

## ПЕРОКСИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

А. В. Шулганова<sup>1</sup>, Н. В. Амаэгбери<sup>1</sup>, Г. Н. Семенкова<sup>1</sup>, И. Н. Брель<sup>2</sup>,  
Т. Э. Владимирская<sup>2</sup>, И. Э. Адзерихо<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск;

<sup>2</sup>ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск

*annshulhanova@gmail.com;*

*науч.рук. – Амаэгбери Н.В., канд. биол. наук,*

Пероксидазная активность плазмы крови здоровых людей и пациентов с легочной гипертензией была проанализирована спектрофотометрическим методом, основанным на определении скорости окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидина пероксидом водорода в присутствии миелопероксидазы в окрашенный продукт – 3,3',5,5'-тетраметилбензидиндиимин. Установлено, что уровень пероксидазной активности у больных легочной гипертензией выше, чем у здоровых людей.

**Ключевые слова:** легочная гипертензия; миелопероксидаза; воспаление; пероксид водорода; активные формы кислорода.

Легочная гипертензия (ЛГ) – клинический синдром с ограниченными терапевтическими возможностями и плохим прогнозом. Патофизиология ЛГ характеризуется повышенным тонусом сосудов и ремоделированием малого круга кровообращения, что приводит к развитию правожелудочковой недостаточности и преждевременной гибели пациентов [1]. Важным фактором, способствующим развитию ЛГ, является воспаление, одной из причин которого может быть развитие оксидативного стресса [2,3].

Одной из причин формирования оксидативного стресса является гиперпродукция активных форм кислорода и хлора. Эти активные интермедиаты продуцируются в очаге воспаления фагоцитами в результате активации ферментов НАДФН-оксидазы и миелопероксидазы (МПО). МПО является важным маркером воспаления. Определение активности этого фермента либо его количества важно для диагностики заболеваний, связанных с развитием воспаления [4,5]. Целью работы было определение пероксидазной активности МПО в плазме крови пациентов с ЛГ.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Материалы.** Декстран, гистопак-1077, питательная среда RPMI-1640, Triton X-100, *Micrococcus lysodeikticus* («Sigma», США), компоненты для приготовления фосфатного буферного раствора (ФБР) («Анализ X, Беларусь»).

Фосфатный буферный раствор собственного приготовления включал 137 ммоль/л NaCl, 2,7 ммоль/л KCl, 8 ммоль/л Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 15 ммоль/л KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, (pH 7,4).

Кровь пациентов получали в Минской областной клинической больнице, Боровляны.

**Получение плазмы крови.** Цельную кровь центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин. Полученную плазму собирали в отдельные пробирки.

**Определение пероксидазной активности МПО.** Пероксидазную активность МПО в плазме крови оценивали по методу [6]. Исследуемый образец содержал 50 мкл плазмы в фосфатном буферном растворе, содержащем 0,1 М лимонной кислоты (pH 5,0) и 1,6 мМ тетраметилбензидина. Реакцию инициировали внесением 0,3 мМ раствора пероксида водорода. Образование 3,3',5,5'-тетраметилбензидиндиимина оценивали спектрофотометрически на спектрофлуориметре CM2203 «Solar» (Беларусь) на длине волны 650 нм, определяя оптическую плотность через 1 и 5 мин после начала реакции. Пероксидазную активность МПО выражали в мкМ ТМВ/(мин·мл плазмы). Измерения проводили при T = 37°C. Коэффициент молярной экстинкции 3,3',5,5'-тетраметилбензидиндиимина  $\epsilon_{650} = 3,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 продемонстрировано изменение пероксидазной активности МПО в плазме крови здоровых людей (А) и пациентов с ЛГ (Б). Были проанализированы образцы, полученные из крови 7 здоровых людей и 4 пациентов с ЛГ до терапии. Один пациент (Макейчик) был обследован до (рис. 1Б (1)) и после (рис. 1Б (2)) терапии.

Видно, что уровень пероксидазной активности у больных ЛГ значительно выше, чем у здоровых людей. Исключение составляет один пациент (Конькова), у которой уровень измеряемого параметра такой же, как в контроле. После проведения терапии у пациента Макейчик пероксидазная активность МПО снизилась до контрольных значений.

Усредненные данные для пероксидазной активности плазмы крови здоровых людей и пациентов до терапии представлены на рис. 2. Из графика следует, что значения определяемого параметра в 8,2 раза выше у пациентов, чем у здоровых людей.

Из рис. 2 видно, что уровень пероксидазной активности у больных ЛГ в 8,2 раза выше, чем у здоровых людей. Полученные данные свидетельствуют о том, что у пациентов с ЛГ уровень МПО в плазме крови значительно повышен.

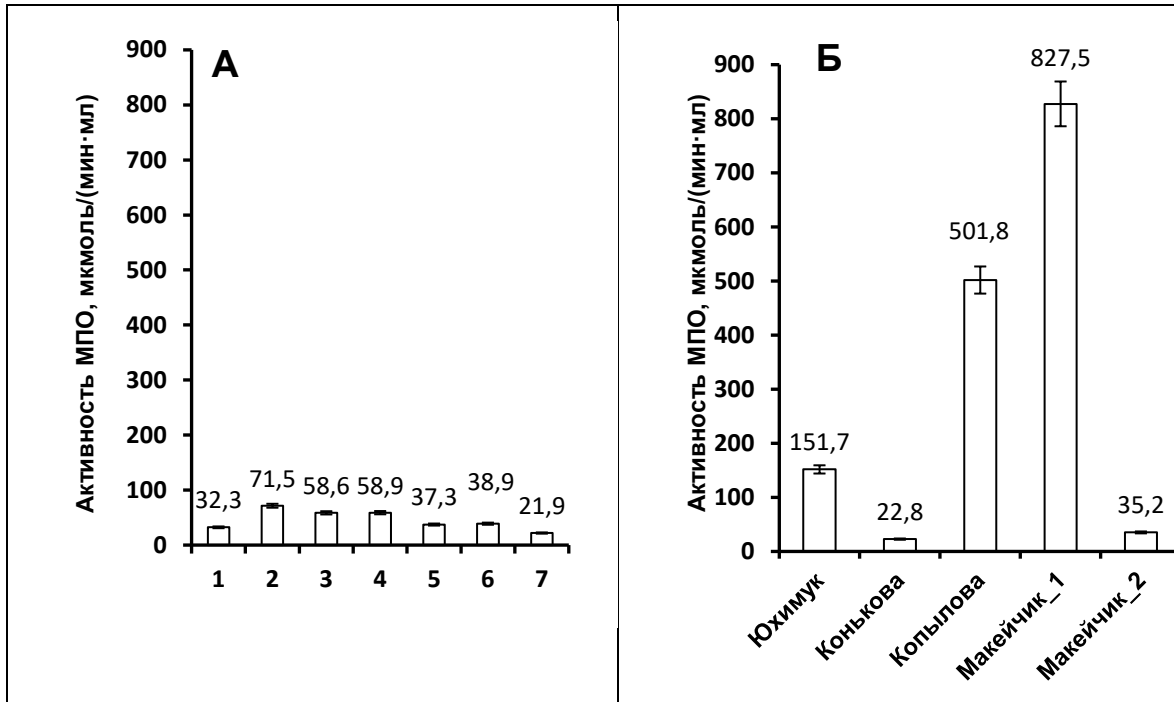


Рис. 1 – Peroксидазная активность МПО в плазме крови здоровых людей (А) и пациентов с ЛАГ (Б)

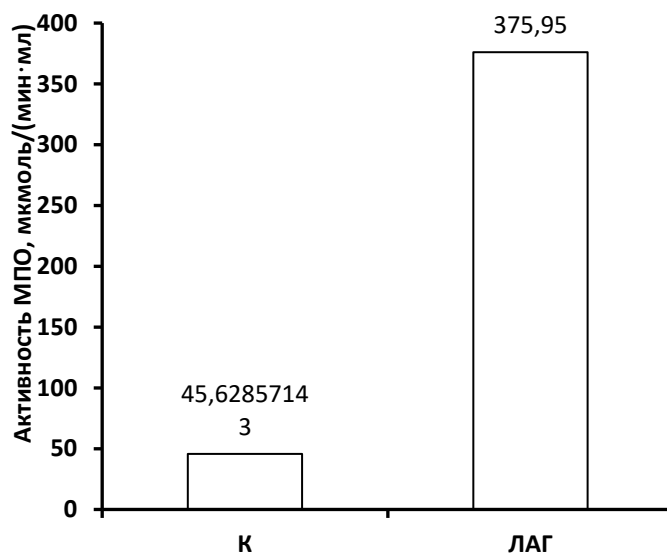


Рис. 2 – Peroксидазная активность МПО в плазме крови здоровых людей (К) и пациентов с ЛАГ (средние значения)

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из полученных данных следует, что у пациентов с ЛГ уровень секреции МПО из нейтрофилов и моноцитов во внеклеточную среду значительно превышает контрольные значения. Это свидетельствует о том, что у пациентов с ЛГ нейтрофилы и моноциты содержащие МПО, преактивированы уже в циркулирующей крови и готовы мигрировать в очаг воспаления, который локализован в ткани и сосудах легких. Можно заключить, что МПО является важным биомаркером воспаления при ЛГ. С другой стороны, МПО можно рассматривать в качестве потенциальной терапевтической мишени для подавления воспалительного процесса при лечении пациентов с этой патологией.

### Библиографические ссылки

1. *Humbert M., Lynch III J.P.* Pulmonary Hypertension // Informa. Healthcare. 2009. № 18. P. 193–194
2. *C. Tang et al.* Characteristics of inflammation process in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats // Biomed Pharmacother. 2021. Vol. 133 (111081).
3. *Chami H., Hassoun P.* Immune and inflammatory mechanisms in pulmonary arterial hypertension // Prog. Cardiovasc. Dis. 2012. Vol. 55(2). P.218–228.
4. *Kettle A.J. Winterbourn C.C.* Myeloperoxidase: a key regulator of neutrophil oxidant production / A. J. Kettle, // Redox Rep. 1997. Vol. 3(1). P. 3–15.
5. *Arnhold J.* The dual role of myeloperoxidase in immune response // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. – 21 (8057).
6. *Pulli B. et al.* Measuring myeloperoxidase activity in biological samples // PLoS ONE. 2013. Vol. 8 (7).