

# ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ В НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТАХ У БОЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

## THE VALUE OF DETERMINING THE ACTIVITY OF MYELOPEROXIDASE IN NEUTROPHILIC LEUKOCYTES IN PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS

**M. Attaeva**  
**V. Vasilenko**  
**M. Gurizheva**  
**R. Medialiyeva**  
**I. Almova**

*Summary.* Objective: to study the activity of myeloperoxidase in neutrophilic leukocytes in patients with atherosclerosis.

*Materials and methods:* 98 patients with atherosclerosis (mean age —  $55.8 \pm 6.6$  years) were examined in dynamics (1–2 days of inpatient treatment, 10–11 days of therapy). They were divided into 3 groups: the first 37 patients with arterial hypertension (average age —  $56.3 \pm 5.9$  years), the second — 38 patients with stable angina of II–III functional class (mean age of  $53.4 \pm 3.6$  years) and the third 23 patients with myocardial infarction and stroke (mean age  $57.6 \pm 7.2$  years). 32 healthy people (mean age —  $52.2 \pm 7.1$  years) were observed as a comparison group. For cytochemical study of the activity of myeloperoxidase used the method of Sato and Selkija. Quantitative expression of leukocyte MPO activity was carried out according to the Kaplow principle.

*Research result.* In patients with arterial hypertension on the background of atherosclerosis revealed a significant increase in the activity of intraleukocytic enzyme at all times of observation. The highest rates of activity were observed during hospitalization —  $233 \pm 2.1$  CONV.units. On the background of therapy was observed a marked decrease in the activity of the enzyme in neutrophilic leukocytes —  $224 \pm 1.8$  CONV.at angina pectoris, a significant increase in the activity of myeloperoxidase in neutrophilic leukocytes was found in all terms of examination —  $237 \pm 1.6$  and  $225 \pm 0.9$  усл.ед. In the examined patients with acute myocardial infarction and cerebral circulation disorders, a significant increase in the activity of the intraleukocytic enzyme was revealed both in the first days of the disease and by the end of the second week.

*Conclusion.* Myeloperoxidase activity in neutrophils is one of the markers of atherosclerotic activity, promising diagnostic and prognostic indicators for various manifestations of atherosclerosis. The revealed differences in the indicators of myeloperoxidase activity in patients with hypertension, angina pectoris, myocardial infarction and acute cerebrovascular accident can be used as an additional criterion in the diagnosis of these diseases and the effectiveness of treatment.

*Keywords:* neutrophilic leukocytes, myeloperoxidase, atherosclerosis, arterial hypertension

**Аттаева Мадина Жамаловна**

К.м.н., доцент, Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова  
 m.attaeva@yandex.ru

**Василенко Владислав Михайлович**

К.м.н., доцент, Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова  
 vlad.vmv@yandex.ru

**Гурижева Мадина Валериановна**

К.м.н., ассистент, Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова

**Медиадиева Римма Хачимовна**

К.м.н., доцент, Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова

**Альмова Ирина Хаджиисмаиловна**

К.м.н., доцент, Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х. М. Бербекова  
 almovairina@mail.ru

*Аннотация.* Цель исследования: изучение активности миелопероксидазы в нейтрофильных лейкоцитах у больных атеросклерозом.

*Материал и методы исследования:* были обследованы в динамике (1–2 день стационарного лечения, 10–11 день терапии) 98 больных атеросклерозом (средний возраст —  $55,8 \pm 6,6$  лет). Они были разделены на 3 группы: первая — 37 пациентов с артериальной гипертонией (средний возраст —  $56,3 \pm 5,9$  лет), вторая — 38 больных со стабильной стенокардией напряжения II–III функционального класса (средний возраст —  $53,4 \pm 3,6$  года) и третья — 23 пациента с инфарктом миокарда и ОНМК (средний возраст  $57,6 \pm 7,2$  лет). В качестве группы сравнения наблюдались 32 здоровых человека (средний возраст —  $52,2 \pm 7,1$  года). Для цитохимического исследования активности миелопероксидазы использован метод Sato и Selkija. Количественное выражение активности МПО лейкоцитов проведено по принципу Kaplow.

*Результаты исследования.* У больных с артериальной гипертонией на фоне атеросклероза выявлено существенное повышение активности интралейкоцитарного фермента во все сроки наблюдения. Максимально высокие цифры активности отмечались при госпитализации —  $233 \pm 2,1$  усл.ед. На фоне терапии наблюдалось заметное снижение активности фермента в нейтрофильных лейкоцитах —  $224 \pm 1,8$  усл.ед. При стенокардии напряжения обнаружено достоверное повышение активности миелопероксидазы в нейтрофильных лейкоцитах во все сроки обследования —  $237 \pm 1,6$  и  $225 \pm 0,9$  усл.ед. У обследованных больных с острым инфарктом миокарда и нарушением мозгового кровообращения выявлено значительное повышение активности интралейкоцитарного фермента как в первые дни заболевания, так и к концу второй недели.

*Заключение.* Активность миелопероксидазы в нейтрофилах является одним из маркеров активности атеросклеротического процесса, перспективным диагностическим и прогностическим показателем при различных проявлениях атеросклероза. Выявленные различия показателей активности миелопероксидазы у больных с артериальной гипертонией, стенокардией напряжения, инфарктом



### Список сокращений

АГ — артериальная гипертензия, МПО — миелопероксидаза, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, ИМ — инфаркт миокарда, NO — оксид азота

**А**теросклероз продолжает оставаться самой частой причиной смерти и инвалидности трудоспособного населения развитых стран. Несмотря на существенный прогресс в изучении атеросклероза, ряд ключевых звеньев этого процесса продолжают оставаться недостаточно ясными. В основном это относится к внутриклеточным механизмам развития атеросклеротического процесса, которые связывают с воспалительными изменениями в стенке сосудов [1, 2]. В настоящее время все больше внимания стали уделять изучению роли нейтрофилов в процессе атерогенеза, как наиболее многочисленной популяции лейкоцитов [2, 3, 4]. Обнаружено, что нейтрофилы в условиях тесного межклеточного контакта и/или стимуляции провоспалительными цитокинами, могут синтезировать и высвобождать белки и пептиды, связывающие холестерин [5, 6].

Вместе с тем сохраняется потребность в маркерах, с помощью которых могли бы предположить индивидуальный риск развития осложнений атеросклероза. Инфаркт миокарда (ИМ) и острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) как проявления нестабильности атеросклеротической бляшки являются наиболее опасными осложнениями атеросклероза, несмотря на повсеместное внедрение различных высокотехнологичных стратегий лечения. Исследования последних лет указывают, что одним из таких маркеров может являться миелопероксидаза (МПО) [7, 8, 9, 10]. В связи с этим нам представлялось интересным изучить ферментативную активность нейтрофилов при различных проявлениях атеросклеротического процесса.

### Цель исследования

Изучение активности МПО в нейтрофильных лейкоцитах у больных атеросклерозом.

### Материал и методы исследования

Были обследованы в динамике (1–2 день стационарного лечения, 10–11 день терапии) 98 больных атеро-

миокарда и острым нарушением мозгового кровообращения могут использоваться как дополнительный критерий в дифференциальной диагностике этих заболеваний и эффективности лечения.

*Ключевые слова:* нейтрофильные лейкоциты, миелопероксидаза, атеросклероз, артериальная гипертензия.

склерозом (средний возраст —  $55,8 \pm 6,6$  лет). Они были разделены на 3 группы: первая — 37 пациентов с артериальной гипертензией (средний возраст —  $56,3 \pm 5,9$  лет), вторая — 38 больных со стабильной стенокардией напряжения II–III функционального класса (средний возраст —  $53,4 \pm 3,6$  года) и третья — 23 пациента с ИМ (13 больных) и ОНМК (10 больных) (средний возраст  $57,6 \pm 7,2$  лет). В качестве группы сравнения обследованы 32 здоровых человека (средний возраст —  $52,2 \pm 7,1$  года). Существенных статистических отличий по половому и возрастному составу между группами обследования и сравнения не было. Всем пациентам проведено клиническое и инструментальное обследование в соответствии со стандартами при артериальной гипертензии (АГ), ишемической болезни сердца, ОНМК. Больные получали комплексную гипотензивную, антиишемическую, гиполипидемическую терапию (ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, бета-адреноблокаторы, антагонисты кальция, диуретики, статины), при необходимости — метаболические средства, ноотропы.

Следует отметить, что из исследования исключались больные с обострением хронической инфекции (пиелонефрит, бронхит), у которых имелись или развились явления ОРВИ, гипертермия любой этиологии. Также критерием отбора служило отсутствие хронической сердечной недостаточности. Для цитохимического исследования активности миелопероксидазы использован метод Sato и Selkija. Количественное выражение активности МПО лейкоцитов проведено по принципу Karlow. Статистическая обработка данных проведена с помощью пакета прикладных программ Statistica 10. Для сравнения обследованных групп были использованы методы параметрической статистики: Т-тест для независимых (для оценки различий между группами) и зависимых выборок (для оценки изменений в динамике).

### Результаты исследования и их обсуждение

МПО нейтрофильных лейкоцитов является важной составной частью сложной защитной системы организма. Активно участвуя в окислительно — восстановительных процессах в организме, МПО подвержена влиянию очень многих факторов, определяющих ее активность как в нормальных условиях, так и при патологических состояниях.

Таблица 1. Активность миелопероксидазы в нейтрофильных лейкоцитах у больных с атеросклеротической артериальной гипертонией (усл.ед.)

Группа обследованных	n	Xmin-Xmax	M±m	S	P	P1
Здоровые	32	185–219	206±1,1	7,1		
Больные с атеросклеротической АГ	1–2 день	29	213–257	233±2,1	10,3	<0,001
	10–11 день	28	207–249	224±1,8	9,9	<0,001

Примечание: P- достоверность различий по отношению к здоровым обследованным; P1- достоверность различия по отношению к 1–2 дню исследования;

Таблица 2. Активность миелопероксидазы в нейтрофильных лейкоцитах у больных стабильной стенокардией напряжения (усл.ед.)

Группа обследованных	n	Xmin-Xmax	M±m	S	P	P1	P2
Здоровые	32	185–219	206±1,0	7,1			
Больные стенокардией напряжения	1–2 день	29	197–257	237±1,6	12,3	<0,001	<0,05
	10–11 день	28	203–241	225±0,9	7,6	<0,001	<0,001

Примечание: P- достоверность различий по отношению к здоровым обследованным; P1- достоверность различий по отношению к 1–2 дню исследования; P2- достоверность различий по отношению к больным с артериальной гипертонией.

В результате проведенного исследования установлены пределы колебаний показателей как активности МПО лейкоцитов (185–219 усл.ед.), так и процента пероксидазоположительных клеток (97,5%) у здоровых лиц. Причем, у 1/3 нейтрофилов выявлена высокая активность МПО, у 38,5% клеток — умеренная, у 27,0% — низкая, а у 2,5% лейкоцитов не обнаружена положительная реакция на фермент.

В последнее время появление и прогресс атеросклеротического поражения сосудов связывают как с воздействием на сосудистую стенку липопротеидов низкой плотности, так и с развитием воспалительного процесса в артерии [1, 2, 3, 4, 5]. Атеросклероз ассоциируется с хроническим воспалительным процессом, характеризующимся аккумуляцией липидов, воспалительных клеток и некротического материала в артериальной стенке [2, 3]. Большой интерес ученых вызывает идентификация ключевых факторов, способствующих данному процессу.

Недавно в литературе появились данные о существенной роли в атерогенезе фермента, секретируемого лейкоцитами — МПО [5, 7, 10]. Она образует важную часть антимикробной активности фагоцитов, которая обеспечивает врожденный неспецифический иммунитет. Вместе с тем установлено, что МПО трансформирует липопротеиды низкой плотности в «атерогенную» форму, что способствует развитию ранних атеросклеротических поражений сосудов. За счет расходования эндогенного оксида азота (NO) в качестве субстрата МПО может участвовать в возникновении дисфункции эндотелия — одного из ранних изменений атерогенеза и характеризующейся развитием патологической сосудистой реактивности и проявлением различных протромботических и провоспалительных

факторов. Было показано, что МПО повышает катаболизм NO в период ишемии и реперфузии миокарда [3, 7].

При цитохимическом изучении активности МПО в нейтрофилах у больных с АГ на фоне атеросклероза нами выявлено существенное повышение активности интралейкоцитарного фермента во все сроки наблюдения. Максимально высокие цифры активности МПО отмечались при госпитализации. На фоне терапии наблюдалось заметное снижение активности фермента в нейтрофильных лейкоцитах, но отсутствовала полная нормализация цитохимических показателей (таблица 1).

Большой интерес для клиницистов представляет также состояние нейтрофильного звена иммунитета у больных ишемической болезнью сердца. Полученные нами результаты подтверждают однонаправленность цитохимических изменений у больных с артериальной гипертонией и ишемической болезнью сердца, т.е. при стабильной стенокардии напряжения, как и при АГ, обнаружено достоверное повышение активности миелопероксидазы в нейтрофильных лейкоцитах во все сроки обследования (таблица 2).

Однако тенденция к нормализации цитохимических показателей у больных ИБС была более выражена, чем у пациентов с артериальной гипертонией. Между показателями активности интралейкоцитарного фермента у больных АГ и стенокардией напряжения на момент поступления в стационар обнаружена достоверная разница. На фоне терапии миелопероксидазная активность гранулоцитов у больных ИБС и АГ не имела существенной разницы (таблица 2). Вероятно, это связано с воспалительным процессом в коронарных сосудах при деста-

Таблица 3. Активность миелопероксидазы лейкоцитов у больных инфарктом миокарда и острым нарушением мозгового кровообращения (усл.ед.)

Группа обследованных	n	Xmin-Xmax	M±m	S	P	P1	P2
Здоровые	32	185–219	206±1,0	7,1			
Больные ИМ	1–2 день	13	242–264	257±1,8	6,6	<0,001	<0,001
	10–11 день	12	232–252	244±1,9	6,8	<0,001	<0,001
Больные ОНМК	1–2 день	10	232–258	254±2,5	7,8	<0,001	<0,001
	10–11 день	10	230–254	243±2,4	7,8	<0,001	<0,05
Всего	1–2 день	23	232–264	255±1,7	8,3	<0,001	<0,001
	10–11 день	22	230–254	244±1,2	6,3	<0,001	<0,001

Примечание: P- достоверность различий по отношению к здоровым обследованным; P1- достоверность различий по отношению к 1–2 дню исследования; P2- достоверность различий по отношению к больным с артериальной гипертензией.

билизации атеросклеротических бляшек у больных ИБС и, следовательно, повышением функциональной активности нейтрофильных лейкоцитов.

Миелопероксидаза образует гипохлорит-анион. Этот гипохлорит-анион, будучи сильным окислителем, обладает неспецифическим бактерицидным действием. Однако, при многих воспалительных заболеваниях (фиброз, ревматоидный артрит) нейтрофильная МПО может вызывать повреждение ткани. За последние годы накоплено большое количество данных о том, что МПО играет важную роль в опосредованном лейкоцитами повреждении сосудов при воспалительных сосудистых заболеваниях, таких как атеросклероз [6, 7, 8].

Нами в динамике исследована активность МПО в нейтрофильных гранулоцитах у 23 больных с острыми сосудистыми нарушениями, из них у 13 обследованных был ИМ, у 10 — ОНМК. У всех обследованных больных острой сосудистой патологии предшествовала АГ. Было выявлено значительное повышение активности интралейкоцитарного фермента в первые дни заболевания у всех больных. Изучение внутриклеточного фермента к концу второй недели стационарного лечения показало, что его активность превышает норму у абсолютного большинства больных (19 из 22 обследованных) в среднем на 50–60 единиц, но наблюдается тенденция к снижению в сравнении с предыдущим исследованием (таблица 3). Полученные результаты в целом совпадают с данными мировой литературы [8, 9].

При рассмотрении двух отдельных подгрупп больных ИМ и ОНМК не выявлено достоверного различия в уровне активности миелопероксидазы нейтрофильных лейкоцитов. Не обнаружено также существенной разницы в степени активности внутрилейкоцитарного фермента в зависимости от длительности артериаль-

ной гипертензии, предшествовавшей инфаркту миокарда и ОНМК.

Обобщая результаты, полученные при изучении показателей активности миелопероксидазы в нейтрофильных лейкоцитах у больных с артериальной гипертензией, стенокардией напряжения и острыми сосудистыми событиями, можно констатировать, что при всех осложнениях атеросклероза имеет место достоверное повышение активности МПО в лейкоцитах по сравнению с нормой, причем у больных с ИМ и ОНМК он значительно превышает таковой у больных стенокардией напряжения и артериальной гипертензией.

Основная функция МПО в организме — защита от внешних инфекций. Но в ряде случаев она может быть причиной повреждения собственных тканей организма в очагах воспаления [1,5]. Как показатель активности нейтрофилов, МПО может служить маркером интенсивности воспалительных процессов.

Продуктами реакций, катализируемых МПО, являются сильные окислители (например, гипохлорит), производные азота и свободные радикалы, которые сами могут вызывать перекисное окисление липидов [1] и модификацию белков (галогенирование, нитрирование, окисление и образование сшивок) [2, 6]. Исследования *invitro* и *invivo* показали, что МПО взаимодействует с сосудистой стенкой посредством различных механизмов, включая связывание и транцитоз через эндотелиальные клетки, продукцию сильных окислителей — гипогалоидных кислот, окисление NO и нитрование тирозина [8]. Предполагают, что МПО может проходить через эндотелиальный барьер с помощью транцитоза, медиатором которого, по-видимому, является альбумин. В субэндотелии МПО вызывает модификацию белков внеклеточного матрикса, приводит к ремоделированию тканей в области воспаления [3, 6, 8].

Отмечено, что повышенный системный уровень МПО (содержание в нейтрофилах и в кровотоке) ассоциируется с наличием коронарных артериальных заболеваний и может увеличивать риск развития неблагоприятных кардиологических событий (инфаркт миокарда, внезапная смерть и др.) у больных со стенокардией напряжения и острым коронарным синдромом [8, 9]. Кроме того, повышенный уровень МПО может способствовать развитию атеросклероза, системных васкулитов различной этиологии, многих воспалительных процессов хронического течения [7, 9].

Таким образом, ни одно из изменений внутренней среды организма не остается без участия нейтрофильных лейкоцитов. Высокая скорость обновления нейтрофилов крови придает особую информативность цитохимическим исследованиям, позволяет прицельно изучать динамику патологического процесса, прогнозировать ее исход. Достоинствами цитохимических методов является также доступность, техническая простота и небольшое количество исследуемого материала.

## Выводы

1. Состояние функциональной (ферментативной) активности нейтрофильных лейкоцитов при атеросклерозе характеризуется повышением уровня миелопероксидазы, степень выраженности которого зависит от характера течения заболевания и сроков обследования.

2. Активность миелопероксидазы в нейтрофилах является одним из маркеров активности атеросклеротического процесса, перспективным диагностическим и прогностическим показателем при различных проявлениях атеросклероза.

3. Выявленные различия показателей активности миелопероксидазы у больных с артериальной гипертензией, стенокардией напряжения, инфарктом миокарда и ОНМК могут использоваться как дополнительный критерий в дифференциальной диагностике этих заболеваний и эффективности лечения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Shevchenko OP, Prirodova OF. Atherosclerosis as a systemic inflammatory disease with a wavy and generalised activity of a process. Bulletin of Russian State Medical University 2010; 1:28–33. Russian (Шевченко О. П., Природова О. Ф. Атеросклероз как системное воспалительное заболевание с волнообразной и генерализованной активностью процесса. Вестник Российского государственного медицинского университета 2010, 1:28–33).
2. Anogeianaki A, Angelucci D, Cianchetti E et al. Atherosclerosis: a classic inflammatory disease. Int J Immunopathol Pharmacol 2011; 24:4:817–825.
3. Balanescu S, Calmac L, Constantinescu D et al. Systemic inflammation and early atheroma formation: are they related? Maedica (Buchar) 2010; 5:4:292–301.
4. Syromyatnikova LI, Ronsin AV, Mishlanov VY et al. Lipid release and protein synthesis activity of leukocytes among patients with atherosclerosis. Vestnik Permskogo nauchnogo centra URO RAN 2014; 2:79–83. Russian (Сыромятникова Л. И., Ронзин А. В., Мишланов В. Ю. и др. Липидвысвобождающая и белоксинтезирующая активность лейкоцитов у больных атеросклерозом. Вестник Пермского научного центра УРО РАН 2014, 2:79–83).
5. Ruleva NYu, Zvyaghintseva MA, Dughin SF. Myeloperoxidase: biological functions and clinical value. Sovremennye naukoemkie tehnologii 2007; 8:1–4. Russian (Рулева Н. Ю., Звягинцева М. А., Дугин С. Ф. Миелопероксидаза: биологические функции и клиническое значение. Современные наукоемкие технологии 2007, 8:11–14).
6. Kubala L, Kolarova H, Vitecek J et al. The potentiation of myeloperoxidase activity by the glycosaminoglycan-dependent binding of myeloperoxidase to proteins of the extracellular matrix. Biochim Biophys Acta 2013; 1830:10:4524–36.
7. Gorudko IV, Kostevich VA, Sokolov AV, et al. Increased myeloperoxidase activity is a risk factor for ischemic heart disease in patients with diabetes mellitus Biochemistry (Moscow) Supplement. Series B: Biomedical Chemistry 2012; 58:4:475–484. Russian (Горудко И. В., Костевич В. А., Соколов А. В. и др. Повышенная активность миелопероксидазы — фактор риска ишемической болезни сердца у больных сахарным диабетом. Биомедицинская химия 2012, 58:4:475–484).
8. Chen Y, Zhang F, Dong L et al. Long-term prognostic value of myeloperoxidase on acute coronary syndrome: a metaanalysis. Arch Med Res. 2011; 42:5:368–374.
9. Bykova AA, Dumikjan ASH, Azizova OA et al. Prognostic value of myeloperoxidase on patient with acute coronary syndrome. Kardiologiya i serdechno-sosudistaya khirurgiya 2014; 7:4:4–10. Russian (Быкова А. А., Думикян А. Ш., Азизова О. А. и др. Прогностическое значение уровня и активности миелопероксидазы в плазме крови у больных с острым коронарным синдромом. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия 2014, 7:4:4–10).
10. Semygolvsky NYu, Malenkovskaya DG, Gurevich VS et al. Homocysteine and myeloperoxidase blood plasma as predictors of the complicated course of acute coronary syndrome. International Journal of Interventional Cardioangiology 2009; 19:64–65. Russian (Семиголовский Н. Ю., Маленковская Д. Г., Гуревич В. С. и др. Гомоцистеин и миелопероксидаза плазмы крови как предикторы осложненного течения острого коронарного синдрома. Международный журнал интервенционной кардиологии 2009, 19:64–65).

© Аттаева Мадина Жамаловна ( m.attaveva@yandex.ru ), Василенко Владислав Михайлович ( vlad.vmv@yandex.ru ),  
Гурижева Мадина Валериановна, Медиалиева Римма Хачимовна, Альмова Ирина Хаджиисмаиловна ( almovairina@mail.ru ).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»