfuzione povrede (208). Munk i sar. su našli porast koncentracije PTX3 posle pPCI, sa pikom koji se javlja 3. dana od intervencije (209), a Katooka i sar. su pokazali da PTX3 počinje da raste 15 minuta nakon pPCI, i dostiže pik u 24. satu, a zatim počinje da pada (206). U studiji Salio i sar. na PTX3-deficijentnim miševima pokazano je da je broj infiltriranih neutrofila bio veći kod *ptx*^{-/-} nego kod *ptx*^{+/+} miševa u nereperfuziranom području u odnosu na perfuzirano i da endotelne ćelije brzo podležu apoptozi tokom reperfuzije, pa smanjenje broja kapilara u reperfuzijom obuhvaćenom području kod *ptx*^{-/-} miševa ukazuje na povećanu sklonost ka apoptozi kod PTX3-deficijentnih miševa (41).

U ovoj studiji je nađen statistički značajan porast koncentracije CyPA nakon završetka pPCI (Tabela 29). Huang i sar. su dobili porast koncentracije CyPA kod jedne grupe bolesnika 3 dana nakon STEMI. Ovi autori su takođe utvrdili da je značajno smanjenje koncentracije CyPA mesec dana nakon STEMI udruženo sa poboljšanjem eejkcione frakcije leve komore (79). Poznato je da se tokom AIM u ishemičnom miokardu generišu ROS koje indukuju sekreciju CyPA iz VGMĆ, što može objasniti porast CyPA nakon pPCI u našoj studiji. Smatra se da perzistentno povišene vrednosti CyPA kod bolesnika nakon STEMI ukazuju na stanje povećanog oksidativnog stresa i inflamatorne aktivnosti (80). Osim toga, nakon pPCI koncentracija HB-EGF značajno je porasla u našoj studiji (Tabela 29), što se može pripisati činjenici da je HB-EGF izrazito ushodno regulisan tokom povrede (40). Ovo je u skladu sa rezultatima Zhang i sar. koji su pokazali da balon povreda aktivira ekspresiju HB-EGF u ćelijama medije i neointime pri čemu transkripcioni nivo HB-EGF raste približno 12 puta (105). Povećanje vrednosti CyPA i HB-EGF nakon intervencije može da znači da lokalne povrede krvnih sudova značajno utiču na njihove vrednosti odnosno da ovi parametri reaguju na oštećenje krvnog suda, ali postavlja se pitanje da li je to posledica povrede krvnog suda tokom intervencije ili je povezano sa nekim drugim promenama, na primer sa oksidativnim stresom ili je izazvano promenama ekspresije nekih drugih markera. U ovom radu nije nađena značajna razlika u koncentracijama ispitivanih inflamatornih parametara između muškaraca i žena kod STEMI bolesnika nakon završene intervencije, ali je kod oba pola došlo do značajne promene koncentracija inflamatornih markera nakon pPCI u odnosu na vrednosti pre intervencije – koncentracija PTX3 se smanjila, a CyPA i HB-EGF je porasla (Tabele 8 i 30).

Posmatrali smo i da li se vrednosti ispitivanih parametara razlikuju u odnosu na postojanje okluzije krvnih sudova. Posle podele STEMI bolesnika na osnovu dijagnoze na STEMI-KAB i MINOCA, rezultati su pokazali da su kod MINOCA bolesnika oba pola bila podjednako zastupljena (Tabela 31), što je u skladu sa objavljenim rezultatima (13). Zastupljenost muškaraca i pušača je bila veća kod STEMI-KAB u odnosu na MINOCA bolesnike (Tabela 31), što ide u prilog tome da faktori rizika kao što su muški pol i pušenje dovode do razvoja KAB sa okluzijom krvnih sudova (170). Osim toga, MINOCA bolesnici su imali manji broj okludiranih sudova u odnosu na STEMI-KAB (Tabela 31), što je očekivano prema kriterijumu za postavljanje dijagnoze MINOCA. MINOCA bolesnici imali su i više vrednosti LDH i PTX3 u odnosu na STEMI-KAB (Tabele 31 i 32), što bi moglo da se pripise dužem vremenu koje protekne do postavljanja dijagnoze MINOCA u odnosu na STEMI-KAB. Ovo nije u saglasnosti sa našom prethodnom studijom u kojoj se PTX3 povećavao sa stepenom stenozе ali na grupi bolesnika sa stabilnom koronarnom bolešću (34), dok smo sada analizirali STEMI pacijente gde je akutno stanje uticalo na promenu PTX3 koja nije bila značajna za razlikovanje stepena stenozе kod STEMI bolesnika. Pored toga, MINOCA bolesnici imali su niže vrednosti TnI i SYNTAX skora u odnosu na STEMI-KAB (Tabela 31), što se može tumačiti manjim stepenom nekroze miokarda kod MINOCA bolesnika. Takođe, MINOCA bolesnici imali su niže vrednosti glukoze i više vrednosti ukupnog i LDL-holesterola u odnosu na STEMI-KAB (Tabela 31); razlog za niže vrednosti holesterola

kod STEMI-KAB bolesnika može da bude upotreba hipolipemijskih lekova. Dijagnostički (C statistika) modeli u koji su uključeni TnI sa CyPA kao i TnI sa HB-EGF, pokazali su dobru dijagnostičku sposobnost razlikovanja MINOCA od STEMI-KAB bolesnika (Tabela 33). Kod MINOCA bolesnika se javljaju miokarditis, koronarni spazam i trombofilije (210), pa prema tome MINOCA predstavlja heterogeni entitet sa prevalencom oko 7% (1-13%) od svih bolesnika sa kliničkom dijagnozom AIM, i pogađa trećinu svih žena sa AIM (13,211). Nekroza miokarda u MINOCA sa rupturom plaka može biti posredovana trombozom, tromboembolijom, vazospazmom ili kombinacijom više procesa. Kod bolesnika sa trombozom i/ili tromboembolijom kao uzročnicima MINOCA preporučuje se terapija antitrombocitnim lekovima i statinima. Vazospazam kao moguć uzročnik MINOCA predstavlja hiperreaktivnost VGMC na endogene (vazospastična angina) ili egzogene vazospastične supstance (kokain ili metamfetamini). Kod ovih pacijenta u terapiji se koriste nitrati i blokatori kalcijumskih kanala (13). Ovi podaci ukazuju na značaj pravovremene dijagnoze MINOCA bolesnika, pošto je neophodno terapiju prilagoditi etiologiji, kao i na potrebu za multicentričnim kliničkim studijama koje bi poboljšale dijagnostički i terapijski pristup ovim bolesnicima. Identifikacija uzroka MINOCA je važna jer može imati prognostički značaj i pomoći u proceni odgovora MINOCA bolesnika na specifičnu terapiju.

6. ZAKLJUČCI

- Inzlamatorni biomarkeri PTX3 i HB-EGF viši su kod STEMI bolesnika u odnosu na ispitanike iz kontrolne grupe, dok se koncentracije nisu razlikovale između STEMI i SAP grupe, što je u saglasnosti sa postavljenom hipotezom da su promene ovih parametara posledica hronične srčane bolesti a ne akutnih poremećaja u infarktu miokarda.
- Koncentracije ispitivanih inflamatornih parametara značajno se menjaju posle pPCI kod bolesnika sa opstruktivnom KAB. Vrednosti PTX3 su značajno niže, dok su koncentracije HB-EGF i CyPA znatno više nego pre pPCI.
- Od ispitivanih inflamatornih parametara jedino su koncentracije PTX3 više kod MINOCA bolesnika u odnosu na bolesnike sa opstruktivnom KAB, dok je identifikacija MINOCA bolesnika posredstvom TnI poboljšana njegovim istovremenim određivanjem sa CyPA ili HB-EGF.
- Uočeno je da porast koncentracija PTX3 uslovljava više vrednosti HB-EGF i niže vrednosti CypA što ide u prilog postavljenoj hipotezi da postoji zajednički mehanizam njihove aktivacije. S druge strane, CyPA pokazuje značajnu pozitivnu korelaciju sa sadržajem SH-grupa što je u skladu sa postojećim saznanjima da oksidativni stres inicira njegovu aktivaciju.
- Visoke koncentracije PTX3 (iznad 1,61 µg/L) zastupljene su samo kod STEMI bolesnika, a verovatnoća za pojavu ovih vrednosti veća je ukoliko osoba ima više koncentracije glukoze i disbalans oksidanasa i antioksidanasa koji je detektovan merenjem PAB markera.

7. LITERATURA

1. Assimes TL, Roberts R. Genetics: Implications for prevention and management of coronary artery disease. *JACC* 2016;68(25):2797-2818. doi: 10.1016/j.jacc.2016.10.039
2. Smith SJ, Collins A, Ferrari R, et al. Our Time: A Call to Save Preventable Death From Cardiovascular Disease (Heart Disease and Stroke). *Circ* 2012;126:2769-2775. doi:10.1161/CIR.0b013e318267e99f
3. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet* 2012;380(9859):2095-2128.
4. Nichols M, Townsend N, Scarborough P, Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. *Eur Heart J* 2014;35(42):2950-2959. doi: 10.1093/eurheartj/ehu299
5. Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanovi Batut“. Incidencija i mortalitet od akutnog koronarnog sindroma u Srbiji 2016. Registar za akutni koronarni sindrom u Srbiji, 2017; Izveštaj br. 11
6. Libby P, Ridker PM. Inflammation and Atherothrombosis: From Population Biology and Bench Research to Clinical Practice. *JACC* 2006;48(9A):A33-46. doi: 10.1016/j.jacc.2006.08.0
7. Overbaugh KJ. Acute coronary syndrome. *Am J Nurs* 2009;109(5):42-52. doi: 10.1097/01.NAJ.0000351508.39509.e2
8. Lee DH, Jeon HK, You JH, et al. Pentraxin 3 as a novel marker predicting congestive heart failure in subjects with acute coronary syndrome. *Korean Circ J* 2010;40:370-376. doi:10.4070/kcj.2010.40.8.370
9. Ueda Y, Ogasawara N, Matsuo K, et al. Acute Coronary Syndrome: Insight From Angioscopy. *Circ J* 2010;74:411-417.
10. Amsterdam EA, Wenger NK, Brindis RG, et al. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Non–ST-Elevation Acute Coronary Syndromes: Executive Summary. A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circ* 2014;130:2354-2394. doi: 10.1161/CIR.0000000000000133
11. Linton MRF, Yancey PG, Davies SS, et al. The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis. 2019 Jan 3. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343489/>
12. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al.: the Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology (ESC)/American College of Cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA)/World Heart Federation (WHF) Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Eur Heart J* 2019;40:237-269. doi: 10.1093/eurheartj/ehy462
13. Agewall S, Beltrame JF, Reynolds HR, Niessner A, Rosano G, Caforio AL, De Caterina R, Zimarino M, Roffi M, Kjeldsen K, Atar D, Kaski JC, Sechtem U, Tornvall P; WG on Cardiovascular Pharmacotherapy. ESC working group position paper on myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries. *Eur Heart J* 2017;38:143-153. doi: 10.1093/eurheartj/ehw149
14. Calvieri C, Tanzilli G, Bartimoccia S, et al. Interplay between oxidative stress and platelet activation in coronary thrombus of STEMI patients. *Antioxidants* 2018;7,83. doi:10.3390/antiox7070083
15. DeWood MA, Spores J, Notske R, et al. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *N Engl J Med* 1980;303:897-902.

16. DeWood MA, Stifter WF, Simpson CS, et al. Coronary arteriographic findings soon after non-Q-wave myocardial infarction. *N Engl J Med* 1986;315:417-423.
17. Gehrie ER, Reynolds HR, Chen AY, et al. Characterization and outcomes of women and men with non-ST-segment elevation myocardial infarction and nonobstructive coronary artery disease: results from the Can Rapid Risk Stratification of Unstable Angina Patients Suppress Adverse Outcomes with Early Implementation of the ACC/AHA Guidelines (CRUSADE) quality improvement initiative. *Am Heart J* 2009;158(4):688-694.
18. Kang WY, Jeong MH, Ahn JK, et al. Are patients with angiographically near-normal coronary arteries who present as acute myocardial infarction actually safe? *Int J Card* 2011;146(2):207-212.
19. Larsen AI, Galbraith PD, Ghali WA, et al. Characteristics and outcomes of patients with acute myocardial infarction and angiographically normal coronary arteries. *Am J Card* 2005;95(2):261-263.
20. Pasupathy S, Tavella R, Beltrame JF. The What, When, Who, How and Where of Myocardial Infarction With Non-Obstructive Coronary Arteries (MINOCA). *Circ J* 2016;80:11-16.
21. Dastidar AG, Rodrigues JC, Johnson TW, et al. Myocardial Infarction with nonobstructed coronary arteries: impact of CMR early after presentation. *JACC Cardiovasc Imaging* 2017;10:1204-1206. doi:10.1016/j.jcmg.2016.11.010
22. Pasupathy S, Air T, Dreyer RP, et al. Systematic review of patients presenting with suspected myocardial infarction and nonobstructive coronary arteries. *Circ* 2015;131(10):861-870. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.114.011201
23. Tornvall P, Gerbaud E, Behaghel A, et al. Myocarditis or “true” infarction by cardiac magnetic resonance in patients with a clinical diagnosis of myocardial infarction without obstructive coronary disease: A meta-analysis of individual patient data. *Atheroscl* 2015;241:87-91. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.04.816
24. Pathik B, Raman B, Mohd Amin NH, et al. Troponin-positive chest pain with unobstructed coronary arteries: incremental diagnostic value of cardiovascular magnetic resonance imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2016;17(10):1146-1152.
25. Ibanez B, James S, Agewall S, et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2017;39(2):119-177.
26. Neumann FJ, Sousa-Uva M, Ahlsson A, et al. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J* 2019;40(2):87-165.
27. Levine GN, Bates ER, Blankenship JC, et al. 2015 ACC/AHA/SCAI Focused Update on Primary Percutaneous Coronary Intervention for Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction An Update of the 2011 ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention and the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of ST-Elevation Myocardial Infarction. *J Am Coll Card* 2016;133:1135-1147. doi: 10.1016/j.jacc.2015.10.005
28. Hausenloy DJ. Conditioning the heart to prevent myocardial reperfusion injury during pPCI. *Eur Heart J. Ac Cardiovasc Care* 2012;1(1):13-32. doi:10.1177/2048872612438805
29. Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostikovanje i lečenje ishemijske bolesti srca. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Beograd, 2012
30. Widimsky P, Wijns W, Fajadet J, et al. Reperfusion therapy for ST elevation acute myocardial infarction in Europe: description of the current situation in 30 countries. *Eur Heart J* 2010;31(8):943-957. doi:10.1093/eurheartj/ehp492

31. Widimsky P, Fajadet J, Danchin N, Wijns W. Stent 4 Life” targeting PCI at all who will benefit the most. A joint project between EAPCI, Euro-PCR, EUCOMED and the ESC Working Group on Acute Cardiac Care. *EuroIntervention* 2009;4(5):555-557.
32. Buccheri D, Piraino D, Andolina G, Cortese B. Understanding and managing in-stent restenosis: a review of clinical data, from pathogenesis to treatment. *J Thorac Dis* 2016;8(10):E1150-E1162. doi: 10.21037/jtd.2016.10.93
33. Helseth R, Solheim S, Opstad T, et al. The time profile of pentraxin 3 in patients with acute ST-elevation myocardial infarction and stable angina pectoris undergoing percutaneous coronary intervention. *Med Inflamm* 2014;2014:608414. doi: 10.1155/2014/608414
34. Vuković-Dejanović V, Bogavac-Stanojević N, Spasić S, et al. Association of serum pentraxin-3 and high-sensitivity C-reactive protein with the extent of coronary stenosis in patients undergoing coronary angiography. *J Med Biochem* 2014;33:1-10. doi:10.2478/jomb-2014-0061
35. Benedek T, Maurovich-Horvath P, Ferdinandy P, Merkely B. The use of biomarkers for the early detection of vulnerable patients. A review. *J Cardiovasc Emerg* 2016;2(3):106-113. doi: 10.1515/jce-2016-0017
36. Satoh K, Shimokawa H. High-sensitivity C-reactive protein: still need for next-generation biomarkers for remote future cardiovascular events. *Eur Heart J* 2014;35(27):1776-1778. doi: 10.1093/eurheartj/ehu115
37. Goff DC, Lloyd-Jones DM, Bennett G, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report from the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2014;63(25):2935-2959. doi: 10.1016/j.jacc.2013.11.005
38. Seizer P, Ochmann C, Schönberger T, et al. Disrupting the EMMPRIN (CD147)-cyclophilin A interaction reduces infarct size and preserves systolic function after myocardial ischemia and reperfusion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:1377-1386.
39. Akgul O, Baycan OF, Bulut U, et al. Long-term prognostic value of elevated pentraxin 3 in patients undergoing primary angioplasty for ST-elevation myocardial infarction. *Cor Art Dis* 2015;26(7):592-597.
40. Ushikoshi H, Takahashi T, Chen X, et al. Local overexpression of HB-EGF exacerbates remodelling following myocardial infarction by activating noncardiomyocytes. *Lab Invest* 2005;85:862-873. doi: 10.1038/labinvest.3700282
41. Salio M, Chimenti S, De Angelis N, et al. Cardioprotective function of the long pentraxin PTX3 in acute myocardial infarction. *Circ* 2008;117(8):1055-1064. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.749234
42. Bottazzi B, Doni A, Garlanda C, Mantovani A. An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm. *Annu Rev Immunol* 2010;28:157-183. doi: 10.1146/annurev-immunol-030409-101305
43. Presta M, Camozzi M, Salvatori G, Rusnati M. Role of the soluble pattern recognition receptor PTX3 in vascular biology. *J Cell Mol Med* 2007;11(4):723-738.
44. Agrawal A, Singh PP, Bottazzi B, et al.(2009) Pattern Recognition by Pentraxins. In: Kishore U. (eds) *Target Pattern Recognition in Innate Immunity. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 653. Springer, New York, NY
45. Bastrup-Birk S, Skjoedt MO, Munthe-Fog L, et al. Pentraxin-3 serum levels are associated with disease severity and mortality in patients with systemic inflammatory response syndrome. *PLoS ONE* 2013;8(9):e73119. doi: 10.1371/journal.pone.0073119
46. Haibo L, Xiaofang G, Yao K, et al. Pentraxin-3 predicts long-term cardiac events in patients with chronic heart failure. *Bio Med Res Int* 2015;2015:817615. doi: 10.1155/2015/817615

47. Tomandlova M, Jarkovsky J, Tomandl J, et al. Prognostic value of pentraxin-3 level in patients with STEMI and its relationship with heart failure and markers of oxidative stress. *Disease Markers* 2015;2015:159051. doi: 10.1155/2015/159051
48. Miyazaki T, Chiuve S, Sacks FM, et al. Plasma pentraxin 3 levels do not predict coronary events but reflect metabolic disorders in patients with coronary artery disease in the CARE trial. *PLoS ONE* 2014;9(4):e94073. doi: 10.1371/journal.pone.0094073
49. Altay S, Çakmak HA, Kemalöglü Öz T, et al. Long-term prognostic significance of pentraxin-3 in patients with acute myocardial infarction: 5-year prospective cohort study. *Anatol J Cardiol* 2017;17(3):202-209. doi: 10.14744/AnatolJCardiol.2016.7307
50. Shiraki A, Kotooka N, Komoda H, et al. Pentraxin-3 regulates the inflammatory activity of macrophages. *Biochem Biophys Rep* 2016;5:290-295. doi: 10.1016/j.bbrep.2016.01.009
51. Camozzi M, Zacchigna S, Rusnati M, et al. Pentraxin 3 inhibits fibroblast growth factor 2-dependent activation of smooth muscle cells in vitro and neointima formation in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(9):1837-1842.
52. Fornai F, Carrizzo A, Forte M, et al. The inflammatory protein pentraxin 3 in cardiovascular disease. *Immun Ageing* 2016;13:25. doi: 10.1186/s12979-016-0080-1
53. Maugeri N, Rovere-Querini P, Slavich M, et al. Early and transient release of leukocyte pentraxin 3 during acute myocardial infarction. *J Immunol* 2011;187(2):970-979. doi: 10.4049/jimmunol.1100261
54. Jenny NS, Arnold AM, Kuller LH, et al. Associations of pentraxin 3 with cardiovascular disease and all-cause death: the Cardiovascular Health Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:594–599. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.178947
55. Liu H, Guan S, Fang W, et al. Associations between pentraxin 3 and severity of coronary artery disease. *BMJ Open* 2015;5(4):e007123. doi: 10.1136/bmjopen-2014-007123
56. Matsui S, Ishii J, Kitagawa F, et al. Pentraxin 3 in unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. *Atheroscler* 2010;210(1):220-225. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.10.033
57. Üstündağ M, Orak M, Güloğlu C, et al. Comparative diagnostic accuracy of serum levels of neutrophil activating peptide-2 and pentraxin-3 versus troponin-I in acute coronary syndrome. *Anatol J Cardiol* 2011;11(7):588-594.
58. Kunes P, Holubcova Z, Kolackova M, Krejsek J. Pentraxin 3 (PTX 3): an endogenous modulator of the inflammatory response. *Mediators of inflammation* 2012;2012:920517. doi: 10.1155/2012/920517
59. Napoleone E, Di Santo A, Bastone A, et al. Long Pentraxin PTX3 Upregulates Tissue Factor Expression in Human Endothelial Cells A Novel Link Between Vascular Inflammation and Clotting Activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:782-787.
60. Kimura S, Inagaki H, Haraguchi G, et al. Relationships of elevated systemic pentraxin-3 levels with high-risk coronary plaque components and impaired myocardial perfusion after percutaneous coronary intervention in patients with ST-elevation acute myocardial infarction. *Circ J* 2013;CJ-13.
61. Alipour-Parsa S, Haybar H, Namazi MH, et al. Evaluation of pentraxin-3 level and its related factors in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention. *ARYA Atheroscler* 2017;13(2):73-78.
62. Satoh K, Shimokawa H. (2015) Cyclophilin A: Novel Biomarker for Oxidative Stress and Cardiovascular Diseases. In: Preedy V, Patel V. (eds) *General Methods in Biomarker Research and their Applications. Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications.* Springer, Dordrecht

63. Berk BC. Atheroprotective signaling mechanisms activated by steady laminar flow in endothelial cells. *Circ* 2008;117:1082-1089.
64. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352:1685-1695.
65. Dzau VJ, Antman EM, Black HR, et al. The cardiovascular disease continuum validated: Clinical evidence of improved patient outcomes. Part I: Pathophysiology and clinical trial evidence (risk factors through stable coronary artery disease). *Circ* 2006;114:2850-2870.
66. Satoh K. Cyclophilin A in Cardiovascular Homeostasis and Diseases. *Tohoku J Exp Med* 2015;235:1-15.
67. Jin ZG, Melaragno MG, Liao DF, et al. Cyclophilin A is a secreted growth factor induced by oxidative stress. *Circ Res* 2000;87:789-796.
68. Liao DF, Jin ZG, Baas AS, et al. Purification and identification of secreted oxidative stress-induced factors from vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 2000;275:189-196.
69. Jin ZG, Lungu AO, Xie L, et al. Cyclophilin A is a proinflammatory cytokine that activates endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1186-1191.
70. Suzuki J, Jin ZG, Meoli DF, et al. Cyclophilin A is secreted by a vesicular pathway in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 2006;98:811-817.
71. Satoh K, Matoba T, Suzuki J, et al. Cyclophilin A mediates vascular remodeling by promoting inflammation and vascular smooth muscle cell proliferation. *Circulation* 2008;117:3088-3098.
72. Camilloni C, Sahakyan A, Holliday M, et al. Cyclophilin A catalyzes proline isomerization by an electrostatic handle mechanism. *PNAS* 2014;111(28):10203-10208.
doi:10.1073/pnas.1404220111
73. Handschumacher RE, Harding MW, Rice J, et al. Cyclophilin: a specific cytosolic binding protein for cyclosporin A. *Science* 1984;226:544-547.
74. Nigro P, Pompilio G, Campogrossi MC. Cyclophilin A: a key player for human disease. *Cell Death Dis* 2013;4:e888. doi: 10.1038/cddis.2013.410
75. Seizer P, Gawaz M, May A. Cyclophilin A and EMMPRIN (CD147) in cardiovascular diseases. *Cardiovasc Res* 2014;102:17-23.
76. Colgan J, Asmal M, Yu B, Luban J. Cyclophilin A-deficient mice are resistant to immunosuppression by cyclosporine. *J Immunol* 2005;174(10):6030-6038.
77. Sun S, Guo M, Zhang JB, et al. Cyclophilin A (CypA) Interacts with NF- κ B Subunit, p65/RelA, and Contributes to NF- κ B Activation Signaling. *PloS ONE* 2014;9(8):e96211.
doi:10.1371/journal.pone.0096211
78. Satoh K, Fukumoto Y, Sugimura K, et al. Plasma cyclophilin A is a novel biomarker for coronary artery disease. *Circ J* 2013;77:447-455.
79. Huang CH, Chang CC, Kuo CL, et al. Decrease in plasma cyclophilin A concentration at 1 month after myocardial infarction predicts better left ventricular performance and synchronicity at 6 months: a pilot study in patients with ST elevation myocardial infarction. *Int J Biol Sci* 2015;11:38-47. doi: 10.7150/ijbs.10271
80. Satoh K, Nigro P, Berk BC. Oxidative stress and vascular smooth muscle cell growth: a mechanistic linkage by cyclophilin A. *Antiox Redox Sign* 2010;12:675-682.
81. Satoh K, Nigro P, Zeidan A, et al. Cyclophilin A promotes cardiac hypertrophy in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31:1116-1123.
82. Hattori F. Extracellular cyclophilin A as a humoral factor modulating cardiovascular inflammatory responses. *J Mol Cell Cardiol* 2012;53:1-2.
83. Yan J, Zang X, Chen R, et al. The clinical implications of increased cyclophilin A levels in patients with acute coronary syndromes. *Clin Chim Acta* 2012;413:691-695.
doi: 10.1016/j.cca.2011.12.009

84. Nigro P, Satoh K, O'Dell M, et al. Cyclophilin A is an inflammatory mediator that promotes atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *J Exp Med* 2010;208:53-66.
doi: 10.1084/jem.20101174
85. Elvers M, Herrmann A, Seizer P, et al. Intracellular cyclophilin A is an important Ca²⁺ regulator in platelets and critically involved in arterial thrombus formation. *Blood* 2012;120(6):1317-1326.
86. Perrucci G, Gowran A, Zanobini M, et al. Peptidyl-prolyl isomerases: A full cast of critical actors in cardiovascular diseases. *Cardiovasc Res* 2015;106(3):353-364.doi:10.1093/cvr/cvv096
87. Chen CY, Lee BC, Hsu HC, et al. A proteomic study of the effects of ramipril on post-infarction left ventricular remodelling in the rabbit. *Eur J Heart Fail* 2008;10:740-748.
88. Hori M, Nishida K. Oxidative stress and left ventricular remodelling after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2009;81:457-464.
89. Yarbrough WM, Mukherjee R, Escobar GP, et al. Selective targeting and timing of matrix metalloproteinase inhibition in post-myocardial infarction remodeling. *Circ* 2003;108:1753-1759.
90. Heymans S, Lutun A, Nuyens D, et al. Inhibition of plasminogen activators or matrix metalloproteinases prevents cardiac rupture but impairs therapeutic angiogenesis and causes cardiac failure. *Nat Med* 1999;5:1135-1142.
91. Matsumura S, Iwanaga S, Mochizuki S, et al. Targeted deletion or pharmacological inhibition of MMP-2 prevents cardiac rupture after myocardial infarction in mice. *J Clin Invest* 2005;115:599-609.
92. Hayashidani S, Tsutsui H, Ikeuchi M, et al. Targeted deletion of MMP-2 attenuates early LV rupture and late remodeling after experimental myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H19-35.
93. Cogni AL, Farah E, Minicucci MF. *et al.* Metalloproteinases-2 and -9 predict left ventricular remodeling after myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol* 2013;100:315-321.
94. Arora K, Gwinn WM, Bower MA. et al. Extracellular cyclophilins contribute to the regulation of inflammatory responses. *J Immunol* 2005;175:517-522.
95. Yurchenko V, Constant S, Bukrinsky M. Dealing with the family: CD147 interactions with cyclophilins. *Immunology* 2006;117:301-309.
96. Seizer P, Schönberger T, Schött M. *et al.* EMMPRIN and its ligand cyclophilin A regulate MT1-MMP, MMP-9 and M-CSF during foam cell formation. *Atheroscl* 2010;209:51-57.
97. Rattik S, Wigren M, Björkbacka H, et al. High plasma levels of heparin-binding epidermal growth factor are associated with a more stable plaque phenotype and reduced incidence of coronary events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015;35:222-228.
doi: 10.1161/ATVBAHA.114.304369
98. Mehta V, Zhou Y, Radulesen A, Besner G. HB-EGF stimulates eNOS expression and nitric oxide production and promotes eNOS dependent angiogenesis. *Growth Factors* 2008;26(6):301-315. doi:10.1080/08977190802393596
99. Iwamoto R, Mine N, Kawaguchi T, et al. HB-EGF function in cardiac valve development requires interaction with heparan sulfate proteoglycans. *Development* 2010;137:2205-2214. doi: 10.1242/dev.048926
100. Kinugasa Y, Hieda M, Hori M, Higashiyama S. The carboxyl-terminal fragment of pro-HB-EGF reverses Bcl6-mediated gene repression. *J Biol Chem* 2007;282(20):14797-14806.
doi:10.1074/jbc.M611036200
101. Makki N, Thiel K, Miller F. The epidermal growth factor receptor and its ligands in cardiovascular disease. In *J Mol Sci* 2013;14(10):20597-20613.

102. Umata T. Involvement of reactive oxygen species in stimuli-induced shedding of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor. *J UOEH* 2014;36(2):105-114.
103. Zhang H, Sunnarborg S, McNaughton K, et al. Heparin-binding EGF-like growth factor signaling in flow-induced arterial remodeling. *Circ Res* 2008;102(10):1275-1285. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.171728
104. Saftig P, Reiss K. The "A Disintegrin And Metalloproteases" ADAM10 and ADAM17: novel drug targets with therapeutic potential? *Eur J Cell Biol* 2011;90(6-7):527-535. doi: 10.1016/j.ejcb.2010.11.005
105. Kuhn MA, Xia G, Mehta VB, et al. Heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) decreases oxygen free radical production in vitro and in vivo. *Antiox Redox Sign* 2002;4(4):639-646.
106. Lee KS, Park JH, Lee S, et al. HB-EGF induces delayed STAT3 activation via NF- κ B mediated IL-6 secretion in vascular smooth muscle cell. *Biochim Biophys Acta* 2007;1773:1637-1644. doi: 10.1016/j.bbamcr.2007.07.001
107. Sanchez-Vizcaino E, Vehi C, Camprecios G, et al. Heparin-binding EGF-like growth factor in human serum. Association with high blood cholesterol and heart hypertrophy. *Growth Factors* 2010;28(2):98-103. doi: 10.3109/08977190903443030
108. Jin K, Sun Y, Xie L, et al. Post-ischemic Administration of Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-like Growth Factor (HB-EGF) Reduces Infarct Size and Modifies Neurogenesis after Focal Cerebral Ischemia in the Rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004;24:399-408. doi:10.1097/01.WCB.0000110763.10146.EE
109. LoPresti R, Catania A, D'Amico T, et al. Oxidative stress in young subjects with acute myocardial infarction: Evaluation at the initial stage and after 12 months. *Clin Appl Thromb Hemost* 2008;14(4):421-427.
110. Chalothorn D, Moore S, Zhang H, et al. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor, collateral vessel development, and angiogenesis in skeletal muscle ischemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1884-1890. doi: 10.1161/01.ATV.0000175761.59602.16.
111. Lian H, Ma Y, Feng J, et al. Heparin-Binding EGF-Like Growth Factor Induces Heart Interstitial Fibrosis via an Akt/mTor/p70s6k Pathway. *PLoS ONE* 2012;7(9):e44946. doi: 10.1371/journal.pone.0044946
112. Kim S, Yang L, Kim S. Targeting hepatic heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) induces anti-hyperlipidemia leading to reduction of angiotensin II-induced aneurysm development. *PLoS ONE* 2017;12(8):e0182566. doi: 10.1371/journal.pone.0182566
113. Nakata A, Miyagawa J, Yamashita S, et al. Localization of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in human coronary arteries. Possible roles of HB-EGF in the formation of coronary atherosclerosis. *Circ* 1996;94(11):2778-2786.
114. Lee S, Lee R, Graham M, et al. Heparin Binding EGF-Like Growth Factor (HB-EGF) is a Novel Regulator for Hyperlipidemia. *Circ* 2018;134:A19809.
115. Igura T, Kawata S, Miyagawa J, et al. Expression of Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-Like Growth Factor in Neointimal Cells Induced by Balloon Injury in Rat Carotid Arteries. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1996;16:1524-1531. doi:10.1161/01.ATV.16.12.1524
116. Matsumoto S, Kishida K, Shimomura I, et al. Increased plasma HB-EGF associated with obesity and coronary artery disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;292(3):781-786.
117. Berk B, Fujiwara K, Lehoux S. ECM remodeling in hypertensive heart disease. *J Clin Invest* 2007;117:568-575.
118. Miyata K, Yotsumoto F, Ouk Nam S, et al. Contribution of transcription factor, SP1, to the promotion of HB-EGF expression in defense mechanism against the treatment of irinotecan in ovarian clear cell carcinoma. *Canc Med* 2014;3(5):1159-1169.

119. Miyagawa J, Higashiyama S, Kawata S, et al. Localization of heparin-binding EGF-like growth factor in the smooth muscle cells and macrophages of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1995;95(1):404-411.
120. Sanchez A, Calpena AC, Clares B. Evaluating the oxidative stress in inflammation: role of melatonin. *Int J Mol Sci* 2015;16(8):16981-17004.
121. Mantovani A, Garlanda C, Doni A, Botazzi B. Pentraxins in Innate Immunity: From C-Reactive Protein to the Long Pentraxin PTX3. *J Clin Immunol* 2008;28(1). doi:10.1007/s10875-007-9126-7
122. Yuan W, Ge H, He B. Pro-inflammatory activities induced by CyPA-EMMPRIN interaction in monocytes. *Atheroscl* 2010;213(2):415-421.
123. Kregel KC, Zhang HJ. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007;292(1):R18-36. doi:10.1152/ajpregu.00327.2006
124. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004;37:112-119.
125. Börekçi A, Gür M, Türkoğlu C, et al. Oxidative Stress and Spontaneous Reperfusion of Infarct-Related Artery in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Clin Appl Thromb Hemost* 2016;22(2):171-177. doi: 10.1177/1076029614546329
126. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005;38:1103-1111.
127. Guerin P, Bigot E, Patrice T. Evidence for antioxidants consumption in the coronary blood of patients with an acute myocardial infarction . *J Thromb Thrombolysis* 2013;35:41-47.
128. van Deel ED, Lu Z, Xu X, et al. Extracellular SOD protects the heart against oxidative stress and hypertrophy after myocardial infarction. *Free Radic Biol Med* 2008;44(7):1305-1313. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.12.007
129. Tanriverdi F, Kavakh H, Celik G, et al. Evaluation of serum thiol levels in patients with non ST elevation acute coronary syndrome. *J Exp Clin Med* 2013;30:295-299.
130. Kundi H, Erel Ö, Balun A, et al. Association of Thiol/Disulphide Ratio with Syntax score in Patients with NSTEMI. *Scand Cardiovasc J* 2015. doi: 10.3109/14017431.2015.1013153
131. Alamdari D, Ghayour-Mobarhan M, Tavallaie S, et al. Prooxidant-antioxidant balance as a new risk factor in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Clin Biochem* 2008;41:375-380.
132. Parizadeh S, Azarpazhooh M, Moohebbati M, et al. Simvastatin therapy reduces prooxidant-antioxidant balance: results of a placebo-controlled cross-over trial. *Lipids* 2011;46:333-340.
133. Liu SX, Hou FF, Guo ZJ, et al. Advanced Oxidation Protein Products Accelerate Atherosclerosis Through Promoting Oxidative Stress and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1156-1162.
134. Hulsmans M, Holvoet P. The vicious circle between oxidative stress and inflammation in atherosclerosis. *J Cell Mol Med* 2010;14:70-78.
135. Kornfeld O, Hwang S, Disatnik MH, et al. Mitochondrial reactive oxygen species at the heart of the matter: new therapeutic approaches for cardiovascular diseases. *Circ Res* 2015;116:1783-1799.
136. Pinho-Ribeiro F, Hohmann M, Borghi S, et al. Protective effects of the flavonoid hesperidin methyl chalcone in inflammation and pain in mice: role of TRPV1, oxidative stress, cytokines and NF-κB. *Chem Biol Interact* 2015;228:88-99.
137. Coletta A, Clark A, Banarjee P, Cleland J. Clinical trials update: RENEWAL (RENAISSANCE and RECOVER) and ATTACH. *Eur J Heart Fail* 2002;4:559-561. doi:10.1016/S1388-9842(02)00121-6

138. Feinstein MJ, Jhund P, Kang J, et al. Do statins reduce the risk of myocardial infarction in patients with heart failure? A pooled individual-level reanalysis of CORONA and GISSI-HF. *Eur J Heart Fail* 2015;17(4):434-441.
139. Rolph MS, Zimmer S, Bottazzi B, et al. Production of the long pentraxin PTX3 in advanced atherosclerotic plaques. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2002;22(5):e10-e14.
140. Karakas MF, Buyukkaya E, Kurt M, Motor S, et al. Serum Pentraxin 3 Levels Are Associated With the Complexity and Severity of Coronary Artery Disease in Patients With Stable Angina Pectoris. *J Invest Med* 2013;61:278-285. doi:10.2310/JIM.0b013e31827c2971
141. Algina J, Olejnik S. Conducting power analyses for ANOVA and ANCOVA in between-subjects designs. *Evaluation & the Health Professions* 2003;26(3):288-314.
142. Kappetein AP, Head SJ, Morice MC, et al. Treatment of complex coronary artery disease in patients with diabetes: 5-year results comparing outcomes of bypass surgery and percutaneous coronary intervention in the SYNTAX trial. *Eur J Cardiothorac Surg* 2013;43(5):1006-1013. doi: 10.1093/ejcts/ezt017
143. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: The Sixth Joint task Force of the European Society of Cardiology and Other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J* 2016;37(29):2315-2381.
144. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* 2013; 310(20):2191-2194.
145. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
146. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol chem* 1972;247:3170-3175.
147. Ellman GL. Tissue sulphidryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959;82:70-77.
148. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int* 1996;49:1304-1313.
149. Alamdari DH, Paletas K, et al. Novel assay for the evaluation of prooxidant-antioxidant balance, before and after antioxidant vitamin administration in type II diabetes patients. *Clin Biochem* 2007;40:248-254.
150. Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary: Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice. *Eur Heart J* 2007;28(19):2375-2414. doi:10.1093/eurheartj/ehm316
151. Solberg HE. The IFCC recommendattion on estimationon reference intervals. The RefVal Program. *Clin Chem Lab Med* 2004;42(7):710-714.
152. Swets JA. Measuring the accuracy of diagnostic systems. *Science* 1988;240:1285.
153. Youden WJ. Index for rating diagnostic tests. *Cancer* 1950;3:32-35.
154. Peri G, Introna M, Corradi D, et al. PTX3, a prototypical long pentraxin, is an early indicator of acute myocardial infarction in humans. *Circ* 2000;102:636-641. doi:10.1371/journal.pone.003147
155. Soeki T, Niki T, Kusunose K, et al. Elevated concentrations of pentraxin 3 are associated with coronary plaque vulnerability. *J Cardiol* 2011;58:151-157.
156. Hudzik B, Danikiewicz A, Szkodzinski J, et al. Pentraxin-3 concentrations in stable coronary artery disease depend on the clinical presentation. *Eur Cytokine Netw* 2014;25(3):41-45. doi: 10.1684/ecn.2014.0354

157. Takashi Y, Koga M, Matsuzawa Y, et al. Circulating pentraxin 3 is positively associated with chronic hyperglycemia but negatively associated with plasma aldosterone concentration. *PLoS ONE* 2018;13(5):e0196526. doi:10.1371/journal.pone.0196526
158. Garlanda C, Maina V, Cotena A, Moalli F. The soluble pattern recognition receptor pentraxin-3 in innate immunity, inflammation and fertility. *J Rep Immunol* 2009;83:128-133. doi:10.1016/j.jri.2009.05.006
159. Lidani KC, Beltrame MH, Luz PR, et al. Is pentraxin 3 a cardiovascular marker in patients with chronic Chagas disease? *Int J Card* 2015;190:233-235.
160. Zanetti M, Bosutti A, Ferreira C, et al. Circulating pentraxin 3 levels are higher in metabolic syndrome with subclinical atherosclerosis: Evidence for association with atherogenic lipid profile. *Clin Exp Med* 2009;9:243-248.
161. Bonacina F, Barbieri SS, Cutuli L, et al. Vascular pentraxin 3 controls arterial thrombosis by targeting collagen and fibrinogen induced platelets aggregation. *Biochim Biophys Acta* 2016;1862:1182-1190.
162. Qiu L, Xu R, Wang S, et al. Honokiol ameliorates endothelial dysfunction through suppression of PTX3 expression, a key mediator of IKK/I κ B/NF- κ B, in atherosclerotic cell model. *Exp Mol Med* 2015;47:e171. doi:10.1038/emm.2015.37
163. Tanaka N, Masamura K, Yoshida M, et al. A role of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in cardiac remodelling after myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Comm* 2002;297(2):375-381.
164. EL-Assal O, Besner G. HB-EGF enhances restitution after intestinal ischemia/reperfusion via PI3K/Akt and MEK/ERK1/2 activation. *Gastroenterology* 2005;129:609-625. doi:10.1016/j.gastro.2005.05.054
165. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2017;114(12):1752-1761.
166. Parepa IR, Stoian AP, Radulescu AM, et al. Involvement of Adiponectin in Early Phase of Acute Myocardial Infarction with ST-Segment Elevation (STEMI). *Rev Chim* 2019;70(2):522-526.
167. Nijmeijer R, Lagrand WK, Lubbers YT, et al. C-reactive protein activates complement in infarcted human myocardium. *Am J Path* 2003;163(1):269-275.
168. Badimon L, Peña E, Arderiu G, et al. C-reactive protein in atherothrombosis and angiogenesis. *Front Immunol* 2018;9:430.
169. Ridker PM, MacFadyen JG, Everett BM, et al. Relationship of C-reactive protein reduction to cardiovascular event reduction following treatment with canakinumab: a secondary analysis from the CANTOS randomized controlled trial. *Lancet* 2018;391(10118):319-328.
170. Amar J, Chamontin B. Cardiovascular risk factors, atherosclerosis and pulse pressure. In: *Atherosclerosis, Large Arteries and Cardiovascular Risk* (2007, Vol. 44, pp. 212-222) Karger Publishers
171. El-Menyar A, Zubaid M, Shebab A, et al. Prevalence and impact of cardiovascular risk factors among patients presenting with acute coronary syndrome in the middle east. *Clin Cardiol* 2011;34(1):51-58. doi: 10.1002/clc.20873
172. Feistritzer HJ, Reinstadler SJ, Klug G, et al. Multimarker approach for the prediction of microvascular obstruction after acute ST-segment elevation myocardial infarction: a prospective, observational study. *BMC Cardiovasc Disord* 2016;16:239.
173. Duran M, Kalay N, Akpek M, et al. High levels of serum uric acid predict severity of coronary artery disease in patients with acute coronary syndrome. *Angiology* 2012; 63(6):448-452. doi: 10.1177/0003319711426868

174. Heybar H, Assareh A, Jalali S. Investigating the relationship between serum pentraxin3 level and angiographic findings in patients with coronary angiography. *Asian J Pharm Clin Res* 2018;11(3):424-428. doi: 10.22159/ajpcr.2018.v11i3.23011
175. Kotur-Stevuljevic J, Bogavac-Stanojevic N, Jelic-Ivanovic Z, et al. Oxidative stress and paraoxonase 1 status in acute ischemic stroke patients. *Atheroscl* 2015;241:192-198.
176. Surekha R, Srikanth B, Jharna P, et al. Oxidative stress and total antioxidant status in myocardial infarction. *Singapore Med J* 2007;48(2):137.
177. Yao D, Vlessidis AG, Evmiridis NP, et al. Possible mechanism for nitric oxide and oxidative stress induced pathophysiological variance in acute myocardial infarction development. A study by a flow injection-chemiluminescence method. *Anal Chim Acta* 2004;505:115-123.
178. Lavall MC, Bonfanti G, et al. Oxidative profile of patients with ST Segment Elevation Myocardial Infarction. *Clin Lab* 2016;62(5):971-973.
179. Dulce Bagatini M, Curry Martins C, Battisti V. et al. Oxidative stress versus antioxidant defenses in patients with acute myocardial infarction. *Heart Vessels* 2011;26:55-63. doi:10.1007/s00380-010-0029-9
180. Obal D, Dai S, Keith R, et al. Cardiomyocyte-restricted overexpression of extracellular superoxide dismutase increases nitric oxide bioavailability and reduces infarct size after ischemia/reperfusion. *Basic research in cardiology* 2012;107(6):305.
181. Ghayour-Mobarhan M, Alamdari D, Moohebati M, et al. Determination of Prooxidant–Antioxidant Balance After Acute Coronary Syndrome Using a Rapid Assay: A Pilot Study. *Angiology* 2009;60(6):657-662. doi:10.1177/0003319709333868
182. Vukicevic P, Mikic A, Kotur-Stevuljevic J, et al. Oxidative stress and platelet activation during on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting in patients with double grafted vessels. *Biotech&Biotech Equip* 2016;30(6):1132-1141.
183. Sitar ME, Aydin S, Çataky U. Human Serum Albumin and Its Relation with Oxidative Stress. *Clin Lab* 2013;59(9-10):945-952. doi: 10.7754/Clin.Lab.2012.121115
184. Ibanez B, James S, Agewall S, et al. The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2017;00:1-8. doi:10.1093/eurheartj/ehx393
185. Yamasaki K, Kurimura M, Kasai T, et al. Determination of physiological plasma pentraxin 3 (PTX3) levels in healthy populations. *Clin Chem Lab Med* 2009;47(4):471-477. doi: 10.1515/CCLM.2009.110
186. Kjaer IM, Olsen DA, Alnor A, et al. EGFR and EGFR ligands in serum in healthy women; reference intervals and age dependency. *Clin Chem Lab Med* 2019; 57(12):1948-1955. doi: 10.1515/cclm-2019-0376
187. Ramachandran S, Venugopal A, Kutty VR, et al. Plasma level of cyclophilin A is increased in patients with type 2 diabetes mellitus and suggests presence of vascular disease. *Cardiovasc Diabetol* 2014;13:38.
188. Knoflach M, Kiechl S, Mantovani A, et al. Pentraxin as a marker of advanced atherosclerosis. Results from Bruneck, ARMY and ARFY studies. *PLoS ONE* 2012;7(2):e31474. doi:10.1371/journal.pone.0031474
189. Ogawa T, Kawano Y, Imamura T, et al. Reciprocal contribution of pentraxin 3 and C-reactive protein to obesity and metabolic syndrome. *Obesity* 2010;18:1871-1874. doi: 10.1038/oby.2009.507

190. Lee R, Ahn HR, Shin MH, et al. Association of Plasma Pentraxin-3 Level with Lipid Levels and Cardiovascular Risk Factors in People with No History of Lipid-Lowering Medication: the Dong-gu Study. *J Atheroscler Thromb*. 2019;26(8):738-745. doi:10.5551/jat.4716
191. Babaei M, Dashti N, Lamei N, et al. Evaluation of plasma concentrations of homocysteine, IL-6, TNF-alpha, hs-CRP, and total antioxidant capacity in patients with end-stage renal failure. *Acta Medica Iranica* 2014;893-898.
192. Kumar A, Takada Y, Borick A, Aggarwal B. Nuclear factor- κ B: its role in health and disease. *J Mol Med* 2004;82:434-448. doi: 10.1007/s00109-004-0555-y
193. Namazi MH, Saadat H, Safi M, et al. Pentraxin 3 Is Highly Specific for Predicting Anatomical Complexity of Coronary Artery Stenosis as Determined by the Synergy between Percutaneous Coronary Intervention with Taxus and Cardiac Surgery Score. *Kor Circ J* 2014;44:2250-2266. doi:10.4070/kcj.2014.44.4.220
194. Schickling B, Takapoo M, Khera R et al. Circulating EGF-Like Ligands in Obesity Increase Neointimal Formation through Upregulation of NADPH Oxidase 1. *Free Radical Biology and Medicine* 2016;100:S151. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.10.397
195. Memon L, Spasojević-Kalimanovska V, Bogavac-Stanojević N, et al. Association of C-reactive protein with the presence and extent of angiographically verified coronary artery disease. *Tohoku J Exp Med* 2006;209:197-206.
196. Arthurs ZM, Andersen C, Starnes BW. A prospective evaluation of C-reactive protein in the progression of carotid artery stenosis. *J Vasc Surg* 2008;47:744-751.
197. Garg R, Aggarwal S, Kumar R, Sharma G. Association of atherosclerosis with dyslipidemia and co-morbid conditions: A descriptive study. *J Nat Sci Biol Med*. 2015;6(1):163-168. doi: 10.4103/0976-9668.149117
198. Dubin R, Li Y, Ix JH, et al. Associations of pentraxin-3 with cardiovascular events, incident heart failure, and mortality among persons with coronary heart disease: Data from the Heart and Soul Study. *Am Heart J* 2012;163(2):274-279. doi: 10.1016/j.ahj.2011.11.00
199. Brügger-Andersen T, Pönitz V, Kontny F, et al. The long pentraxin 3 (PTX3): a novel prognostic inflammatory marker for mortality in acute chest pain. *Thromb Haemost* 2009;102(03):555-563. doi: 10.1160/TH09-02-0137
200. Kimura S, Nakamura S, Nakagama S, et al. The impact of systemic pentraxin-3 values on coronary plaque components by optical coherence tomography and outcomes in patients with stable angina pectoris. *Eur Heart J* 2017;38(1).P2367. doi: 10.1093/eurheartj/ehx502
201. Shanmugam N, Reddy MA, Guha M, Natarajan R. High glucose-induced expression of proinflammatory cytokine and chemokine genes in monocytic cells. *Diabetes* 2003;52:1256-1264.
202. Violi F, Pastori D. Pentraxin 3 - A Link Between Obesity, Inflammation and Vascular Disease? *Circ J* 2016;80(2):327-328. doi: 10.1253/circj.CJ-15-1303
203. Jenny NS, Blumenthal RS, Kronmal RA, et al. Associations of pentraxin 3 with cardiovascular disease: the Multiethnic Study of Atherosclerosis. *J Thromb Haem* 2014;12(6):999-1005.
204. Ekeløf S, Jensen SE, Rosenberg J, Gögenur I. Reduced oxidative stress in STEMI patients treated by primary percutaneous coronary intervention and with antioxidant therapy: a systematic review. *Cardiovasc Drugs Ther* 2014;28(2):173-181. doi: 10.1007/s10557-014-6511-3
205. Vargova K, Toth-Zsomboki E, Beres BJ, et al. Circulating endothelial cell count, plasma vWF and soluble ICAM-1 levels following primary or elective percutaneous intervention. *Atheroscl* 2008; 198(2):366-372. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.09.005
206. Kotooka N, Inoue T, Fujimatsu D, et al. Pentraxin3 is a novel marker for stent-induced inflammation and neointimal thickening. *Atheroscl* 2008;197(1):368-374.

207. Solheim S, Helseth R, Hoffmann P, et al. The profile of circulating pentraxin 3 after PCI in patients with acute myocardial infarction or angina pectoris. *Eur Heart J* 2013;34(1):p5564. doi:10.1093/eurheartj/eh310.P5564
208. Liu SH, Huo YE, Jia XW, Li Y. Effects of ischemic postconditioning on expressions of pentraxin-related protein 3 and neutrophil CD11b in the plasma of patients with acute myocardial infarction after percutaneous coronary intervention. *Pak J Med Sci* 2016;32(2):427-430. doi: 10.12669/pjms.322.9457
209. Munk P, Breland U, Aukrust P, et al. Inflammatory response to percutaneous coronary intervention in stable coronary artery disease. *J Thromb* 2011;31:92-98.
210. Tamis-Holland JE, Jneid H. Myocardial Infarction With Nonobstructive Coronary Arteries (MINOCA): It's Time to Face Reality! *J Am Heart Assoc* 2018;7(13):e009635. doi: 10.1161/JAHA.118.009635
211. Agewall S, Daniel M, Eurenus L, et al. Risk factors for myocardial infarction with normal coronary arteries and myocarditis compared with myocardial infarction with coronary stenosis. *Angiol* 2012;63(7):500-503. doi: 10.1177/0003319711429560

Biografija autora

Vesna Vuković-Dejanović je rođena 26. oktobra 1973. godine u Beogradu, Srbija. Na Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu upisala se školske 1992/1993 godine, a diplomirala je na smeru diplomirani farmaceut-medicinski biohemičar septembra 1997. godine, sa prosečnom ocenom 9,59.

Jednogodišnji pripravnički staž obavila je u biohemijskoj laboratoriji Instituta za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Kliničkog centra Srbije, a stručni ispit je položila 1998. godine. Bila je zaposlena kao asistent pripravnik u Zavodu za bromatologiju Farmaceutskog fakulteta do maja 2000. godine, kada se zaposlila u Institutu za medicinsku biohemiju Vojnomedicinske akademije, gde je radila do 2008. godine. Od novembra 2008. godine zaposlena je u Institutu za rehabilitaciju u Beogradu na mestu šefa laboratorije.

Poslediplomske magistarske studije na predmetu Medicinska biohemija, Vesna Vuković-Dejanović je upisala školske 1997/1998 godine na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu, a magistarsku tezu pod nazivom „Značaj određivanja pentraksina-3 kod pacijenata sa angiografski dokazanom koronarnom bolešću” odbranila je 2014. godine. Na doktorske akademske studije iz oblasti Medicinske biohemije upisala se 2014. godine.

Specijalističke studije iz oblasti Medicinske biohemije je upisala školske 2000/2001 godine na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu, a specijalistički ispit je položila 2003. godine sa odličnom ocenom. Subspecijalističke studije iz Kliničke enzimologije na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu upisala je 2016. godine. Od 2017. godine nosi zvanje primarijus.

Ima 14 naučnih radova objavljenih u celosti od kojih je jedan sa M21 liste, četiri su sa M22, a tri rada su sa M23 liste; u 8 radova je prvi autor. Na naučnim skupovima u zemlji i inostranstvu imala je 8 saopštenja.

Publikovani radovi koji čine sastavni deo doktorske teze

1. **Vuković-Dejanović V**, Bogavac-Stanojević N, Kotur Stevuljević J, Vukašinić A, Stefanović A, Kafedžić S, Zdravković M, Ilić I, Hinić S, Cerović M, Stefanović M, Spasojević-Kalimanovska V, Memon L, Nešković AN. Circulating levels of inflammatory parameters pentraxin-3, cyclophilin and heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in patients with ST-elevation myocardial infarction, *Scand J Clin Lab Invest* 2020;80:1: 66-72, DOI: 10.1080/00365513.2019.1698058 (IF₂₀₁₉ 1,42, rang časopisa M22 u kategorijama *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology-Clinical Biochemistry i Medicine miscellaneous*)
2. **Vuković-Dejanović V**, Kotur Stevuljević J, Vukašinić A, Miljković M, Kafedžić S, Zdravković M, Ilić I, Hinić S, Cerović M, Stefanović M, Spasojević-Kalimanovska V, Memon L, Nešković AN, Bogavac-Stanojević N. Oxidative Stress and Inflammatory Markers PTX3, CypA, and HB-EGF: How Are They Linked in Patients With STEMI? *Angiology* 2020; I-8, DOI: 10.1177/0003319720921724 (IF₂₀₁₉ 2,38, rang časopisa M22 u kategoriji *Medicine-Cardiology and Cardiovascular Medicine*)

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора **Весна Вуковић-Дејановић**

Број индекса **14/2014**

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Испитивање маркера инфламације пентраксина 3, циклофилина А и хепарин-везујућег епидермалног фактора раста код болесника са акутним инфарктом миокарда са СТ елевацијом“

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 07.07.2020.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора **Весна Вуковић-Дејановић**

Број индекса **14/2014**

Студијски програм **медицинска биохемија**

Наслов рада **„Испитивање маркера инфламације пентраксина 3, циклофилина А и хепарин-везујућег епидермалног фактора раста код болесника са акутним инфарктом миокарда са СТ-елевацијом“**

Ментори **проф. др Наташа Богавац-Станојевић**
проф. др Александар Н. Нешковић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 07.07.2020.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Испитивање маркера инфламације пентраксина 3, циклофилина А и хепарин-везујућег епидермалног фактора раста код болесника са акутним инфарктом миокарда са СТ-елевацијом“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)**
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 07.07.2020

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.