

Hematologické analyzátořy Advia® a léčiva indukující deficit myeloperoxidázy

J. Šebek, I. Mátlová

Tento text volně navazuje na článek o myeloperoxidázové reakci a hematologických analyzátořech Advia®, který byl otištěn v čísle 4/2016. Podrobněji rozebíral, jak přístroje Advia® řady 120, 2120, 2120i vyhodnocují aktivitu enzymu myeloperoxidázy (MPO), díky čemuž při měření diferenciálního rozpočtu leukocytů dokáží identifikovat populaci neutrofilních granulocytů, jež ji obsahují, od ostatních buněk. Bohužel i při parciálním čili klinicky nevýznamném deficitu MPO toho analyzátoř není schopen. Jen pro úplnost informací si ješř uvedeme, že enzym asociovaný s azurofilními granulami neutrofilů a v menší míře obsažený v monocytech významně participuje na imunitních pochodech. Díky němu totiž dokáží bezprostředně po ingesci pohlcený organický materiál degradovat. Samotnému procesu, kdy dochází k aktivaci peroxidázy, říkáme oxidativní vzplanutí. Taktěž se podílí i na rozvoji zánětlivých stavů především chronických.

K samotné chemické reakci dochází v PEROX komůřce, kde v reagenции obsažený 4-chlor-1-1naftol za přítomnosti našeho enzymu evokuje vznik tmavě hnědého intracelulárního pigmentu v neutrofilech. Následně vzorek zbařený ostatních krvinek, které nepatří do leukocytární řady, putuje do průtokové kyvety. Optickou část kyvety protíná světelný paprsek z halogenové žárovky a detektor během průchodu jednotlivých buněk sleduje jeho rozptyl. Právě rozptyl je nejvíce ovlivněn přítomností hyperpigmentovaných granul vzniklých myeloperoxidázovou reakci. Analyzátoř tím pádem dokáže správně klasifikovat všechny neutrofilní granulocyty, respektive je správně zařadit do příslušného gatv v cytogramu.

Následky deficitu MPO

Pokud bereme v potaz i méně markantní případy selhání reakce, v současnosti se odhaduje, že deficit MPO lze pozorovat přibližně u jednoho vzorku ze čtyř set vyšetřovaných. Neutrofilů pak přístroj zařadí do populace atypických krevních buněk, jež vydává pod označením LUC. Zkratka vznikla z termínu *large unstained cells*, v překladu velké nebarvené

buněk. V podstatě jde o přímo měřený kanál, jehož prostřednictvím je jednoznačně zjištěna přítomnost nestandardních leukocytů ve vzorku. Jen pro představu, obecně platný limit pro LUC by fyziologicky neměl překročit 4-5 % z celkového počtu bílých krvinek. Překročení hodnoty již predikuje, abychom přístrojový diferenciální rozpočet nahradili mikroskopickým. Mezi výsledky nalezneme typickou diskrepanci, neboť zjistíme, že neutrofilní granulocyty jsou z kvantitativního i kvalitativního hlediska až na případnou hypogranulaci cytoplazmy zcela ve fyziologických mezích.

Abychom dokázali nestandardně probíhající reakce u všech vzorků sledovat, musíme věnovat pozornost nejen množství špatně klasifikovaných granulocytů čili hodnotě LUC ale také myeloperoxidázovému indexu (MPXi). Prakticky vypovídá o intenzitě naměřené reakce, což koresponduje s reálnou aktivitou enzymu v neutrofilech. Fyziologické rozmezí MPXi činí -10 až +10. Podkročení intervalu lze pozorovat přibližně u jednoho vzorku ze třiset. Jen zcela výjimečně se můžeme setkat s jeho dramatickým poklesem pod 50 a více. Taková nízká hodnota u pacienta predikuje klinicky významný imunodeficitní stav postihující fagocytózu. Deficit MPO v takovém případě už není parciální, ale je subtotální či dokonce totální.

Příčiny deficitu MPO

Jelikož je kongenitální deficit našeho enzymu poměrně vzácným jevem, nabízí se otázka co selhání MPO reakce, které se u pacientů může vyskytovat sporadicky či dlouhodoběji, zapříčiňuje. Odpověď je relativně jednoduchá. Na vině bývá celá řada xenobiotik vesměs používaných jako léčiva pro systémovou aplikaci. Ve většině případů je však ovlivnění enzymu individuální a u pacientů léčených stejným preparátem v identickém dávkování se vždy nemanifestuje. Důvodem může být skutečnost, že gen A 463 G/A společně s GCLC-3506 A/G participující na expresi MPO jsou v populaci dosti polymorfní, a tak mezi jedinci existuje více variant enzymu, které se logicky liší senzitivitou k rozličným inhibitorům. Další faktor ovlivňující aktivitu peroxidázy souvisí s jeho samotnou syntézou a posttranslační modifikací v endoplazmatickém retikulu. Tvorba probíhá v několika krocích, přičemž napřed vzniká apopro-MPO, následně pro-MPO a nakonec finální enzym. Některá xenobiotika tak nemusí nutně inhibovat pouze maturovanou myeloperoxidázu, ale mohou být naopak účinné jen vůči její prekurzorové formě. Nelze ani opomenout další polymorfismus, a to genů pro enzymatický systém CYP-450 ovlivňující farmakokinetiku respektive biotransformaci

léciv. U jedinců s dispozicí k jejich pomalému metabolizování pravděpodobněji dojde k dosažení dostatečné koncentrace na to, aby blokovala MPO v jednotlivých kompartmentech neutrofilů, přesněji řečeno v jejich azurofilních granulích.

Léčiva Inhibující MPO

První a nejvýznamnější skupinu představují antiflogistika. Zde je však inhibice myeloperoxidázy, jakožto vedlejší farmakodynamický efekt, žádoucí. Na rozvoji zánětu totiž enzym participuje a dále přispívá k poškození postižené tkáně. Významnými představiteli antiflogistik obecně jsou glukokortikoidy, kam patří methylprednison (Depo-Medrol®) nebo prednison (Prednison Léčiva®). Na genové úrovni netlumí expresi pouze cyklooxygenázy typu 2 (COX-2), kterou v patogenezi zánětu rozhodně považujeme za nejvýznamnější, ale právě i peroxidázy. U nesteroidních antiflogistik (NSA) je situace trochu odlišná. Oba zmiňované enzymy si jsou strukturálně podobné, tudíž NSA, jež mají za úkol zpomalovat aktivitu cyklooxygenázy, negativně modulují i aktivitu MPO na principu kompetice, přičemž vazba vykazuje reverzibilní charakter. Nejmarkantněji takto účinkuje diklofenak a piroxikam (tab. 1). Naopak indometacin (Indometacin Berlin-Chemie®) v současnosti pokládáme z tohoto pohledu za bezpečný. Obdobným mechanismem lze vysvětlit inhibiční dopad analgetik potažmo antipyretik ve smyslu acetaminofenu či acetylsalicylové kyseliny. Antiflogistika se oproti dalším léčivům vyznačují výrazným efektem dávky korespondující s mírou inhibice. Takže se vzrůstající plazmatickou hladinou léčiva klesá intracelulární koncentrace funkčního enzymu.

Největší kategorii medikamentů však tvoří ty, co myeloperoxidázu blokují sekundárně, aniž by její aktivita nějak ovlivňovala chorobu, kvůli níž byly indikovány

(tab. 2). Třeba tyreostatika patří k nejsilnějším ireverzibilním inhibitorům vůbec. Mají za úkol tlumit aktivitu tyreoidální peroxidázy (TPO). Bohužel je však její reakční centrum analogické s našim enzymem. Mezi léčiva s výraznějším dopadem na MPO můžeme zařadit i ACE-inhibitory k terapii hypertenze nebo indolové eventuálně ještě thioxantenové deriváty jakožto antipsychotika. U lamotriginu (Lamictal®, Epimil®) a pregabalínu (Lyrica®) předpokládáme jen slabý dopad na aktivitu enzymu. U výše popsaných léčiv se tedy jedná o vedlejší účinek, který podle situace můžeme a nemusíme považovat za nežádoucí. Často bývá zcela nepodstatný. Naopak u antiinfektiv případně i cytostatik by bylo účelnější, aby peroxidázu neovlivňovaly, a tak proces oxidativního vzplanutí zbytečně nezpomalovaly na úkor imunitních funkcí (tab. 3).

V poslední době se navíc zjišťuje, že schopnost blokovat enzym propůjčuje některým léčivům protektivní účinek vůči určitým onemocněním. Patogenezi aterosklerózy s největší pravděpodobností zpomaluje agomelatin (Valdoxan®) jakožto antidepressivum novějšího typu. Melatonin je totiž významným reverzibilním inhibitorem myeloperoxidázy a jelikož se jedná o analog melatoninu, působí na enzym stejným mechanismem. Ukazuje se, že u pacientů medikovaných agomelatinem dochází k selhání MPO reakce takřka vždy. U neurodegenerativních stavů, jako je Parkinsonova choroba, může mít příznivý vliv zase paroxetin (Remood®, Seroxat®). Opět se jedná o antidepressivum. Pravděpodobně tlumí negativní dopady způsobené myeloperoxidázou mikroglíí. To vše jsou důvody, proč v poslední době dochází k cílenému designování molekul schopných specificky inhibovat enzym a jejich následnému farmakologickému testování. Výčet dalších léčiv s reálným vlivem na myeloperoxidázu uvádí tabulka 4.

Tabulka 1: Steroidní a nesteroidní antiflogistika, antipyretika

Generický název	Obchodní název
Acetaminofen	Panadol®, Paralen®, Valetol®
Acetylsalicylová kys.	Acylpirin®, Aspirin®
Diklofenak	Dolmina®, Olfen®, Voltaren®
Naproxen	Nalgesin®
Nimesulid	Aulin®, Coxtral®, Nimesil®
Piroxikam	Flamexin®, Hotemin®

Tabulka 2: Léčiva inhibující MPO častěji

Generický název	Obchodní název	Charakteristika
Enalapril	Ednyt [®] , Enap [®] , Renitec [®]	ACE-inhibitor
Flupentixol	Fluanxol [®]	Thioxantenové antipsychotikum
Lisinopril	Dapril [®] , Diroton [®] , Lisipril [®]	ACE-inhibitor
Lurasidon	Latuda [®]	Indolové antipsychotikum
Propylthiouracil	Propycil [®]	Tyreostatikum
Ramipril	Amprilan [®] , Ramil [®] , Tritace [®]	ACE-inhibitor
Sertindol	Serdolect [®]	Indolové antipsychotikum
Thiamazol	Thyrozol [®]	Tyreostatikum
Ziprasidon	Zeldox [®] , Zypsilan [®]	Indolové antipsychotikum
Zuklopentixol	Cisordinol [®]	Thioxantenové antipsychotikum

Tabulka 3: Antiinfektiva a cytostatika inhibující MPO

Generický název	Obchodní název	Charakteristika
5-Fluorouracil	5-Fluorouracil [®]	Cytostatikum
Cisplatina	Cisplatin [®] , Platidiam [®]	Cytostatikum
Doxycyklin	Doxybene [®] , Doxyhexal [®]	Tetracyklinové antibiotikum
Isavukonazol	Cresemba [®]	Triazolové antimykotikum
Izoniazid	Nidrazid [®]	Antituberkulotikum
Karboplatina	Carboplatin [®] , Cycloplatin [®]	Cytostatikum
Metronidazol	Efloran [®] , Entizol [®]	Imidazolové antibiotikum
Posakonazol	Noxafil [®]	Triazolové antimykotikum

Tabulka 4: Léčiva inhibující MPO méně často

Generický název	Obchodní název	Charakteristika
Ambroxol	Ambrobene [®] , Mucosolvan [®]	Mukolytikum
Moklobemid	Aurorix [®]	Antidepressivum typu IMAO
Omeprazol	Helicid [®] , Loseprazol [®]	Inhibitor protonové pumpy
Tikagrelor	Brilique [®]	Antiagregancium
Tiklopidin	Tagren [®]	Antiagregancium
Tofacitinib	Xeljanz [®]	Imunosupresivum

Literatura

- Lincová D, Farghali H. Základní a aplikovaná farmakologie. Praha: Galén 2007.
- Lullmann H, Mohr K, Hein L. Barevný atlas farmakologie. Praha: Grada 2007.
- Maiocchi S, Morris C, Ress M. Regulation of the nitric oxide oxidase activity of myeloperoxidase by pharmacological agents. *Biochemical Pharmacology* 2017; 135: 91-115.
- Malle E, Furtmuller PG, Sattler W, Obinger C. Myeloperoxidase: target for new drug development? *British Journal of Pharmacology* 2007; 152: 838-854.
- Matouš B. Základy lékařské chemie a biochemie. Praha: Galén 2010.
- Medical Tribune. Breviř. Praha: M.. Tribune 2017.
- Soubhye J. Design, synthesis and study of myeloperoxidase inhibitors. Bruxelles: Université Libre de Bruxelles 2014.
- Šebek J. Hematologické analyzátořy Advia a myeloperoxidázová reakce. *FONS: Informační bulletin* 2016; 4: 16-20.