

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 577.152.193.01:616.127-005.8

© Коллектив авторов

АКТИВНОСТЬ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ КАК КРИТЕРИЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

*Д.В. Григорьева¹, И.В. Горудко¹, В.А. Костевич^{2,3}, А.В. Соколов^{2,3}, И.В. Буко⁴, В.Б. Васильев²,
Л.З. Полонецкий⁵, О.М. Панасенко^{3*}, С.Н. Черенкевич¹*

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

³НИИ физико-химической медицины, Москва, Россия

119435, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а; тел./факс: +7 (499) 246-44-90; эл. почта: o-panas@mail.ru

⁴Научно-практический центр гигиены, Минск, Беларусь

⁵Республиканский научно-практический центр "Кардиология", Минск, Беларусь

Выявлено достоверное увеличение активности миелопероксидазы (МПО) в плазме крови больных как со стабильной стенокардией, так и с острым коронарным синдромом (ОКС) по сравнению с контрольной группой. Концентрация МПО достоверно увеличена в плазме крови больных с ОКС. Снижение активности МПО в процессе лечения больных с ОКС коррелирует с благоприятным исходом заболевания. Изменение концентрации МПО в целом совпадает с изменением концентрации лактоферрина, что подтверждает роль дегрануляции нейтрофилов в повышении концентрации данных белков в плазме крови. Увеличение активности МПО обусловлено модификацией белковой части молекулы активными формами кислорода и галогенов в мольном соотношении 1:25 и 1:50. Снижение активности МПО, с одной стороны, связано с увеличением в плазме крови активности её физиологического ингибитора – церулоплазмينا, с другой стороны, обусловлено модификацией фермента активными формами кислорода и галогенов в мольном соотношении 1:100 и выше. Показана роль мониторинга активности МПО для оценки эффективности терапии сердечно-сосудистых заболеваний.

Ключевые слова: миелопероксидаза, острый коронарный синдром, пероксидазная активность, нейтрофилы, церулоплазмин, лактоферрин

DOI 10.18097/PBMC20166203318

ВВЕДЕНИЕ

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) относится к числу наиболее значимых сердечно-сосудистых заболеваний, на долю её различных форм приходится приблизительно 2/3 смертей от общего числа летальных исходов по причине сердечно-сосудистых заболеваний [1]. При ИБС в коронарных артериях происходит рост и прогрессирующее развитие атеросклеротических бляшек, которые мешают кровоснабжению миокарда. Во все стадии развития атеросклеротических бляшек вовлечены окислительный стресс и воспаление: от раннего развития дисфункции эндотелия до образования зрелой атеромы и её последующего разрыва [2]. Таким образом, прооксидантные и антиоксидантные ферменты, а также белки острой фазы воспаления могут выступать в качестве биомаркеров, указывающих на риск осложнений ИБС, среди которых следует выделить церулоплазмин, лактоферрин и миелопероксидазу (МПО) [3]. Эти три металлопротеина образуют трёхкомпонентный комплекс, в котором димерная молекула прооксидантной МПО взаимодействует с двумя молекулами её физиологического ингибитора – церулоплазмينا, который, в свою очередь, связан

с активатором его антиоксидантной активности – лактоферрином [4]. Наличие у церулоплазмينا и МПО ферментативной активности выгодно отличает их от других белков острой фазы воспаления, поскольку повышение их концентрации в плазме крови как правило можно зарегистрировать путём измерения активности, не прибегая к более сложным в исполнении иммуноферментным методам. Показано, что определение концентрации (либо активности) церулоплазмينا у больных ИБС эффективно для оценки как развития, так и тяжести воспаления при атеросклерозе. Так, у больных с инфарктом миокарда (ИМ) и нестабильной стенокардией обнаружено снижение концентрации церулоплазмينا, что может отражать активность процессов воспаления и развитие окислительного стресса при остром коронарном синдроме (ОКС) [5]. В последние годы в многочисленных эпидемиологических и клинических исследованиях продемонстрирована взаимосвязь между увеличением концентрации провоспалительного фермента лейкоцитов МПО и риском развития сердечно-сосудистых заболеваний вне зависимости от классических факторов риска развития сердечной недостаточности (тропонины, натрийуретический пептид В-типа) [6]. Так, в работе [7] впервые показана

Принятые сокращения: ИБС – ишемическая болезнь сердца; ИМ – инфаркт миокарда; ОКС – острый коронарный синдром; МПО – миелопероксидаза; ИФА – иммуноферментный анализ.

связь между значительным увеличением концентрации МПО в плазме и прогрессированием ИБС. В исследованиях Mogrow с соавт. [8] концентрация МПО является показателем, определяющим риск возникновения нелетального ИМ или повторной госпитализации при остром ИМ. В работе Brennan с соавт. [9] продемонстрировано клиническое значение МПО как предиктора острого ИМ и летального исхода в последующие 1 и 6 месяцев.

В настоящее время МПО рассматривается в качестве важного участника сердечно-сосудистых заболеваний, поскольку пациенты с наследственным дефицитом МПО не страдают от проявлений атеросклероза [10], а трансгенные мыши со сверхэкспрессией МПО человека демонстрируют типичные признаки атеросклеротических поражений [11]. МПО представляет собой гликопротеин, локализованный, главным образом, в азурофильных гранулах нейтрофилов, а также в моноцитах. МПО высвобождается во внеклеточное пространство при дегрануляции нейтрофилов и циркулирует в кровеносном русле в условиях воспаления. Используя в качестве субстрата H_2O_2 , МПО катализирует окисление галогенидов до гипогалоидных кислот ($HOCl$, $HOBr$ и др.), которые обладают мощным антибактериальным и противовирусным действием. Генерируемые МПО высокореакционные соединения способны к иницированию пероксидации липидов, а также к посттрансляционной модификации белков, включая галогенирование, нитрование и образование поперечных сшивок. Поскольку действие генерируемых МПО окислителей неспецифично, то развитие врожденного иммунного ответа организма сопряжено с повреждением собственных тканей организма при воспалительных процессах [12].

По мнению большинства исследователей, МПО может выступать прогностическим маркером развития ИБС, поэтому важны адекватные методы определения МПО в крови. Разработан иммуноферментный метод количественного определения фермента в крови [13], а также способ определения хлорирующей активности МПО [14]. Однако перечисленные методологические подходы весьма сложны, трудоемки и требуют специального дорогостоящего лабораторного оснащения. Определение же только концентрации МПО не даёт возможность сделать выводы о функционировании фермента в плазме крови. Недавно нами был разработан спектрофотометрический метод определения пероксидазной активности МПО в плазме крови [15]. Такой подход не требует сложного лабораторного оборудования, быстр и прост в исполнении, что делает его удобным для использования в клинической практике. В данной работе мы применили разработанный метод для определения активности МПО в плазме крови больных с ИБС (стабильная стенокардия, нестабильная стенокардия и острый ИМ), а также оценили возможность использования данного параметра для определения эффективности лечения больных с ОКС.

МЕТОДИКА

В работе использовали следующие реактивы: *o*-дианизидин и H_2O_2 получены от фирмы “Sigma-Aldrich” (США); соли, использованные для приготовления буферных растворов, получены от фирм “Реахим” (Россия) и “Белмедпрепараты” (Беларусь).

Измерение пероксидазной активности МПО в плазме крови

Для спектрофотометрического определения пероксидазной активности МПО в плазме в буферный раствор, содержащий 0,2 М Na_2HPO_4 /0,1 М лимонной кислоты (рН 4,5), 100 мкМ H_2O_2 , субстрат *o*-дианизидин (380 мкМ), добавляли 1/13,3 объёма плазмы крови (например, 60 мкл плазмы до объёма образца 800 мкл). Для ингибирования активности МПО в плазму добавляли гидразид 4-аминобензойной кислоты (50 мкМ). Реакцию запускали добавлением 100 мкМ H_2O_2 и в кинетическом режиме в течение 6-8 мин определяли оптическую плотность A_{460} . Измерения проводили при 20°C на спектрофотометре СОЛАР РВ 2201 (Беларусь).

Активность МПО в плазме вычисляли согласно соотношению:

$$A_{\text{МПО}} = (\Delta A/\text{мин} - \Delta A_{\text{инг}}/\text{мин}) \times 13,3,$$

где $\Delta A/\text{мин}$ и $\Delta A_{\text{инг}}/\text{мин}$ – скорость окисления *o*-дианизидина в отсутствие и в присутствии ингибитора, соответственно. Скорость окисления *o*-дианизидина определяли как тангенс угла наклона начального линейного участка кинетической кривой, содержащей минимум шесть экспериментальных точек, по линейной экстраполяции с использованием статистической программы графического редактора Origin 7.0.

Измерение концентрации МПО в плазме крови

Измерение концентрации МПО в плазме крови осуществляли с помощью разработанного ранее [15] оригинального метода иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием антител против МПО, полученных иммунизацией крыс и кроликов.

Определение концентрации лактоферрина в плазме крови

Концентрацию лактоферрина в плазме крови определяли методом ИФА на мультимодальном ридере для планшетов CLARIOstar (“BMG LABTECH”, Германия) с использованием коммерческих наборов ELISA (“Вектор-бест”, Россия).

Определение концентрации церулоплазмина в сыворотке крови

n-Фенилендиамин окисляется церулоплазмином с образованием окрашенного в фиолетовый цвет продукта конденсации с субстратом [16]. Реакционная смесь включала 1,58 мл 0,5 М натрий-ацетатного буфера (рН 5,5), 0,2 мл свежеприготовленного раствора *n*-фенилендиамина (0,5%) и 0,02 мл сыворотки крови. Реакцию проводили при 37°C на водяной бане

в течение 1 ч и затем останавливали, добавляя к пробе 0,2 мл 0,5% NaN_3 . Контрольной пробой служила реакционная смесь с 0,2 мл 0,5% NaN_3 , добавленным до инкубации. Оптическая плотность раствора при 530 нм (A_{530}), измеренная против контрольной пробы, при умножении на коэффициент 87,5 (определённый по зависимости оксидазной активности от концентрации очищенного церулоплазмينا) позволяла рассчитать концентрацию активного церулоплазмينا в тестируемом образце в мг%.

Модификация МПО гипогалоидными кислотами

Для получения МПО, модифицированной НОСІ/НОВг, смешивали равные объёмы растворов МПО с концентрацией 13,8 мкМ и НОСІ/НОВг (172,5-2760 мкМ); смесь инкубировали в течение 2 ч при 23°C. Таким образом, мольное соотношение МПО:НОСІ/НОВг при модификации составляло 1:12,5 – 1:200. Степень модификации МПО контролировали по снижению интенсивности собственной флуоресценции (длина волны возбуждения – 285 нм, испускания – 340 нм), обусловленному деструкцией остатков триптофана в составе белка.

Характеристика лиц, включённых в исследование

Всего в исследование включено 114 пациентов, давших письменное информационное согласие на участие в исследовании. Данное исследование одобрено комитетом по этике Республиканского научно-практического центра “Кардиология” (протокол заседания №2, п. 6 от 13.02.2009 г.) (заключение этической экспертизы № 15/02/09 от 18.02.2009 г.) (Приказ ГУ РНПЦК № 66 от 13.02.2008 г.). Все лица, включённые в исследование, прошли тщательное клинико-инструментальное и лабораторное обследование, включающее эхокардиографию, ультразвуковое исследование брахиоцефальных артерий, суточное мониторирование ЭКГ и артериального давления, при наличии показаний – коронароангиографию. Для проведения данного исследования были сформированы 3 группы: группа I – 39 практически здоровых лиц (средний возраст $44,5 \pm 1,4$ года; женщин 23, мужчин 16); группа II – 20 больных с ИБС, стабильной стенокардией (средний возраст $58,3 \pm 1,3$ лет; 6 женщин, 14 мужчин); группа III – 55 пациентов с ОКС (нестабильная стенокардия и острый ИМ) (средний возраст $55,0 \pm 0,9$ лет; 8 женщин, 47 мужчин).

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакета программ Origin 7.0. Проверку соответствия анализируемых данных нормальному распределению проводили с использованием критерия Колмогорова-Смирнова ($\alpha=0,05$). Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего. Статистическую значимость различий между значениями среднего рассчитывали по критерию Стьюдента. Для определения параметров корреляции использовали критерий Пирсона. Различия считали статистически достоверными

при уровне значимости $p < 0,05$ (с применением поправки Бонферрони для множественных сравнений).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При измерении пероксидазной активности МПО спектрофотометрическим методом достоверное увеличение активности фермента выявлено в плазме крови больных как группы II (стабильная стенокардия), так и группы III (нестабильная стенокардия и острый ИМ) по сравнению с контрольной группой I (рис. 1А). Установлено достоверное увеличение концентрации МПО в плазме крови больных группы III по сравнению как с группой I, так и с группой II (рис. 1Б). Концентрация МПО в плазме крови больных стабильной стенокардией достоверно не отличалась от данного показателя в плазме крови здоровых лиц, составивших контрольную группу. Полученные результаты согласуются с данными работы [17], авторы которой отмечают отсутствие увеличения концентрации МПО в плазме крови при развитии стабильной стенокардии, однако демонстрируют увеличение данного показателя при возникновении осложнений и развитии патологических состояний при ИБС. При изучении взаимосвязи между пероксидазной активностью и содержанием МПО в плазме крови обследованных групп установлено, что достоверная положительная корреляционная зависимость между этими двумя показателями наблюдается как в контрольной группе, так и в группе II. В группе III нами не найдено достоверной корреляционной зависимости между активностью МПО и концентрацией фермента (рис. 1В). Полученные данные могут быть объяснены тем, что при развитии в организме воспалительного процесса активируются различные механизмы, способствующие как увеличению, так и ингибированию активности МПО в плазме крови. Например, известно, что медь-содержащий белок острой фазы воспаления – церулоплазмин – ингибирует пероксидазную и галогенирующую активность МПО [18-20] и, следовательно, может принимать участие в инактивации МПО *in vivo*. Так, выявлено достоверное снижение активного церулоплазмينا в сыворотке крови пациентов с ОКС (группа III) ($26,3 \pm 1,9$ мг%) по сравнению с группой лиц со стабильной стенокардией (группа II) ($32,0 \pm 1,5$ мг%). При исследовании взаимосвязи между удельной активностью МПО (отношение величины пероксидазной активности к концентрации фермента) и концентрацией церулоплазмينا в крови обследованных групп, обнаружена отрицательная корреляция между удельной активностью МПО и активным церулоплазмином в крови пациентов группы III (рис. 2А). В плазме крови больных группы II такая зависимость не выявлена. Полученные данные можно объяснить как снижением активности церулоплазмينا при развитии окислительного стресса, опосредованного, в том числе, активностью МПО, так и инактивацией МПО в присутствии её ингибитора – церулоплазмينا.

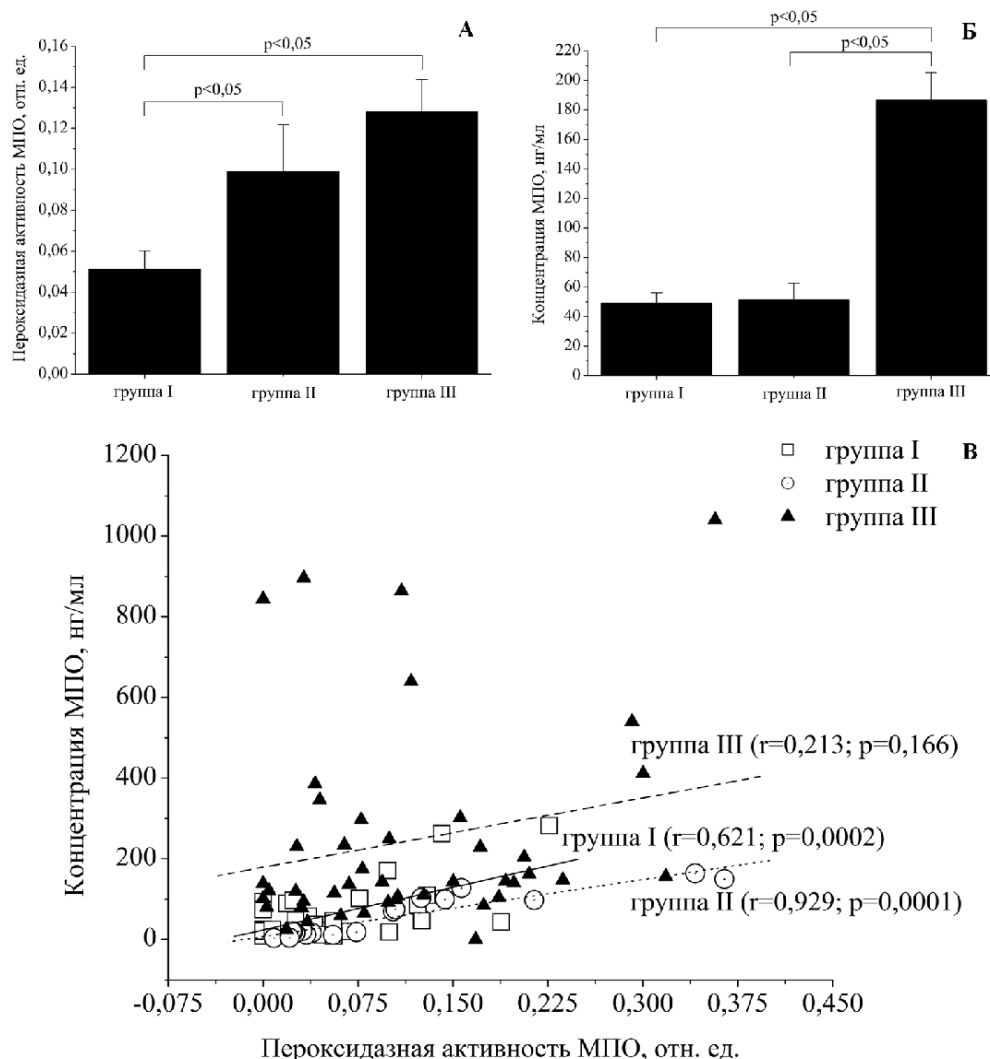


Рисунок 1. Пероксидазная активность (А) и концентрация (Б) МПО в плазме крови контрольной группы (группа I), больных стабильной стенокардией (группа II), а также больных с ОКС (группа III). В - Взаимосвязь между концентрацией МПО в плазме, измеренной с помощью метода ИФА, и пероксидазной активностью МПО, определенной спектрофотометрическим методом, в контрольной группе (группа I), больных стабильной стенокардией (группа II) и больных с ОКС (группа III).

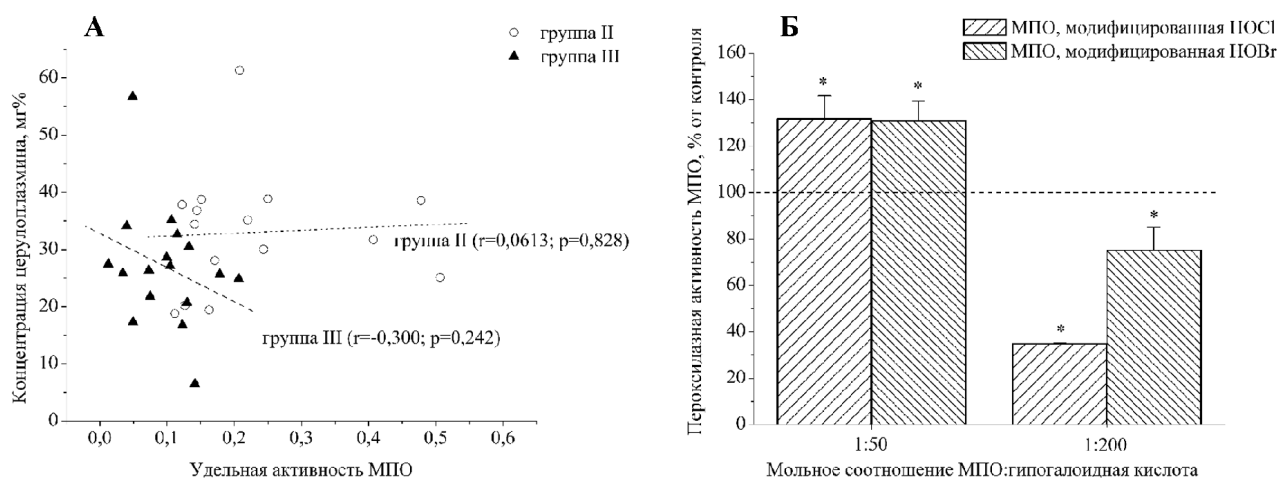


Рисунок 2. а - Взаимосвязь между удельной активностью МПО (отношение величины пероксидазной активности к концентрации фермента) и концентрацией церулоплазмينا в крови больных стабильной стенокардией (группа II) и больных с ОКС (группа III). б - Пероксидазная активность МПО, модифицированной гипогалоидными кислотами (НОСl, НОВr) в мольном соотношении МПО:гипогалоидные кислоты 1:50 и 1:200. За 100% принята пероксидазная активность нативного фермента. * $p < 0,05$, по сравнению с активностью нативного фермента.

Кроме того, одним из механизмов, влияющих на активность МПО, может быть модификация фермента в очагах воспаления активными формами кислорода и галогенов, которые могут образовываться, в том числе, в результате функционирования пероксидазного и галогенирующего цикла самой МПО [21]. Действительно, после модификации фермента хлорноватистой или бромноватистой кислотами в мольном соотношении МПО : гипогалоидная кислота 1:50 пероксидазная активность МПО увеличивалась на 20-35% по сравнению с пероксидазной активностью нативного фермента. После модификации белковой молекулы гипогалогенитами в мольном соотношении МПО : гипогалоидная кислота 1:200 пероксидазная активность МПО снижалась на 25-65% по сравнению с контролем (рис. 2Б). Таким образом, определение активности МПО является важной характеристикой развития окислительного/галогенирующего стресса при различных патологических процессах.

Далее была исследована активность МПО в плазме крови больных с ОКС в процессе лечения. Экспериментальную группу составили 24 пациента с острым ИМ, поступивших в стационар в первые 6 ч и получивших изначально реперфузионную (медикаментозную) терапию (стрептокиназа в сочетании с алпростадиллом), 45-60 мин от момента введения тромболитического агента, подвергшихся процедуре чрескожной ангиопластики/стентирования коронарных артерий для достижения полноценной реперфузии. Данная исследуемая группа была разделена на две подгруппы в зависимости от исхода заболевания: так, подгруппу I составили 15 пациентов с благоприятным исходом, подгруппу II – 9 пациентов с неблагоприятным исходом. При мониторинге динамики изменения активности МПО в плазме крови пациентов с благоприятным исходом (подгруппа I) выявлено её достоверное снижение уже на первые сутки после проведения терапии (рис. 3А), а на седьмые сутки лечения пероксидазная активность МПО в плазме крови больных данной подгруппы была даже ниже, чем в контрольной группе здоровых доноров. Пероксидазная активность МПО в плазме крови больных подгруппы II (пациенты с неблагоприятным исходом) была увеличена и достоверно не уменьшалась на протяжении всего периода лечения (рис. 3А). В сыворотке крови пациентов подгруппы I на седьмой день госпитализации выявлено достоверное увеличение концентрации церулоплазмينا – естественного ингибитора ферментативной активности МПО (рис. 3Б), что, в свою очередь, согласуется с уменьшением пероксидазной активности МПО в плазме крови больных данной подгруппы. У больных с неблагоприятными исходами не выявлено какой-либо определённой тенденции к изменению содержания церулоплазмينا в крови (рис. 3Б). Достоверное уменьшение концентрации МПО в плазме крови пациентов подгруппы I выявлялось только на третьи сутки после проведения терапии, при этом концентрация фермента в плазме крови больных подгруппы II не изменялась на протяжении всего периода лечения (рис. 3В). Полученные нами данные свидетельствуют о том, что определение активности

МПО в плазме крови является адекватным критерием эффективности проводимой терапии при ИБС.

У этих же больных была также исследована динамика изменения другого маркера воспаления – лактоферрина, свидетельствующего об активации нейтрофилов. В отличие от пациентов I подгруппы, для которых было характерно монотонное снижение концентрации лактоферрина (рис. 3Г), у пациентов II подгруппы концентрация белка на седьмые сутки была практически равна исходной (рис. 3Г). В целом изменение концентрации лактоферрина у пациентов II подгруппы повторяет изменение концентрации МПО. Обнаруженная нами достоверная положительная корреляционная зависимость между концентрацией МПО и лактоферрина в плазме крови пациентов с нестабильной стенокардией и острым ИМ (рис. 3Д) свидетельствует об активации дегрануляции, соответственно, азурофильных и специфических гранул нейтрофилов. Полученные результаты согласуются с данными литературы, свидетельствующими о том, что лактоферрин является белком, обладающим как про-, так и противовоспалительными свойствами. Так, насыщенный железом лактоферрин способствует образованию супероксидного анион-радикала и продукции таких провоспалительных молекул, как оксид азота, фактор некроза опухолей- α и интерлейкин-8, а также способен активировать иммунные клетки (усиливать фагоцитарную клеточную активность, направлять лейкоциты в очаги воспаления) [22]. В то же время, апо-форма лактоферрина, связывая ионы потенциально токсичного железа, проявляет антиоксидантное действие, предотвращая пероксидацию липидов, тем самым сохраняя целостность мембраны и предохраняя клетку от нарушения процессов жизнедеятельности [22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что определение пероксидазной активности МПО в плазме крови является не менее важным и информативным показателем для диагностики (хроническая ИБС) и оценки течения острого ИМ и риска развития последующих осложнений, чем, например, определение концентрации данного фермента в крови. Выявление в плазме крови активности МПО является адекватным прогностическим показателем, характеризующим эффективность проводимой терапии у больных с ОКС, а также может быть использовано для разработки новых методов лечения ИБС. Следует отметить, что для оценки функций МПО при воспалительных заболеваниях необходимо как определение активности МПО, так и концентрации фермента в плазме крови, поскольку в организме существуют различные механизмы, регулирующие данные показатели. Как показано в данной работе, при модификации МПО в условиях возникновения окислительного/галогенирующего стресса каталитическая активность фермента может как повышаться, так и снижаться, регулируя, тем самым, ход воспалительного процесса.

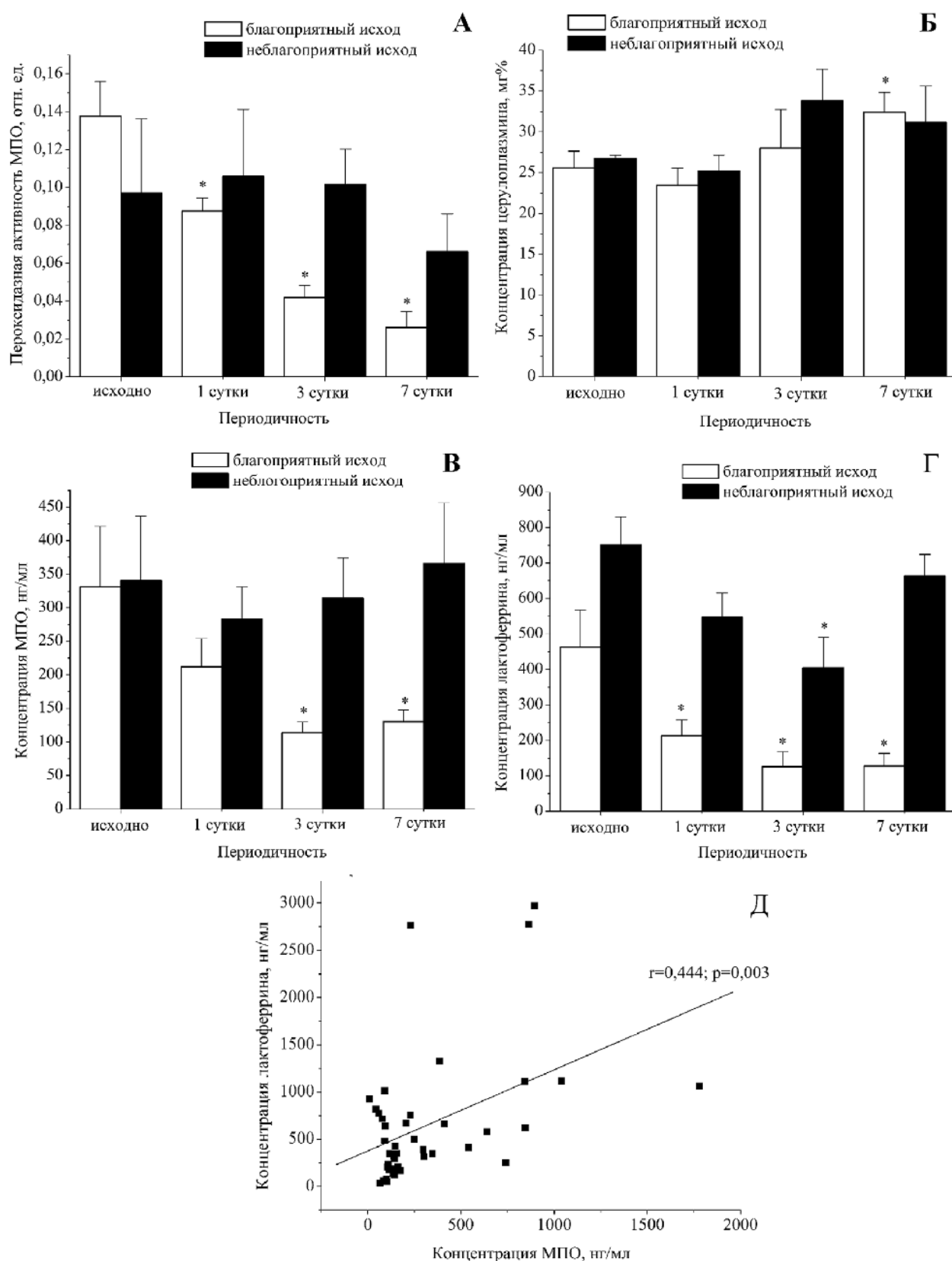


Рисунок 3. Динамика изменения пероксидазной активности МПО (А), концентрации церулоплазмينا (Б), МПО (В) и лактоферрина (Г) в крови пациентов с острым ИМ в подгруппе I (благоприятный исход) и подгруппе II (неблагоприятный исход) на протяжении периода терапии.* $p<0,05$ по сравнению с измеряемыми показателями до проведения терапии (исходное состояние). Д - Взаимосвязь между концентрацией МПО и лактоферрина в плазме крови больных с ОКС (группа III).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 15-34-50014, 14-04-90007, 15-04-03620) и БРФФИ (гранты № Б14Р-035, Б16Р-015).

Коллектив авторов выражает благодарность доктору мед. наук Н.Л. Цапаевой и канд. мед. наук Е.Э. Константиновой за клиническое обследование условно здоровых доноров и пациентов и предоставление материала для исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Schindhelm R.K., van der Zwan L.P., Teerlink T., Scheffer P.G. (2009) *Clinical Chemistry*, **55**, 1462-1470.
2. Nicholls S.J., Hazen S.L. (2005) *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **25**, 1102-1111.
3. Samygina V.R., Sokolov A.V., Bourenkov G., Petoukhov M.V., Pulina M.O., Zakharova E.T., Vasilyev V.B., Bartunikh H., Svergun D.I. (2013) *PLoS One*, **8**, e67145.
4. Sokolov A.V., Zakharova E.T., Kostevich V.A., Samygina V.R., Vasilyev V.B. (2014) *Biometals*, **27**, 815-828.
5. Wilson Tang W.H., Wu Y., Hartiala J., Fan Y., Stewart A.F.R., Roberts R., McPherson R., Fox P.L., Allayee H., Hazen S.L. (2012) *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **32**(2), 516-522.
6. Wu A.H.B. (2009) *Clinical Chemistry*, **55**(1), 12-14.
7. Zhang R., Brennan M.L., Fu X., Aviles R.J., Pearce G.L., Penn M.S., Topol E.J., Sprecher D.L., Hazen S.L. (2001) *J. Amer. Med. Assoc.*, **286**, 2136-2142.
8. Morrow D.A., Sabatine M.S., Brennan M.-L., de Lemos J., Murphy S.A., Ruff C.T., Cannon C.P., Hazen S.L. (2008) *European Heart J.*, **29**(9), 1096-1102.
9. Brennan M.L., Penn M.S., van Lente F., Nambi V., Shishehbor M.H., Aviles R.J., Goormastic M., Pepoy M.L., McElean E.S., Topol E.J., Nissen S.E., Hazen S.L. (2003) *N. Engl. J. Med.*, **349**, 1595-1604.
10. Zhang R., Shen Z., Nauseef W.M., Hazen S.L. (2002) *Blood*, **99**, 1802-1810.
11. Castellani L.W., Chang J.J., Wang X., Lusis A.J., Reynolds W.F. (2006) *J. Lipid Res.*, **47**, 1366-1377.
12. van der Veen B.S., de Winther M.P., Heeringa P. (2009) *Antioxidants & Redox Signaling*, **11**, 2899-2939.
13. Sokolov A.V., Ageeva K.V., Cherkalina O.S., Pulina M.O., Zakharova E.T., Prozorovskii V.N., Aksenov D.V., Vasilyev V.B., Panasenکو O.M. (2010) *Chemistry and Physics of Lipids*, **163**(4-5), 347-355.
14. Dybukt J.M., Bishop C., Brooks W.M., Thong B., Eriksson H., Kettle A.J. (2005) *Free Rad. Biol. Med.*, **39**, 1468-1477.
15. Горудко И.В., Черкалина О.С., Соколов А.В., Пулина М.О., Захарова Е.Т., Васильев В.Б., Черенкевич С.Н., Панасенко О.М. (2009) *Биоорганическая химия*, **35**, 629-639.
16. Ravin H.A. (1961) *J. Lab. Clin. Med.*, **58**, 161-168.
17. Dominguez-Rodriguez A., Abreu-Gonzalez P. (2011) *Exp. Rev. Cardiovasc. Ther.*, **9**(2), 223-230.
18. Sokolov A.V., Kostevich V.A., Zakharova E.T., Samygina V.R., Panasenکو O.M., Vasilyev V.B. (2015) *Free Radical Res.*, **49**(6), 800-811.
19. Панасенко О.М., Чеканов А.В., Власова И.И., Соколов А.В., Агеева К.В., Пулина М.О., Черкалина О.С., Васильев В.Б. (2008) *Биофизика*, **53**, 573-581.
20. Sokolov A.V., Ageeva K.V., Pulina M.O., Cherkalina O.S., Samygina V.R., Vlasova I.I., Panasenکو O.M., Zakharova E.T., Vasilyev V.B. (2008) *Free Radical Res.*, **42**(11-12), 989-998.
21. Панасенко О.М., Горудко И.В., Соколов А.В. (2013) *Успехи биологической химии*, **53**, 195-244.
22. García-Montoya I.A., Cendón T.S., Arévalo-Gallegos S., Rascón-Cruz Q. (2012) *Biochimica et Biophysica Acta*, **1820**, 226-236.

Поступила: 29. 07. 2015.
Принята к печати: 17. 04. 2016.

MYELOPEROXIDASE ACTIVITY IN BLOOD PLASMA AS A CRITERION OF THERAPY FOR PATIENTS WITH CARDIOVASCULAR DISEASE

D.V. Grigorieva¹, I.V. Gorudko¹, V.A. Kostevich^{2,3}, A.V. Sokolov^{2,3}, I.V. Buko⁴, V.B. Vasilyev²,
L.Z. Polonetsky⁵, O.M. Panasenکو³, S.N. Cherenkevich¹

¹Belarusian State University, Minsk, Belarus

²Institute for Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia

³Research Institute of Physical-Chemical Medicine,

1a Malaya Pirogovskaya str., Moscow, 119435 Russia; tel./fax: 7(499)246-44-90; e-mail: o-panas@mail.ru

⁴Scientific practical centre of hygiene republican unitary enterprise, Minsk, Belarus

⁵Republican Science-Practical Center of Cardiology, Minsk, Belarus

A significant increase in the myeloperoxidase (MPO) activity has been found in plasma of patients with stable angina and with acute coronary syndrome (ACS) in comparison with the control group. MPO concentration was significantly increased in plasma of ACS patients. Reduced MPO activity in the treated ACS patients correlated with a favorable outcome of the disease. Generally, changes in plasma MPO concentration coincided with changes in lactoferrin concentration thus confirming the role of neutrophil degranulation in the increase of plasma concentrations of these proteins. The increase in MPO activity was obviously determined by modification of the MPO protein caused by reactive oxygen species and halogen in the molar ratio of 1 : 25 and 1 : 50. The decrease in plasma MPO activity may be associated with increased plasma concentrations of the physiological inhibitor of its activity, ceruloplasmin, and also with modification of the MPO protein with reactive oxygen species and halogen at their molar ratio of 1 : 100 and higher. Thus, MPO activity may be used for evaluation of effectiveness of the treatment of cardiovascular diseases.

Key words: myeloperoxidase, acute coronary syndrome, peroxidase activity, neutrophils, ceruloplasmin, lactoferrin