

CZU: 616.127-005.8-092-074:577.1

<https://doi.org/10.52692/1857-0011.2023.1-75.02>

## NET-OZA ÎN INFARCTUL MIOCARDIC ACUT FĂRĂ ELEVAREA SEGMENTULUI ST: SEMNIFICAȚII FIZIOPATOLOGICE ȘI MARKERI CIRCULANȚI

<sup>1</sup>Mihail POPOVICI, dr. hab. șt. medicale, prof. universitar, academician al AȘM.

<sup>1</sup>Victoria IVANOV, doctor habilitat în științe medicale, prof. cercetător,

<sup>1</sup>Ion POPOVICI, doctor habilitat în științe medicale, prof. cercetător,

<sup>1</sup>Lucia CIOBANU, doctor habilitat în științe medicale, conf. cercetător,

<sup>1</sup>Mihaela MUNTEANU, doctor în științe medicale, cercetător științific

<sup>1</sup>Ion MORARU, doctor în științe medicale, conf. cercetător

<sup>1</sup>Ion POPOVICI, student medicinist, anul VI

<sup>2</sup>Valeriu COBET, doctor habilitat în științe medicale, prof. universitar

<sup>1</sup>IMSP Institutul de Cardiologie, Republica Moldova, Chișinău

<sup>2</sup>IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău

*e-mail: popovicim@gmail.com*

### Rezumat.

**Scop.** Evaluarea rolului morții neutrofilelor (NET-ozei) în evoluția infarctului miocardic acut fără elevarea segmentului ST (NSTEMI) prin aprecierea nivelurilor circulante de admitere în staționar ale markerilor care au în plan fiziopatologic tangență la acest fenomen.

**Material și metode.** Cercetarea s-a realizat pe un lot de 54 de pacienți cu NSTEMI, supuși angioplastiei coronariene în laboratorul de cardiologie intervențională în cadrul proiectului științific din cadrul Programului de stat, la care prin metoda ELISA s-a determinat conținutul seric al 7 markeri biochimici: Selectina E, moleculei de adeziune intercelulare 1(ICAM-1), fosfolipaza 2(PhA2), interleukina 8 (IL-8), elastaza neutrofilelor (EN), mieloperoxidaza (MPO) și metaloproteinaza 8 (MMP-8). Lotul de control a fost format din 30 de persoane aparent sănătoase.

**Rezultate.** Rezultatele obținute indică prezența devierilor incrementale semnificative ale tuturor markerilor explorați la pacienții cu NSTEMI în comparație cu nivelul control. Markerii mai specifici ai NETozei (MPO, EN și MMP-8) au excelat prin rata maximă de elevare în ser, decelată în limitele 88-151%. Ceilalți markeri au avut o rată de creștere a nivelurilor lor circulante de 50-74%.

**Concluzie.** La pacienții cu NSTEMI nivelurile circulante de admitere ale markerilor specifici ai NET-ozei, mieloperoxidaza, elastaza neutrofilelor și MMP-8 sunt elevate cu 88-151% față de control, fapt ce indică asupra rolului patogenetic al NET-ozei și, totodată, invocă plauzibil acestor markeri valoare predictivă diagnostică și prognostică.

**Cuvinte cheie:** NET-oza, NSTEMI, markeri circulanți.

**Резюме. НЕТ-оз и острый инфаркт миокарда без подъема сегмента ST: патофизиологическая значимость и циркулирующие маркеры.**

**Цель.** Оценка роли смерти нейтрофилов (НЕТ-оза) в развитии острого инфаркта миокарда без подъема сегмента ST (ОИМбпST) путем оценки циркулирующих уровней маркеров при поступлении в стационар, патофизиологически связанных с этим явлением.

**Материал и методы.** Исследование проведено на группе из 54 пациентов с ИМбпST, перенесших коронарную ангиопластику в лаборатории интервенционной кардиологии в рамках научного проекта Государственной программы, в котором методом ИФА определяли содержание в сыворотке крови 7 биохимических маркеров: Селектин Е, молекула межклеточной адгезии 1 (ICAM-1), фосфолипаза 2 (PhA2), интерлейкин 8 (IL-8), нейтрофильная эластаза (EN), миелопероксидаза (МРО) и металлопротеиназа 8 (ММП-8). Контрольную группу составили 30 практически здоровых людей.

**Результаты.** Полученные результаты свидетельствуют о достоверном повышении всех исследованных маркеров в группе больных с ОИМбпST по сравнению с контролем. Тем не менее, наиболее значимое увеличение было выявлено в отношении специфических маркеров НЕТоза (МРО, ЭН и ММП-8), прирост которых по отношению к контролю составил 88–151%. Прирост циркулирующего уровня остальных маркеров находился в пределах 50–74%.

**Вывод.** У больных с ОИМбпST циркулирующие уровни при поступлении специфических маркеров НЕТоза, миелопероксидазы, нейтрофильной эластазы и ММП-8 повышены на 88–151% по сравнению с контролем, что свидетельствует о патогенетической роли НЕТоза и, в то же время, указывают на возможную диагностическую и prognostическую ценность этих маркеров.

**Ключевые слова:** НЕТоз, ОИМбпST, циркулирующие маркеры.

### Summary. NETosis and non-ST elevation acute myocardial infarction: pathophysiological significance and circulating markers.

**Purpose.** Evaluation of the role of neutrophil death (NET-osis) in the evolution of non-ST-segment elevation myocardial infarction (NSTEMI) by assessing circulating levels of in-patient admission of markers that are pathophysiologically related to this phenomenon.

**Material and methods.** The research was carried out on a group of 54 patients with NSTEMI, undergoing coronary angioplasty in the laboratory of interventional cardiology within the scientific project of the State Program, in which the serum content of 7 biochemical markers was determined by the ELISA method: Selectin E, the molecule of intercellular adhesion 1 (ICAM-1), phospholipase 2 (PhA2), interleukin 8 (IL-8), neutrophil elastase (EN), myeloperoxidase (MPO) and metalloproteinase 8 (MMP-8). The control group consisted of 30 apparently healthy people.

**Results.** The obtained results indicate the presence of significant incremental deviations of all explored markers in patients with NSTEMI compared to the control. The more specific markers of NETosis (MPO, NE and MMP-8) had a highest raising ratio, detected in a range of 88-151%. The other markers had a rate of circulating levels increase in a range of 50-74%.

**Conclusion.** The admission circulating levels of specific markers of NETosis, myeloperoxidase, neutrophil elastase and MMP-8 are elevated in patients with NSTEMI by 88-151% compared to control, evidence, that indicates the pathogenetic role of NETosis as well as the plausible diagnostical and prognostical value of these markers.

**Key words:** NETosis, NSTEMI, circulating markers.

### Introducere

Capcana extracelulară a NET-ozei ( Neutrophil Extracellular Trap) reprezintă în plan fiziopatologic un proces de leziune a neutrofilelor infiltrate și activate în țesutul diferitor organe până la moartea polimorfonuclearelor, care se asociază cu formarea unei rețele extracelulare compusă predilect din cromatină decondensată, material ADN nuclear și mitocondrial, histoni, enzime proteolitice, radicali liberi de oxigen (RLO), mieloperoxidază (MPO), etc. Această rețea extracelulară definită ca *NET* - a fost pentru prima dată descrisă de Volker Brinkmann și Arturo Zychlinsky în 2004 și conceptual tratată ca o capcană făcută de neutrofile în vederea captării, localizării și distrugerii agenților patogeni [1]. Astfel, filogenetic NET-oza s-a consolidat ca un instrument al imunității înnăscute (nespecifice) în carul procesului de defensivă a organelor contra microorganismelor, anume prin proprietatea de a forma NET-uri. Efectul bactericid al NET-ului este asigurat de către componentele neutrofilelor care prin exocitoză au aderat la rețeaua cromatinei denaturate: proteinele cationice, elastaza, catepsina G, RLO, halogenații oxigen-dependenți formați în reacția dintre peroxidul de hidrogen și MPO în prezența anionilor de Cl [2]. Dezintegrarea structurală a membranei neutrofilelor este condiția principală de formare și extindere a NET-ului, dar aceasta indiferent de natura factorilor trigger intra- și extracelulari reprezintă un ultraj concludent față de supraviețuirea leucocitului. Respectiv, formarea NET-ului poate fi realizată pe fundalul păstrării vitalității și capacității de fagocitoză a neutrofilelor (așa numit NET-ul cu NET-oză reversibilă, deci fără moartea celulară), dar mai frecvent se produce NET-oza cu peirea celulei polimorfonucleare. Aceasta din urmă se produce după un patern iminent necrozei, scenariul căruia impune

evenimente consecutive similare (leziunea membranei, hiperosmolaritatea intracelulară, tumescența și autoliza celulei), dar cu o evoluție mai lăncedă [3]. Prin urmare acest gen de NET-oză este entitatea „cimitirului neutrofilelor infiltrate” care devine un factor trigger de activare a răspunsului inflamator, stresului oxidativ și remodelării matricei extracelulare. Moartea neutrofilelor prin apoptoză este confirmată de mai mulți autori, aceasta fiind ca regulă constatată în mediu alcalin și declanșată pe calea extrinsecă după modelul ligand-receptor și mediată de caspaza 8 activată prin trimeridizare [4].

Abordarea NET-ozei în medicină a conturat noi valențe odată cu dovezile acumulate în cercetările fundamentale care dovedesc declanșarea NET-ozei în afara atacului biologic de către paternele moleculare derivate de injurie, Damage Associated Molecular Patterns (DAMP), acțiunea cărora este proprie inflamației sterile (ie, neinfecțioase). Respectiv, ischemia, hipoxia, ischemia-reperfuzia, stresul oxidativ, etc., sunt condițiile principale de formare a DAMP-ului, declanșării NET-ozei și instalării NET-ului. În acest context sunt inteligibil evidențiate stările patologice cu riscul maxim al NET-ozei, cum ar fi infarctul miocardic, accidentul vascular cerebral, ateroscleroza, etc. Remarcabil, că acțiunea DAMP de declanșare a NET-ozei este mediată, ca și în cazul acțiunii paternelor moleculare derivate de factori patogeni, Pathogen Associated Molecular Patterns (PAMP), de aceleași familii de receptori membranari, transmembranari și citozolici, familia de receptori Toll-like fiind considerată mai însemnată. Neutrofilul conține, cu excepția tipului 3, toate familiile de receptori Toll-like, iar citokinele proinflamatoare, în primul rând, IL-8, crește similar altor celule, expresia lor de către neutrofilele infiltrate în țesut [5].

Așadar, condițiile patologice ce asigură pasajul transvascular facilitat al neutrofilelor și declanșarea fenomenului de NET-oză și NET sunt repere patogenetice importante în injuria tisulară, dat fiind impactul alterativ notabil al NET-ului bazat pe acțiunea:

- RLO (neutrofilele sunt surse importante de anion superoxid și peroxid de hidrogen).
- Metaloproteinazelor (MMP). Neutrofilele conțin per se MMP-8, iar pe de altă parte RLO eliberați în cadrul NET-ozei activează alte familii de MMP ale matricei extracelulare.
- Elastazei și proteinelor cationice.
- Acidului hipocloros (HOCL), care derivă din reacția între MPO și peroxidul de hidrogen. Neutrofilul excelează în rândul altor leucocite prin capacitatea superioară de expresie a mieloperoxidazei, enzima cu hem estimată și prin prisma capacității de declanșare a răspunsului inflamator [6].
- Enzimelor lizozomale (eg, catepsina G).

Prin urmare, dincolo de acțiunea factorului infecțios, NET-oză urmată de NET sunt justificat apreciate ca pârgii patogenetice importante în evoluția diferitor afecțiuni somatice și neurodigerative (eg, boala Alzheimer), iar studiile de evaluare a mecanismelor și markerilor NET-ozei cu valoare de predicție diagnostică și prognostică conturează o direcție nouă și actuală a medicinei contemporane [7]. În acest context sunt eminente și cercetările menite să găsească posibilități de prevenire și/sau modulare a intensității NET-ozei pentru a tempera progresarea injuriilor tisulare, inclusiv la capitolul controlului diseminării creșterii neoplazice. Mai mult, se consideră că NET-ul reduce eficiența terapiei imune, chemo- și radioterapiei în diferite tipuri de cancer, iar atenuarea consecințelor NET-ozei se poate solda cu beneficii pentru pacientul oncologic [8].

Vizavi de infarctul miocardic acut fără supradenivelare de segment ST exegeza rolului patogenetic al NET-ozei are un suport conceptual concludent.

În primul rând, dereglarea microcirculației coronariene în contiguitate cu disfuncția endotelială și răspunsul inflamator este o condiție necesară și prielnică pentru pasajul transcapilar al neutrofilelor. Citokinele proinflamatoare induc expresia selectinelor (E și P) și moleculelor de adeziune intercelulară, care asigură migrarea polimorfonuclearelor în miocardul ischemizat.

În al doilea rând, DAMP-ul care derivă din necroza miocardului este un stimulator puternic al NET-ozei nu numai prin intermediul receptorilor Toll-like, dar și în contextul angrenării inflamatorului. Fenomenul de NET-oză poate explica severitatea evoluției clinice post-infarct a pacienților cu NSTEMI și rata mortalității egale sau chiar mai mare față de STEMI, întrucât

compliancea miocardului subendocardic compromisă prin infarct este și mai mult afectată prin depozitățile de fibrină în combinație cu efectul protrombotic caracteristic NET-ului [9, 10]. Rețeaua de cromatină denaturată este o sursă importantă de factor tisular, care facilitează activarea trombinei și diseminării fibrelor de fibrină între cardiomiocite. Expansiunea zonei de necroză a miocardului în NSTEMI după epizodul de ischemie inerent arterei „culprit” cu ocluzie submaximală poate fi în mare parte cauzată de NET, iar MPO, MMP-8 și elastaza se anunță componentele de bază ale NET-ului implicate în acest proces. Activarea fibroblastelor de componente NET-ului este de asemenea un patern peiorativ al remodelării post-infarct a miocardului bazat pe creșterea spațiului de fibroză reactivă și substitutivă.

În rândul trei, studii experimentale au demonstrat aportul NET-ului în aterotromboza microcirculației coronariene, prezența NET-ozei chiar în trombusuri și corelarea ei directă cu severitatea injuriei ischemice a miocardului [11, 12].

În studiile clinice evaluarea rolului NET-ozei în patogenia NSTEMI este dificilă în aspectul tehnico-metodologic, aceasta fiind posibilă indirect prin intermediul markerilor biochimici circulanți care pot reflecta nativitatea fiziopatologică a diferitor etape și segmente ale NET-ozei și NET-ului și, totodată, care pot avea valoare predictivă asupra diagnosticului și prognosticului NSTEMI. În acest sens sufragiile maxime aparțin:

1. Markerilor pasajului transendotelial al neutrofilelor: Selectina E, ICAM-1, fosfolipaza A2 și IL-8.
2. Markerilor ce reflectă componentele principale ale NET-ului: elastaza neutrofilelor, MPO, MMP-8, ADN-ul nuclear.

De asemenea se vehiculează semnificația fiziopatologică a neutrofilelor cu densitatea joasă (CD33+/CD16-) sau imature, care au o activitate proinflamatoare majorată, inclusiv privind NET-oză și NET-ul, cota acestora fiind semnificativ ridicată la pacienții cu infarct miocardic [13].

Datele literaturii de domeniu nu indică studierea sub această calotă a NET-ozei la pacienții cu NSTEMI, fapt ce ne-a determinat **scopul cercetării:**

Evaluarea rolului NET-ozei în evoluția NSTEMI prin aprecierea nivelurilor circulante de admitere ale markerilor care au în plan fiziopatologic tangența la acest fenomen.

### Material și metode

Cercetarea s-a realizat pe 54 de pacienți cu NSTEMI, supuși angioplastiei coronariene în laboratorul de cardiologie intervențională în cadrul proiectului instituțional „Evaluarea markerilor instru-

mentali și biochimici în managementul pacienților cu infarct miocardic acut fără elevare de segment ST, precum și în aprecierea gradului de afectare coronariană microvasculară”, la care prin metoda ELISA s-a determinat conținutul seric al 7 markeri biochimici: Selectina E, ICAM-1, PhA2, IL-8, EN, MPO și MMP-8.

Caracteristica generală a pacienților incluși în studiu este prezentată în tabelul 1.

Indicii decelați în cadrul angiocoronarografiei sunt prezentați în tabelul 2.

Lotul de control (sau de referință) a fost format din 30 de persoane aparent sănătoase.

Procesarea statistică a materialului cifric obținut a inclus determinarea mediei (M) și deviației standard (SD). La compararea indicilor între loturi (control și pacienții cu NSTEMI) discrepanța era considerată semnificativă, când valoarea lui  $p < 0,05$ .

Tabelul 1

#### Indicatorii clinico-demografici ai pacienților

Indici	n	%	M±m
Vârsta, ani			69,7±1,5
Bărbați	35	65	
Femei	19	35	
Hipertensiune arterială	50	92,6	
Dislipidemie	46	86	
Diabet zaharat	18	34	
Tabagism	19	36	
Fibrilație atrială	13	24	
AVC în anamneză	8	15	
Insuficiența cardiacă (IC), Clasa Killip I	42	78	
IC, Clasa Killip II	10	19	
IC, Clasa Killip III	2	3	
Fracția de ejeția (FE) >50%	30	56	
FE 40-49%	11	21	
FE <40%	5	10	
FE ≤ 35%	8	13	
Rata filtrării glomerulare, ml/min			60,7±3,26
Scorul GRACE			129±6,4
TIMI			4,75±0,2

Tabelul 2

#### Indicatorii de leziune a arterelor coronariene la pacienții cu NSTEMI

Numărul arterelor coronariene lezate (stenoza >50%)			
Monovasculare	Bivasculare	Trivasculare	Trunchiul principal stâng
11 (21%)	9 (17%)	32 (60%)	2 (4%)
Artera coronariană <i>culprit</i>			
anterioară descendentă 30 (56%)	artera circumflexă 16 (30%)	artera coronara dreaptă 8 (15%)	

Tabelul 3

#### Conținutul seric al markerilor în lotul control și la pacienții cu NSTEMI

Marker	Lot control	Lot NSTEMI	Devieri (%)	p
Selectina E, ng/ml	69,25±4,15	111,50±14,22	+61%	<0,001
ICAM-1, ng/ml	279,37±30,85	483,66±50,11	+74%	<0,001
PhA2, ng/ml	93,54±11,34	164,28±23,23	+77%	<0,001
IL-8, pg/ml	4,91±0,67	7,35±0,96	+50%	<0,001
MMP-8, ng/ml	28,87±4,65	54,20±7,62	+88%	<0,001
EN, ng/ml	16,26±3,41	32,18±5,75	+98%	<0,001
MPO, U/ml	29,15±4,47	73,12±12,72	+151%	<0,001

## Rezultate

Valorile cantitative ale markerilor explorați în ambele loturi sunt prezentate în tabelul 3.

Rezultatele obținute indică prezența devierilor semnificative ale markerilor explorați în lotul pacienților cu NSTEMI față de control. Markerii care se referă la procesul de migrare a neutrofilelor, Selectina E și ICAM-1, se estimează elevați cantitativ cu 61% și, respectiv, cu 74% peste nivelul control. Expresia endotelială majorată a selectinelor și moleculelor de adeziune intercelulară se atestă pe un fundal de leziune inflamatoare a endoteliocitelor. În studiul nostru nivelul circulant al fosfolipazei A2, markerul inflamației intimei vasculare, are un increment de 77% față de control. Majorarea PhA2 în NSTEMI s-a urmărit în asociere cu dublarea conținutului seric al IL-8, marker al inflamației, iar pe de altă parte o chemokină importantă pentru neutrofile, precum și o citokină proinflamatoare capabilă să declanșeze procesul de NET-oză.

În contextul evidențierii reperelor de suport al migrării neutrofilelor este importantă evaluarea markerilor specifici de bornă ai NET-ozei și NET-ului. De menționat în acest context creșterea conținutului seric al MMP-8 cu 88%, al elastazei neutrofilelor cu 98% și al mieloperoxidazei cu 151%. Acești 3 markeri s-au corelat robust cu markerii disfuncției endoteliale și migrării neutrofilelor.

Tabelul 4

### Corelarea markerilor în lotul pacienților cu NSTEMI

Markeri	Selectina E	ICAM-1	PhA2
MMP-8	r=+0,646*	r=+0,677*	r=+0,629*
EN	r=+0,746*	r=+0,811*	r=+0,734*
MPO	r=+0,817*	r=+0,821*	r=+0,783*

Notă: \* - semnificația corelației,  $p < 0,001$

Cea mai concludentă corelație s-a constatat între MPO și EN cu Selectina E și ICAM-1, fapt ce confirmă contiguitatea patogenetică a acestor markeri în interfața fiziopatologică a fenomenului de NET-oză și NET la pacienții cu NSTEMI.

## Discuții

NET-oză și NET-ul au intrat recent în calibrul preocupărilor prioritare ale medicinei, în primul rând vizavi de afecțiunile cardiovasculare, odată cu stabilirea în cercetările fundamentale a faptului, că aceste fenomene pot avea loc și în afara acțiunii factorilor biologici. O fațetă iminentă a precondiționării impune prezența inflamației subclinice sau cronice sau sterile, ce va facilita și asigura pasajul transendotelial al neutrofilelor în țesut prin intermediul expresiei selectinelor E și P, a moleculelor de adeziune intercelulară ICAM-1 și moleculelor de adeziune vasculară - VCAM, precum și a leziunii stratului endotelial

al microcirculației. O altă fațetă a precondiționării e conturată de factorii care pot declanșa procesul de NET-oză ce va rezulta în formarea NET-ului (indiferent dacă neutrofilele vor supraviețui sau vor muri), a rețelei de cromatină depolimerizată marcată de adeziunea reziduurilor de histoni și a componentelor cu potențial alterativ ale neutrofilelor, cum ar fi enzimele proteolitice citozolice și lizozomale (în primul rând elastaza, catepsina G, proteinaza 3), RLO, MPO, proteinele cationice, etc., menite în cadrul evoluției filogenetice să distrugă intrusul biologic. În lipsa celui din urmă acțiunea alterativă a NET-ului este îndreptată asupra celulelor proprii și componentelor matricei extracelulare, inducând astfel, fenomenul de injurie secundară. Impactul acesteia este în mod deosebit important în evoluția proceselor patologice ale organelor vitale cu colaterale funcționale absolut insuficiente, cordul și creierul, deci a infarctului miocardic acut (IMA) și a accidentului vascular cerebral (AVC). Astfel, necesitatea studierii particularităților și ponderii NET-ozei în patogenia acestor afecțiuni fatale este motivată de mai multe beneficii plauzibile: (1) justificarea valorii predictive diagnostice și prognostice a markerilor NET-ozei, și (2) elaborarea posibilităților farmacologice de atenuare a NET-ozei și, respectiv, a injuriei secundare care atât în cazul infarctului miocardic, cât și a infarctului lacunar cerebral poate atinge cote similare injuriei primare ischemice a acestor organe în detrimentul prognozei de durată.

Cercetarea noastră pilot a avut drept scop evaluarea caracterului modificării cantitative a markerilor circulanți care sunt în consonanță conceptuală cu fiziopatologia NET-ozei la pacienții cu NSTEMI, paterul intricat al sindromului coronarian acut în plan diagnostic și terapeutic. Am apreciat nivelul circulant al MMP-8, care este predilect eliberată de neutrofile, dar nu sunt evidențe certe dacă această metaloproteinază este eliberată de polimorfonucleare în cadrul procesului de NET-oză. Prin urmare, MMP-8 poate fi considerată un marker cu specificitate condiționată a NET-ozei. Nivelurile circulante ale acestor markeri s-au corelat cu concentrația serică a markerilor ce reflectă interfața patogenetică a pasajului neutrofilelor în zona de necroză a miocardului subendocardic: Selectina E solubilă, ICAM-1 solubil și PhA2.

Remarcabil, că markerii specifici ai NET-ozei au excelat prin rata maximă de elevare în sânge față de nivelul control: EN cu 98% și MPO cu 151% (incrementul MMP-8 a constituit 77%). Markerii specifici au corelat pozitiv la intensitate înaltă (coeficientul de corelare  $r > +0,73$ ) cu Selectina E, ICAM-1 și PhA2, care au avut un spor cantitativ cuprins în limitele 50-77%.

Astfel, implicarea NET-ozei este certă în evoluția NSTEMI, iar EN și MPO ar putea fi markerii

cu valoarea predictivă notabilă privind diagnosticul NSTEMI. Este de asemenea inteligibilă și semnificația fiziopatologică a acestor markeri.

Elastaza neutrofilelor, o protează serinică este rapid eliberată din granulele azurofile ale neutrofilelor activate în miocardul necrotizat și ischemic sub acțiunea DAMP, IL-8 și RLO. EN scindează proteinele matricei extracelulare (elastina, colagenul, fibrinectina, etc.) declanșând injuria secundară a miocardului, conducând la expansiunea zonei de necroză. În modelul murin de infarct miocardic acut, creșterea maximă a EN în miocardul necrotizat s-a stabilit în primele 24 de ore, iar nivelul proteazei s-a corelat pozitiv cu rata mortalității animalelor [14]. Totodată, EN clivează pro-MMP-9, determinând creșterea expresiei gelatinazei B activate, fapt ce va augmenta leziunea matricei extracelulare și injuria secundară a miocardului. Sunt importante datele care demonstrează capacitatea EN de a diminua contractilitatea miocardului prin intermediul IL-6 eliberate prin mecanismul dependent de oxidul nitric [15]. Utilizarea inhibitorului EN (Sivelestat) în modelul experimental de injurie ischemică a miocardului a demonstrat reducerea zonei de alterație, inclusiv în perioada de reperfuție [16].

Degranularea neutrofilelor este facilitată de hiperglicemie, iar drept confirmare a acestei evidențe fiziopatologice importante sunt datele studiilor care arată niveluri circulante majorate ale EN și proteinazei 3 la pacienții cu diabet zaharat de tip II, care au avut accident vascular cerebral și infarct miocardic [17, 18]. Prin urmare impactul diabetului zaharat asupra evoluției NSTEMI este în parte atribuit și fenomenului accentuat de NET-oză și NET, iar elastaza neutrofilelor merită în acest context o abordare predictivă deosebită.

Interesant, că și rata de eliberare a MPO în cadrul NET-ozei este de asemenea în legătură strânsă cu perturbarea metabolismului glucidic și dislipidemiile [19]. Rolul plauzibil al MPO în patogenia și prognoza infarctului miocardic acut este slab conturat, deși dovezi pro- sunt mai multe acumulate comparativ cu elastaza neutrofilelor. Astfel, inhibiția MPO în modelul experimental de IMA pe o perioadă post-infarct de 7 și 21 de zile a ameliorat convingător remodelarea morfologică și funcțională a miocardului [20]. Inhibiția MPO a condus și la micșorarea expresiei citokinelor proinflamatoare, a intensității stresului oxidativ, precum și a activității metaloproteinazelor matricei extracelulare, fapt ce subliniază interfața patogenetică a componentei NET-ului.

Excesul de MPO exacerbează disfuncția endotelială, stimulează evenimentele protrombotice și afectează microcirculația coronariană [21]. Oxidarea

LDL și HDL impune mieloperoxidazei și efectul proaterogen notabil, fapt ce conform opiniei lui A.Vora și colab. (2016), poate fi un factor ce determină la pacienții vârstnici cu NSTEMI o prognoză de durată mai puțin favorabilă comparativ cu STEMI [22].

Conceptual sunt importante datele lui N.Zhang și colab. (2022) care într-o cercetare prospectivă de cohortă realizată pe pacienții cu NSTEMI au demonstrat că nivelurile circulante crescute ale MPO se asociază cu o rată majorată a evenimentelor cardiovasculare majore (MACE) în primul an de supraveghere post-infarct [19]. Mai mult, nivelul MPO s-a corelat pozitiv și cu scorul GRACE, precum și cu conținutul seric al NT-proBNP și al markerilor proinflamatori (eg, PCRhs, IL-1, IL-6 și TNF- $\alpha$ ). Autorii pledează asupra plauzibilității de a înainta MPO drept predictor independent al prognosticului NSTEMI la distanța de până la 24 luni a perioadei post-infarct, iar opinia de a utiliza MPO ca o țintă terapeutică este împărțită și de alți cercetători [23].

În studiul nostru MPO a fost markerul specific al NET-ozei cu cel mai consistent spor cantitativ față de control (151%), evidență care vine în acord cu afirmațiile de mai sus.

Într-un studiu clinic controlat cu placebo s-a demonstrat relevanța utilizării drept markeri ai NET-ozei la pacienții cu NSTEMI a fragmentelor de ADN al neutrofilelor, precum și a diferitor segmente de histoni [24]. Remarcabil că gradul de elevare a acestora în ser se corelează direct cu prognosticul NSTEMI (în primul rând vizavi de rata mortalității la distanța de 12-24 luni), fapt ce aduce la apel și valoarea lor predictivă plauzibilă privind evoluția post-infarct.

### Concluzie

Nivelurile circulante ale markerilor specifici ai NET-ozei, mieloperoxidaza, elastaza neutrofilelor și MMP-8 sunt elevate la pacienții cu NSTEMI cu până la 151% față de control, fapt ce indică asupra rolului patogenetic al NET-ozei și, totodată, invocă acestor markeri valoare predictivă, diagnostică și prognostică.

### Bibliografie

1. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, 2004; 303:1532-1535.
2. Zhen C, Hailin Z, Lingzhi W et al. The Role of Neutrophil NETosis in Organ Injury: Novel Inflammatory Cell Death Mechanisms. *Inflammation*, 2020, 43(6):2021-2032.
3. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the nomenclature committee on cell death 2018. *Cell Death and Differentiation*. 2018, 25(3):486-541.
4. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nature Reviews. Immunology*. 2018, 18(2):134-147.

5. Chen T, Li Y, Sun R et al. Receptor-mediated NETosis on neutrophils. *Front Immunol*, 2021, 12:775267.
6. Ysuaki A. Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation, and neutrophil function. *Arch Biochem Biophys*, 2018, 640:47-52.
7. Pietronigro EC, Della Bianca V, Zenaro E, Constantin G. NETosis in Alzheimer's disease. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8:211.
8. Shahzad MH, Feng L, Su X et al. Neutrophil Extracellular Traps in Cancer Therapy Resistance. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(5):1359.
9. Bonaventura A., Montecucco F., Dallegri F et al. Novel findings in neutrophil biology and their impact on cardiovascular disease. *Cardiovasc. Res*, 2019, 115:1266–1285.
10. Bonaventura A, Vecchie A, Abbate A, Montecucco F. Neutrophil Extracellular Traps and Cardiovascular Diseases: An Update. *Cells*, 2020, 9(1):231.
11. Ge L, Zhou X, Ji WJ et al. Neutrophil extracellular traps in ischemia-reperfusion injury-induced myocardial no-reflow: Therapeutic potential of DNase-based reperfusion strategy. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*, 2015;308:H500–H509.
12. Borissoff JI, Joosen IA, Versteylen MO et al. Elevated levels of circulating DNA and chromatin are independently associated with severe coronary atherosclerosis and a prothrombotic state. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33: 2032–2040.
13. You J, Hally K, Larsen PD, Holley AS. Increased levels of low-density neutrophils (LDNs) in myocardial infarction. *Acta Cardiologica*, 2022, 10:1-8.
14. Ogura Y. Neutrophil elastase deficiency ameliorates myocardial injury post myocardial infarction in mice. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2):722.
15. Yu X, Kennedy RH, Liu SJ. JAK2/STAT3, not ERK1/2, mediates interleukin-6-induced activation of inducible nitric-oxide synthase and decrease in contractility of adult ventricular myocytes. *J Biol Chem*, 2003, 278(18): 16304–16309.
16. Fujii M, Bessho R. Neutrophil elastase inhibitor sivelestat attenuates myocardial injury after cardioplegic arrest in rat hearts. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*, 2020, 26(5):263–269.
17. Zhang N, Aiyasiding X, Li WJ et al. Neutrophil degranulation and myocardial infarction. *Cell Commun Signal*, 2020, 20:50.
18. Wang L, Pan J, Sun Y et al. Increased neutrophil elastase and proteinase 3 are closely associated with occurrence and severity of stroke and acute myocardial infarction in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2022, 186:109853.
19. Zhang N, Wang JX, Wu XY et al. Correlation Analysis of Plasma Myeloperoxidase Level With Global Registry of Acute Coronary Events Score and Prognosis in Patients With Acute Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9:828174.
20. Ali M, Pulli B, Courties G. Myeloperoxidase Inhibition Improves Ventricular Function and Remodeling After Experimental Myocardial Infarction. *JACC Basic Transl Sci*, 2016, 1(7):633-643.
21. Maiocchi SL, Ku J, Thai T et al. Myeloperoxidase: a versatile mediator of endothelial dysfunction and therapeutic target during cardiovascular disease. *Pharmacol Ther*, 2021, 221:107-111.
22. Vora AN, Wang TY, Hellkamp AS. Differences in short- and long-term outcomes among elder patients with ST-elevation versus non-ST-elevation myocardial infarction with angiographically proven coronary artery disease. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2016, 9:513-522.
23. Chaikijurajai T, Tang WHW. Myeloperoxidase: a potential therapeutic target for coronary artery disease. *Expert Opin Ther Tar*, 2020, 24:695-705.
24. Helseth R, Kleaveland O, Ueland T et al. Tocilizumab increases citrullinated histone 3 in non-ST segment elevation myocardial infarction. *Open Heart*, 2021, 8(1):e001492.