

УДК 577.15, 577.29, 577.151.33

© Коллектив авторов

МАРГАНЕЦ В АТЕРОГЕНЕЗЕ: ОБНАРУЖЕНИЕ, ПРОИСХОЖДЕНИЕ И РОЛЬ

А.П. Ложкин^{1}, Т.Б. Биктагиров¹, В.А. Абдульянов³, О.В. Горшков²,
Е.В. Тимонина¹, Г.В. Мамин¹, С.Б. Орлинский¹, Н.И. Силкин¹, В.М. Чернов²,
Р.Н. Хайруллин³, М.Х. Салахов¹, О.Н. Ильинская¹*

¹Казанский государственный университет, 420008 Казань, ул. Кремлевская, д. 18;
тел.: (843)2387121; эл. почта: lozhkinandrey@gmail.com

²Казанский институт биохимии и биофизики, Казанский научный центр РАН,
420111 Казань, ул. Лобачевского, д. 2/31; тел.: (843)2927347

³Межрегиональный клинико-диагностический центр, 420101 Казань,
ул. Карбышева, д. 12а; тел.: (843)2911166

Роль металлов с переменной валентностью в атерогенезе неоднозначна: они могут участвовать в генерации гидроксильного радикала и в то же время, будучи кофакторами ферментов антиоксидантной защиты, катализировать реакции нейтрализации активных форм кислорода. Методами ЭПР-спектроскопии установлено, что 70% исследованных образцов аорты с атеросклеротическими повреждениями проявляют супероксиддисмутазную активность, 100% образцов способны к инициации реакции Фентона и демонстрируют присутствие парамагнитных комплексов, в составе которых находится двухвалентный марганец. Ген *sodA*, кодирующий марганцевую супероксиддисмутазу бактерий, в образцах атеросклеротических бляшек методом ПЦР с использованием вырожденных праймеров не обнаружен. Полученные данные свидетельствуют о перспективности анализа содержания марганца как маркерного элемента в экспресс-диагностике атеросклероза.

Ключевые слова: атеросклероз, супероксид дисмутаза, марганец, ген *sodA*.

Принятые сокращения: АФК - активные формы кислорода, ЛНП - липопротеины низкой плотности, ТМТН - N-(1-гидрокси-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-2-метилпропанамид гидрохлорид, СОД - супероксид дисмутаза, SOD - superoxide dismutase.

* - адресат для переписки

ВВЕДЕНИЕ. Атеросклероз – лидирующая причина смертности в мире и основа широкого спектра заболеваний сердечно-сосудистой системы, среди которых ишемия, стенокардия, инфаркт миокарда и др. В развитие дисфункции клеток стенки сосуда и атерогенез значительный вклад вносит окислительный стресс [1]. Один из ключевых признаков ранней стадии атеросклероза – окисление липопротеинов низкой плотности (ЛНП) [2], осуществляемое, в частности, окислением супероксид радикалом и металлами с переменной валентностью [3, 4]. В образовании супероксида в стенке сосуда могут участвовать ксантиноксидаза, NAD(P)H оксидазы и NO синтазы [5, 6]. Главная опасность супероксид радикала, обладающего слабой реакционной способностью, связана с генерацией более активного гидроксильного радикала из пероксида водорода в реакциях Фентона и Хабера-Вейса [7]. Окисление ЛНП в интиме стенки сосуда предположительно происходит в микродоменах со сниженной антиоксидантной защитой [3]. Окисленные ЛНП, вызывая воспалительные процессы, способствуют генерации супероксида и апоптозу клеток стенки сосуда [8].

Получены свидетельства взаимосвязи изменения содержания некоторых элементов с атерогенезом: так, в стенке здорового сосуда человека содержится меньше железа [9, 10] и меди [10], чем в сосуде, имеющем атеросклеротическое повреждение. Предполагается, что проатерогенная роль этих элементов связана со способностью катионов данных металлов катализировать реакцию Фентона [11].

В стенке сосудов содержится три изоформы супероксиддисмутазы (СОД): цитозольная медь-цинковая СОД (SOD1), марганцевая СОД, локализованная в митохондриях (SOD2), и внеклеточная медь-цинковая СОД (SOD3) [12]. Ионы меди и марганца служат не только кофакторами СОД, но могут быть и потенциальными участниками реакции Фентона. Показано, что медь обладает проатерогенным эффектом [10], в то время как для цинка показана антиатерогенная активность [13, 14]. Что касается марганца, то у мышей с дефицитом SOD2 наблюдалось более быстрое развитие атеросклеротических повреждений [1]. Кроме того, марганец выступает кофактором не только митохондриальной, но и бактериальной марганцевой супероксиддисмутазы (Mn-SOD), обнаруженной у значительного числа прокариот, в том числе и представителей микрофлоры человека [15-23]. Таким образом, роль металлов – кофакторов СОД в атерогенезе неоднозначна.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы стало обнаружение марганца в образцах человеческой аорты с атеросклеротическими повреждениями, анализ его происхождения и роли в атерогенезе.

МЕТОДИКА. Десять образцов стенки аорты, содержащей атеросклеротическое повреждение, получены в результате посмертной экспертизы, согласно требованиям Этического комитета межрегионального клинико-диагностического центра (Казань). Образцы промывали физиологическим раствором и лиофилизировали.

Определение активных форм кислорода (АФК) методом ЭПР. Для определения АФК использован спиновый зонд - циклический гидроксиламин N-(1-гидрокси-2,2,6,6-тетраметилпиперидин-4-ил)-2-метилпропанамид гидрохлорид (TMTH) производства Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова, аналогичный широко применяющимся зондам для определения супероксида по генерации стабильного нитроксильного радикала [24, 25]. Образец бляшки 0,07 г гомогенизировали на диспергаторе ULTRA-TURRAX® Tube Drive (“IKA”, Германия) с одноразовыми стерильными герметично закрывающимися пробирками с элементом “ротатор-статор” (DT-20) в 5 мл стерильного 0,9% NaCl (ОАО “Биосинтез”, Россия) 5 мин при 6000 об/мин. В исследуемый раствор вносили 1 мМ TMTH, спектры ЭПР - регистрировали

в спектрометре ESP-300 ("Bruker", Германия) при комнатной температуре (~25°C), мощности СВЧ излучения 50 мВт, на частоте 9,8 ГГц, амплитуде высокочастотной модуляции 0,5 Гаусс, применяя капилляры объемом 25 мкл ("Sigma", США).

Определение супероксиддисмутазной активности. Определение супероксиддисмутазной активности проводили по снижению содержания супероксид-аниона, генерированного в ксантин-ксантиноксидазной реакции, в присутствии гомогената атеросклеротической бляшки через 3 мин после начала реакции. Ксантин-ксантиноксидазную реакцию начинали внесением 100 мМ ксантина и 0,1 ед. ксантиноксидазы ("Sigma"), за одну единицу активности принято количество фермента, превращающее 1 мкмоль субстрата в минуту.

Выявление возможного участия в реакции Фентона металлов с переменной валентностью в составе атеросклеротической бляшки. Реакция Фентона приводит к генерации гидроксильного радикала из пероксида водорода под действием металлов с переменной валентностью. Участие в ней присутствующих в образцах атеросклеротической бляшки металлов с переменной валентностью устанавливали по образованию продукта реакции, инициированной внесением 0,5 мМ H₂O₂.

Обнаружение парамагнитных центров двухвалентного марганца в образцах атеросклеротических бляшек методом ЭПР. Образцы размером 0,3×0,3×2 мм были исследованы на спектрометре Elexsys 680 ("Bruker") с использованием стационарного режима при гелиевых температурах в W-диапазоне (93,5 ГГц).

*Обнаружение гена *sodA* в образцах атеросклеротических бляшек.* Экстракцию и очистку ДНК из образцов стенки аорты осуществляли, применяя коммерческий набор реагентов "ХЕЛИКОПОЛ" (НПФ "Литех", Россия) согласно инструкции изготовителя. Для амплификации внутреннего фрагмента *sodA_{int}* (480 п.о.), составляющего около 83% *sodA* гена применена пара вырожденных праймеров d1 - 5'-CCITAYICITAYGAYGCIYTIGARCC-3' и d2 - 5'-ARRTARTAIGCRTGYTCCCAIACRTC-3' [19-21]. Полимеразную цепную реакцию проводили в объеме 25 мкл в микропробирках (500 мкл) на программируемом амплификаторе "Терцик" (НПФ "ДНК-Технология", Россия) по следующей программе: 95°C – 3 мин – 1 цикл, 30 циклов (37°C – 1 мин, 72°C – 45 сек, 95°C – 30 сек), 72°C – 10 мин - 1 цикл. Состав реакционной смеси включал следующие компоненты: 10 мМ Tris-HCl (pH 8,7), 50 мМ KCl, 0,1% Твин-20; 2,5 мМ MgCl₂; 0,2 мМ каждого dNTP, 1 ед. *Taq*-полимеразы (НПФ "Литех", Россия), за одну единицу активности принято количество фермента, превращающее 1 мкмоль субстрата в минуту, 30-45 пмоль каждого праймера и 100-150 нг исследуемого образца ДНК. Для предупреждения испарения на поверхность смеси наслаивали 20 мкл минерального масла.

Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК производили в 2% агарозном геле ("Хеликон", Россия) при напряженности электрического поля 5-8 В/см с применением трис-ацетатного буфера (40 мМ трис-ацетат, pH=7,6; 0,02 М ацетат натрия; 0,002 М ЭДТА-Na). О ходе электрофореза судили по миграции бромфенолового синего. В качестве маркера молекулярных масс использовали фрагменты ДНК GeneRules™ 100 b.p. DNA Ladder Plus ("Fermentas", Литва). Результаты документировали с помощью видеосистемы для регистрации гелей "DNA Analyzer" (НПФ "Литех").

РЕЗУЛЬТАТЫ. Большинство образцов атеросклеротических бляшек, полученных в результате посмертной экспертизы, обладают супероксиддисмутазной активностью (рис. 1). Из 10 проанализированных образцов бляшек в семи обнаружена активность СОД. Не обладали активностью СОД три образца, полученные, согласно патологоанатомической экспертизе, на поздних стадиях заболевания. Снижение интенсивности ЭПР сигнала зонда ТМТН свидетельствует, что до 50% супероксид анион-радикала, генерируемого в ксантиноксидазной реакции, подвергается разложению.

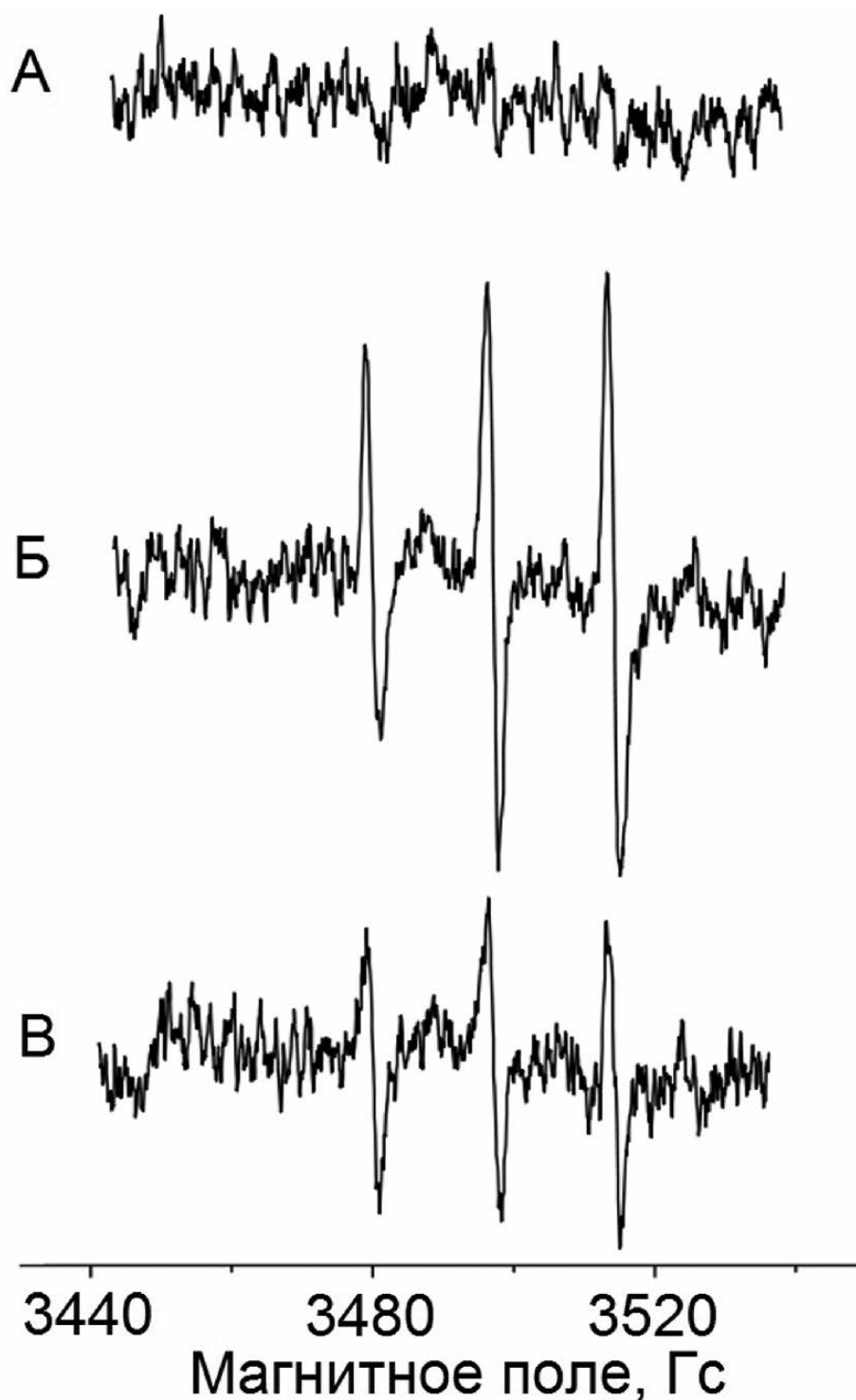


Рисунок 1.

Супероксиддисмутазная активность в гомогенате атеросклеротической бляшки. В качестве супероксид генерирующей системы применена ксантиноксидазная реакция (0,1 ед. ксантиноксидазы, 1 мМ ксантин). По интенсивности спектра ЭПР нитроксильного радикала, образующегося при окислении спинового зонда ТМТН супероксид радикалом, судили о наличии супероксиддисмутазной активности. Спектры ЭПР нитроксильного радикала измерены на частоте 9,8 ГГц при температуре образца 23°C. А - контроль, спектр ЭПР нитроксильного радикала в физиологическом растворе, Б - спектр ЭПР нитроксильного радикала, ксантиноксидазная реакция в физиологическом растворе, В - спектр ЭПР нитроксильного радикала, ксантиноксидазная реакция в гомогенате бляшки.

Добавление пероксида водорода к гомогенату атеросклеротических бляшек приводит к значительному увеличению интенсивности сигнала ЭПР зонда ТМТН и инициации реакции Фентона (рис. 2), что свидетельствует о наличии в бляшке металлов с переменной валентностью в восстановленной форме, необходимых для протекания этой реакции. Все проанализированные образцы оказались способными к запуску реакции Фентона в присутствии пероксида водорода.

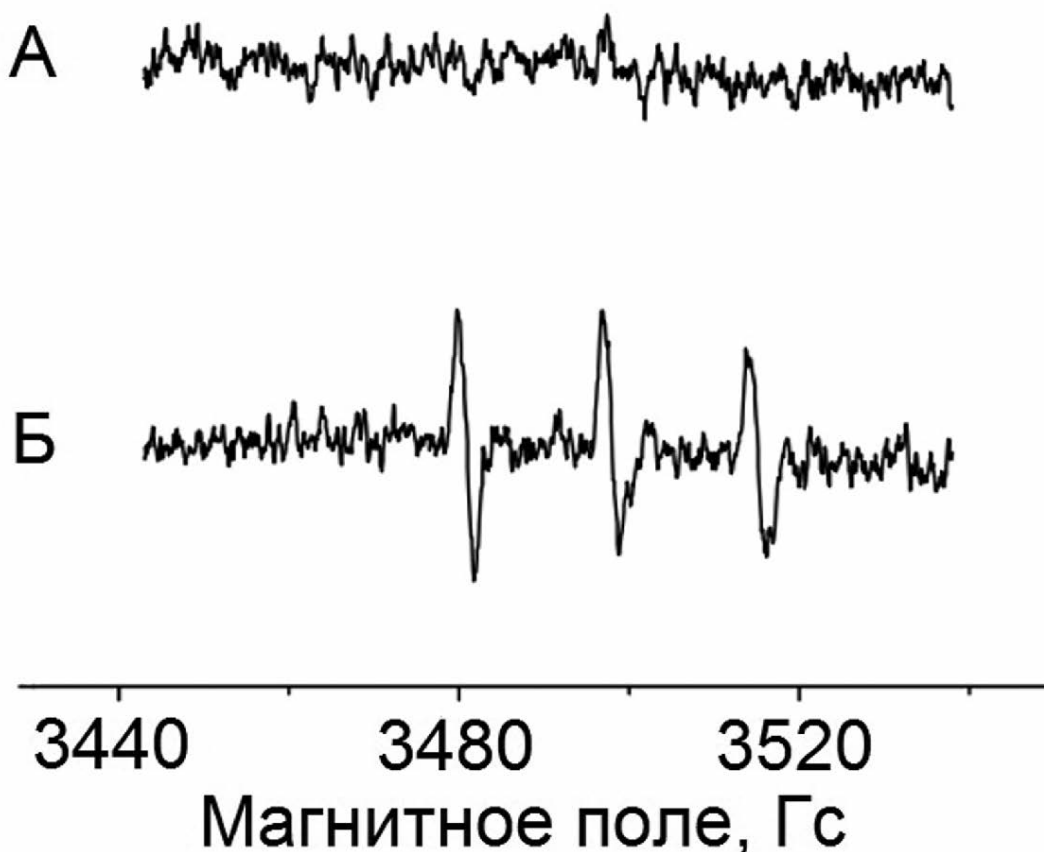


Рисунок 2.

Реакция Фентона в атеросклеротической бляшке.

В гомогенат бляшки вносили 0,5 мМ H_2O_2 , о инициации реакции Фентона судили по интенсивности спектра ЭПР нитроксильного радикала, образующегося при окислении спинового зонда ТМТН гидроксильным радикалом. Спектры ЭПР нитроксильного радикала измерены на частоте 9.8 ГГц при температуре образца 23°C. А - контроль, спектр ЭПР нитроксильного радикала в физиологическом растворе при внесении H_2O_2 , Б - спектр ЭПР нитроксильного радикала, гомогенат бляшки при внесении H_2O_2 .

Во всех исследуемых образцах в W-диапазоне наблюдался ЭПР парамагнитных комплексов двухвалентного марганца (рис. 3). Отметим, что обнаруженные парамагнитные центры марганца связаны именно с кальцифицированным матриксом ткани сосудов, кроме данных рентгеноспектрального анализа об этом свидетельствует наличие парамагнитных комплексов CO_2 -радикала, наблюдаемых в области магнитных полей $g \sim 2$ (рис. 3), характерных для минеральной части кальцифицированных бляшек [26].

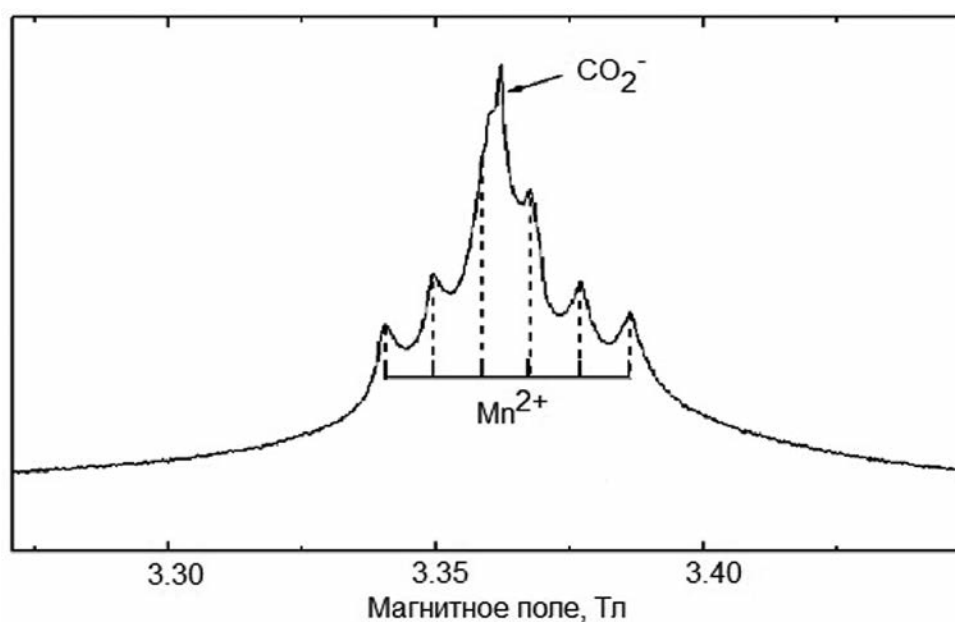


Рисунок 3.

Спектр ЭПР парамагнитных центров двухвалентного марганца в образцах атеросклеротических бляшек, продетектирован по амплитуде первичного эхо; одновременно в области магнитных полей $g \sim 2$ наблюдается спектр ЭПР радикала $\text{CO}_2^{\cdot -}$, возникающий при облучении образцов рентгеновскими лучами, обусловленный кальцифицированной частью атеросклеротической бляшки.

$T=50\text{K}$, W -диапазон (93,5 ГГц). Параметры сверхтонкой структуры марганца $A=9,05$ мТл.

Образцы были исследованы на предмет присутствия гена бактериальной марганцевой супероксиддисмутазы *sodA*. Используемые праймеры не показали взаимодействия с образцом культуры клеток человека HeLa, и однозначно реагировали с ДНК представителей грамположительных (*Bacillus subtilis*) и грамтрицательных (*Escherichia coli*) бактерий. Ни в одном из образцов атеросклеротических бляшек не обнаружен генетический материал, соответствующий бактериальному гену *sodA* (рис. 4).

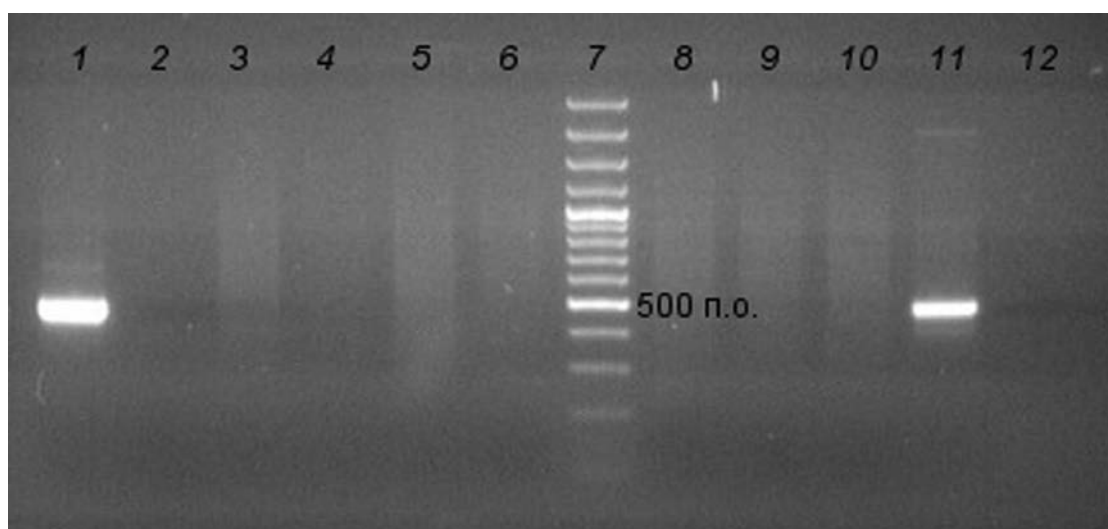


Рисунок 4.

Гель-электрофорез продуктов амплификации праймерами d1/d2 ДНК материала, выделенного из образцов атеросклеротических бляшек. 1 - позитивный контроль *Bacillus subtilis*, 2-6, 8-10 - образцы атеросклеротических бляшек, 7 - маркер молекулярной массы, 11 - позитивный контроль *Escherichia coli*, 12 - Негативный контроль, клетки HeLa.

ОБСУЖДЕНИЕ. На сегодняшний день в литературе значительное внимание уделяется металлам - цинку, железу, меди – содержащимся в стенках кровеносных сосудов, имеющих атеросклеротические повреждения. Так, для цинка установлена антиатерогенная роль [13, 14, 27-29], а для железа и меди – проатерогенная [10, 11, 29]. Проатерогенная роль, возможно, связана с тем, что металлы с переменной валентностью могут участвовать в реакции Фентона [29]. В наших экспериментах получены данные, убедительно свидетельствующие о возможности протекания реакции Фентона в образцах атеросклеротических бляшек (рис. 2). Однако, на сегодня, однозначно классифицировать функции этих металлов в атерогенезе не представляется возможным, поскольку эти элементы одновременно являются кофакторами ферментов антиоксидантной защиты.

Мы экспериментально показали, что образцы атеросклеротических бляшек обладают супероксиддисмутазной активностью, и могут вдвое снижать количество супероксида, генерируемого в ксантиноксидазной реакции (рис. 1). Можно предположить, что активность такого рода приводит к снижению уровня АФК в стенке сосуда и препятствует атерогенезу. При рассмотрении роли СОД Faraci и Didion [12] констатируют, что данных о функциональной активности СОД в стенке кровеносных сосудов очень мало. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что ионы металлов с переменной валентностью в стенке сосуда обладают не только прооксидантной активностью, катализируя реакцию Фентона, но и в качестве кофакторов супероксиддисмутаза участвуют в антиоксидантной защите. Это подтверждает сложность и неоднозначность роли данных металлов в атерогенезе. Особое внимание в литературе уделяется марганцевой супероксиддисмутазе. Хотя её количество составляет лишь 2-12% от суммарного количества СОД в стенке сосуда [12], недавние исследования [30] показали неоспоримую роль митохондриального белка SOD2 в развитии атеросклероза. Снижение активности SOD2 у гетерозиготных SOD2^{+/+} мышей ведёт к раннему развитию атеросклеротических повреждений [1], дефицит SOD2 ведёт к повреждению митохондриальной ДНК и митохондриальной дисфункции клеток стенки сосуда, являясь маркером ранней стадии атеросклероза [30]. Результаты наших исследований показали, что в образцах кальцифицированных атеросклеротических бляшек обнаруживается ЭПР сигнал парамагнитных центров двухвалентного марганца (рис. 3), служащего кофактором митохондриальной SOD2 человека. Можно предположить, что обнаруженная супероксиддисмутазная активность (рис. 1) отчасти связана с SODII. В то же время марганец является кофактором и бактериальной супероксиддисмутазы Mn-SOD [31]. Учитывая значительное количество публикаций о роли бактерий в атерогенезе, в частности, *Chlamydia pneumoniae* [32, 33], *Helicobacter pylori* [33], *Mycobacterium tuberculosis* [34], периодонтальной микрофлоры [35, 36], важно определить, имеет ли отношение бактериальная марганцевая супероксиддисмутаза к ЭПР сигналу марганца в образцах атеросклеротических бляшек.

Ген *sodA*, кодирующий бактериальную марганцевую супероксиддисмутазу обнаружен у широкого круга патогенов человека, как то у представителей родов *Streptococcus* [16, 19, 20, 22, 23], *Enterococcus* [20], *Staphylococcus* [21], *Vibrio* [18], *Haemophilus* [15], *Pasteurella* [17]. Это позволило нам применить для обнаружения гена *sodA* известные вырожденные праймеры [19-21]. Оказалось, что ни один из исследованных образцов не содержит ген *sodA* (рис. 4), что говорит об отсутствии бактериальной марганцевой супероксиддисмутазы в бляшках и позволяет считать бактерии непричастными к природе комплексов двухвалентного марганца, наблюдаемого методом ЭПР.

Комплекс данных о связи пониженной активности марганцевой СОД с атерогенезом, а также стабильность ЭПР-регистрации марганца в кальцифицированных бляшках, вне зависимости от микрофлоры, даёт

возможность считать анализ содержания этого металла в матриксе стенки сосуда одним из перспективных методов диагностики различных стадий атеросклероза.

Работа выполнена при поддержке АБЦП “Развитие научного потенциала высшей школы” (2.1.1/920), государственного контракта №02.740.11.0391 и гранта РФФИ 09-02-97017.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ballinger S.W., Patterson C., Knight-Lozano C.A., Burow D.L., Conklin C.A., Hu Z., Reuf J., Horaist C., Lebovitz R., Hunter G.C., McIntyre K., Runge M.S. (2002) *Circulation*, **106**, 544-549.
2. Berliner J.A., Heinecke J.W. (1996) *Free Radic. Biol. Med.*, **20**, 707-727.
3. Jialal I. (1998) *Clin. Chem.*, **44**, 1827-1832.
4. Evans P., Smith C., Mitchinson M.J., Halliwell B. (1995) *Free Rad. Res.*, **23**, 465-469.
5. Yucel D., Senes M., Topkaya B.C., Oguzhan Z. (2006) *Turkish J. Biochem.*, **31**, 86-95.
6. Shimokawa H., Yasuda S. (2008) *J. Cardiol.*, **52**, 67-78.
7. Benov L. (2001) *Protoplasma*, **217**, 33-36.
8. Galle J., Heermeier K., Wanner C. (1999) *Kidney Int.*, **56**, 62-65.
9. Peltomaa M., Mattila K., Wolf J., Hyvonen-Dabek M. (1991) *Biol. Trace. Elem. Res.*, **34**, 249-255.
10. Stadler N., Lindner R.A., Davies M.J. (2004) *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **24**, 949-954.
11. Brewer G.J. (2007) *Exper. Biol. Med.*, **232**, 323-335.
12. Faraci F.M., Didion S.P. (2004) *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **24**, 1367-1373.
13. Giacconi R., Muti E., Malavolta M., Cipriano C., Costarelli L., Bernardini G., Gasparini N., Mariani E., Saba V., Boccoli G., Mucchegiani E. (2007) *Mol. Med.*, **13**, 388-395.
14. Stadler N., Stanley N., Heeneman S., Vacata V., Daemen M.J.A.P., Bannon P.G., Waltenberg J., Davies M.J. (2008) *Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **28**, 1024-1030.
15. Cattoir V., Lemenand O., Avril J., Gaillot O. (2006) *Int. J. Med. Microbiol.*, **296**, 531-540.
16. Dahl K.H., Sundsfjord A. (2003) *Antimicrob. Agents Chemother.*, **47**, 2579-2583.
17. Gautier A., Dubois D., Escande F., Avril J., Trieu-Cuot P., Gailot O. (2005) *J. Clin. Microbiol.*, **43**, 2307-2314.
18. Kimoto R., Tatsuya F., Yamamoto N., Miyoshi S., Narimatsu S., Yamamoto S. (2001) *Microbiol. Immunol.*, **45**, 135-142.
19. Poyart C., Quesne G., Coulon S., Berche P., Trieu-Cuot P. (1998) *J. Clin. Microbiol.*, **36**, 41-47.
20. Poyart C., Quesne G., Trieu-Cuot P. (2000) *J. Clin. Microbiol.*, **38**, 415-418.
21. Poyart C., Quesne G., Boumalia C., Trieu-Cuot P. (2001) *J. Clin. Microbiol.*, **39**, 4296-4301.
22. Baverud V., Johansson S.K., Aspan A. (2007) *Vet. Microbiol.*, **124**, 219-229.
23. Nomoto R., Kagawa H., Yoshida T. (2008) *Lett. Appl. Microbiol.*, **46**, 95-100.
24. Kozlov A.V., Szalay L., Umar F., Fink B., Kropik K., Nohl H., Redl H., Bahrami S. (2003) *Free Rad. Biol. Med.*, **34**, 1555-1562.
25. Panov A., Dikalov S., Shalbuева N., Taylor G., Sherer T., Greenamyre J.T. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 42026-42035.
26. Абдульянов В.А., Галиуллина Л.Ф., Галявич А.С., Изотов В.Г., Мамин Г.В., Орлинский С.Б., Родионов А.А., Салахов М.Х., Силкин Н.И., Ситдикова Л.М., Хайруллин Р.Н., Чельшев Ю.А. (2008) *Ж. exper. теор. физики*, **88**, 75-79.
27. Ren M., Rajendran R., Ning P., Tan Kwong Huat B., Ong C.N., Watt F., Jenner A., Halliwell B. (2006) *Free. Radic. Biol. Med.*, **41**, 222-225.

28. Ren M.Q., Rajendran R., Pan N., Huat B.T.K., Halliwell B., Watt, F. (2005) Nucl. Instr. Meth. Phys. Res., **231**, 251-256.
29. Watt F., Rajendran R., Ren M.Q., Tan B.K.H., Halliwell B. (2006) Nucl. Instr. Meth. Phys. Res., **249**, 646-652.
30. Madamanchi N.R., Runge M.S. (2007) Circulation, **100**, 460-473.
31. Whittaker J.W. (2003) Biochem. Soc. Transactions, **31**, 1318-1321.
32. Scheller B., Hennen B., Markwirth T., Schieffer H. (2000) J. Clin. Basic. Cardiol., **3**, 155-158.
33. Morre S.A., Stoker W., Lagrand W.K., van den Brule A.J.C., Niessen H.W.M. (2000) J. Clin. Pathol., **53**, 647-654.
34. Rota S., Rota S. (2005) Acta Med. Okayama, **59**, 247-250.
35. Padilla C., Lobos O., Hubert E., Gonzales C., Matus S., Pereira M., Hasbun S. (2006) J. Periodont. Res., **41**, 350-353.
36. Zhang Y., Zhong L., Liang P., Liu H., Mu L., Ai S. (2008), Chin. Med. J., **121**, 1595-1597.

Поступила: 29. 04. 2010.

MANGANESE IN ATHEROGENESIS: DETECTION, ORIGIN, AND ROLE

A.P. Lozhkin¹, T.B. Biktagirov¹, V.A. Abdul'yanov³, O.V. Gorshkov², E.V. Timonina¹, G.V. Mamin¹, S.B. Orlinskii¹, N.I. Silkin¹, V.M. Chernov², R.N. Khairullin³, M.Kh. Salakhov¹, O.N. Ilinskaya¹

¹Kazan State University, ul. Kremlevskaya, 18, Kazan, 420008 Russia; tel.: (843)2387121;
e-mail lozhkinandrey@gmail.com

²Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Scientific Center of RAS,
ul. Lobachevskogo, 2/31, Kazan, 420111 Russia; tel.: (843)2927347

³Interregional Clinical Diagnostic Center, ul. Karbysheva, 12a, Kazan, 420101 Russia; tel.: (843)2911166

The role of transition metal ions in atherogenesis is controversial; they can participate in the hydroxyl radical generation and catalyze the reactive oxygen species neutralization reaction as cofactors of antioxidant enzymes. Using EPR spectroscopy, we revealed that 70% of the samples of aorta with atherosclerotic lesions possessed superoxide dismutase activity, 100% of the samples initiated Fenton reaction and demonstrated the presence of manganese paramagnetic centers. The *sodA* gene encoding manganese-dependent bacterial superoxide dismutase was not found in the samples of atherosclerotic plaques by PCR using degenerate primers. The data obtained indicates the perspectives of manganese analysis as a marker element in the express diagnostics of atherosclerosis.

Key words: atherosclerosis, superoxide dismutase, manganese, *sodA* gene.