

УДК 577.158.52-616.132.2

МИЕЛОПЕРОКСИДАЗА: БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Рулева Н.Ю., Звягинцева М.А., Дугин С.Ф.

*ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Росздрава*Подробная информация об авторах размещена на сайте «Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

Миелопероксидаза относится к семейству гемосодержащих пероксидаз млекопитающих, содержится в азурофильных гранулах нейтрофилов, моноцитов и некоторых видах тканевых макрофагов, и секретируется при фагоцитозе внутрь фагосомы. Генерированные этим ферментом активные формы кислорода и свободные радикалы вовлечены в антимикробную активность нейтрофилов, которая обеспечивает врожденный неспецифический иммунитет. При определенных условиях миелопероксидаза может секретироваться во внеклеточную жидкость и участвовать в повреждении собственных тканей организма. В настоящем обзоре рассмотрены биологические функции и патогенетическая роль миелопероксидазы.

Миелопероксидаза (МРО, H_2O_2 -оксиредуктаза, ЕС 1.11.1.7) является одной из самых изученных эндогенных пероксидаз млекопитающих. В основном этот фермент содержится в азурофильных гранулах нейтрофилов (до 5% сухого веса клетки), а также в моноцитах и некоторых типах тканевых макрофагах. После активации фагоцитов происходит дегрануляция, и МРО секретируется либо внутрь фагосомы, либо во внеклеточное пространство [16].

Биосинтез МРО осуществляется во время дифференциации миелоцитов в костном мозге и заканчивается ко времени выхода зрелых гранулоцитов и моноцитов в кровеносное русло [19].

МРО (150 кД) состоит из двух идентичных, соединенных между собой дисульфидной связью, димеров, каждый из которых содержит гликозилированную тяжелую α -субъединицу (57 кД) с ковалентно связанным гемом (протопорфирин IX с ионом железа в центре) и негликозилированную легкую β -субъединицу (12 кД) [1].

Основным субстратом МРО является перекись водорода, которая продуцируется *in vivo* при «дыхательном взрыве». Продуктами катализируемых МРО реакций

являются сильные окислители (в частности, гипохлорит), реактивные производные азота и свободные радикалы, которые в свою очередь инициируют перекисное липидов [30] и вызывают модификацию белков, включая галогенирование, нитрирование, окисление и образование сшивок [20].

Кроме того, физиологическим субстратом МРО может служить также оксид азота (NO), который при этом выступает лигандом для гемовой группы [12].

Биологические функции МРО

МРО является важной составной частью антимикробной активности фагоцитов, обеспечивающей врожденный неспецифический иммунитет.

In vivo МРО высвобождается во внеклеточную жидкость (в частности, в кровь), в том случае, если по какой либо причине нейтрофил не может фагоцитировать мишень, при клеточной лизисе или когда нейтрофил подвергается воздействию различным растворимых факторов [16]. При наличии воспаления уровень свободной МРО в крови повышается. Будучи катионным белком, МРО может связываться с отрицательно-заряженной клеточной мембраной, в частности эндотелиальной, и при наличии субстрата может

вызывать окислительные повреждения тканей организма в очагах воспаления [3].

Предполагают также, что МРО может проникать через эндотелиальный барьер посредством трансцитоза, медиатором которого по-видимому служит альбумин. Сайт связывания МРО с альбумином предположительно находится на участке 425-454 а.о. тяжелой цепи. Трансцитоз комплекса альбумин-МРО осуществляется за счет альбумин-связывающих белков в кавеолах эндотелиоцитов [24]. В субэндотелии МРО может вызывать модификацию белков внеклеточного матрикса (в частности, фибронектина), приводя к ремоделированию тканей в очагах воспаления [3].

МРО и сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ)

Было установлено, что повышенный системный уровень МРО (содержание МРО в нейтрофилах и в крови) был ассоциирован с наличием коронарных артериальных заболеваний [29]. Кроме того, что повышенный уровень МРО в крови прогнозировал риск развития неблагоприятных кардиологических событий (инфаркт миокарда, внезапная смерть и др.) у больных с грудной болью и острым коронарным синдромом [4, 7].

В опытах *in vitro* было показано, что МРО может переводить липопротеины низкой плотности в т.н. «атерогенную», легко захватываемую макрофагами, форму за счет окисления лизиновых остатков и нитрирования аполиipoproteина В-100 и инициации перекисного окисления липидов [21]. Кроме того, МРО может переводить липопротеины высокой плотности в дисфункциональную форму за счет нитрирования и хлорирования тирозиновых остатков в аполиipoproteине А-I, нарушая тем самым клеточный транспорт холестерина [18]. Предполагают, что таким образом МРО может способствовать возникновению и росту атеросклеротической бляшки.

Кроме того, полагают, что МРО может участвовать в развитии т.н. нестабильности бляшки. В опытах *in vitro* было показано, что низкие концентрации генерированного МРО гипохлорита вызывают активацию эндотелиоцитов, сопровождающуюся увеличением экспрессии Р-

селектина и тканевого фактора, что приводит к повышению тромбогенности эндотелиальной поверхности. Высокие концентрации гипохлорита приводят к апоптозу эндотелиоцитов. Кроме того, МРО может вызывать активацию латентной матриксной металлопротеазы-7 [10].

В пользу возможности участия МРО в атерогенезе свидетельствуют многочисленные клинические данные. Так, иммуногистохимически и с помощью масс-спектрометрии было показано присутствие МРО и продуктов опосредованных ею реакций (хлорированные и нитрированные остатки тирозина, хлорированные липиды) в атеросклеротической бляшке по сравнению с нормальной интимой [8, 23]. Анализ аполиipoproteина А-I, выделенного из плазмы крови больных с ССЗ выявил повышенное содержание нитрированных и хлорированных остатков тирозина по сравнению со здоровыми субъектами [31]. Патоморфологическое исследование поврежденных бляшек у внезапно умерших больных показало солюкализацию МРО и гипохлорит-модифицированных белков, ассоциированных с внутрикоронарными тромбами [22].

Предполагают также, что за счет потребления эндогенного NO в качестве субстрата, МРО может участвовать в развитии дисфункции эндотелия, являющейся одним из ранних изменений атерогенеза и характеризующейся развитием ненормальной сосудистой реактивности и экспрессией различных провоспалительных и протромботических факторов. Так было показано, что МРО усиливает катаболизм NO во время ишемии миокарда и реперфузии [5]. Была установлена обратная корреляция между сывороточным уровнем МРО и потоко-опосредованной дилатацией плечевой артерии [25].

МРО и системные васкулиты

Системный микрососудистый васкулит (МСВ) характеризуется микроваскулярным воспалением и некрозом и чаще всего поражает почки и легкие, вызывая быстро прогрессирующий гломерулонефрит и легочную геморрагию [14].

В 80-х годах было показано, что МСВ ассоциирован с наличием аутоантител к цитоплазматическим, лизосомаль-

ным компонентам нейтрофилов и моноцитов, в частности к МРО. Такие аутоантитела были названы анти-нейтрофильными цитоплазматическими аутоантителами (ANCA) [26].

Аутоантитела к МРО были обнаружены у больных с микроскопическим полиангиитом, аутоиммунным некротизирующим серповидным гломерулонефритом и синдромом Churg-Strauss [15]. При этом изменения титра аутоантител отражали интенсивность заболевания [9].

В опытах *in vitro* было показано, что ANCA могут активировать ТНФ α -примированные нейтрофилы, вызывая дегрануляцию, продукцию реактивных окислительных метаболитов, секрецию провоспалительных цитокинов. Кроме того, ANCA усиливали адгезию нейтрофилов к эндотелиальному монослою. Совместная инкубация ANCA-активированных нейтрофилов и эндотелиальных клеток приводила к лизису эндотелиоцитов [11].

Ряд клинических данных свидетельствует в пользу патогенетической роли ANCA. Описан случай, когда у больного на фоне ANCA-ассоциированного васкулита при отсутствии почечной и легочной дисфункции, а также классических факторов риска цереброваскулярного заболевания, развился геморрагический инсульт [13]. В пупочной крови новорожденных, чьи матери страдали ANCA-ассоциированным васкулитом, был обнаружен повышенный уровень анти-МРО аутоантител, что сопровождалось легочными геморрагиями и почечной дисфункцией [6].

Изучение патогенетической роли МРО и аутоантител к МРО на животных моделях

В опытах с МРО нокаутированными мышами была подтверждена доминантная роль МРО в инициации перекисного окисления липидов и внеклеточного нитрирования белков в очагах острого воспаления [30].

В модели хронической перевязки коронарной артерии МРО нокаутированные мыши продемонстрировали заметно сниженную инфильтрацию лейкоцитов и дилатацию левого желудочка, что ассоциировалось с сохранением систолической

функции, что предполагает участие МРО в патологическом ремоделировании желудочка после инфаркта миокарда [2].

На крысиной модели баллонного повреждения каротидной артерии было показано, что МРО в присутствии перекиси водорода может вызывать гиперплазию неоинтимы [28].

Было показано, что введение анти-МРО антител, полученных путем иммунизации МРО нокаутированных мышей мышью МРО, вызывает у интактных мышей развитие гломерулонефрита и легочного васкулита [27].

Иммунизация крыс человеческой МРО вызывало индукцию анти-МРО антител, которые перекрестно реагировали с крысиной МРО и вызывали развитие почечной дисфункции, выражающейся появлением крови и белка в моче [17].

Согласно полученным нами предварительным данным, стрессовые воздействия влияют на уровень МРО в крови. Уже через 1 час после холодового стресса уровень МРО в плазме у крыс повышался более чем в 2 раза, а через сутки – более, чем в 3 раза, по сравнению с исходным уровнем.

Заключение

Основной функцией МРО в организме является защита от внешней инфекции, однако при ряде условий она может вызывать повреждение собственных тканей организма в очагах воспаления. Как показатель активности нейтрофилов, МРО может служить маркером интенсивности воспалительных процессов.

В клинической практике уровень МРО в крови представляется перспективным диагностическим и прогностическим показателем при ряде заболеваний и патологических состояний. Аутоантитела к МРО являются биохимическим маркером системных васкулитов, а также, по видимому, могут участвовать в патогенезе таких заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Andrews P. C., Krinsky N. I. // J. Biol. Chem. – 1981- V. 256. P. 4211.
2. Askari A.T., Brennen M.L. et al // J. Exp. Med. – 2003 – V. 197. P. 615.

3. Baldus S., Eiserich J.P. et al // J. Clin. Invest. – 2001 – V.108. P. 1759.
4. Baldus S., Heeschen C. et al // Circulation. – 2003 – V. 108. P. 1440.
5. Baldus S., Heitzer T., Eiserich J.P. et al // Free Radic Biol Med. – 2004 – V. 37. P. 902.
6. Bansal P.J., Tobin, M.C.// Ann. Allergy Asthma Immunol. – 2004 – V. 93. P. 398.
7. Brennan M.L., Penn M.S., Van Lente F. // N Engl J Med. – 2003 – V. 349. P. 1595.
8. Daugherty A, Dunn JL, Rateri DL, Heinecke JW. // J Clin Invest. – 1994 – V. 94. P. 437.
9. Egner W., Chapel H.M. // Clin. Exp. Immunol. – 1990 – V. 82. P. 244.
10. Hazen S.L. // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2004 – V. 24. P. 1143.
11. Heeringa P., Huugen D., Tervaert J.W.C. // Trends in Immunol. – 2005 – V. 26. № 11. P. 561.
12. Husam M., Abu-Soud et al //J. Biol. Chem. – 2000 - V. 275. P. 37524.
13. Ito Y., Suzuki K. et al // J. Neurol. Sci. – 2006 – V.240. P.99.
14. Jennette J.C., Falk R.J. // N. Engl. J. Med. – 1997 – V. 337. P. 1512.
15. Kallenberg C.G.M., Brouwer E. et al.//Kidney Int. – 1994 – V.46. P.1.
16. Klebanoff S.J. // J. Leukoc. Biol. – 2005 – V. 77. P. 598.
17. Little M.A., Smyth L.. et al // Immunology – 2005 – V. 106. P. 2050.
18. Marsche G., Hammer A. et al//J Biol Chem.–2002–V. 277. P. 32172.
19. Nichols B.A., Bainton, D.F. // Lab. Invest. – 1973 – V.29. P.27.
20. Podrez EA, Abu-Soud HM, Hazen SL. // Free Radic Biol Med. – 2000 – V. 28. P. 1717.
21. Podrez E.A., Poliakov E. et al //J Biol Chem.–2002–V. 277. P. 38517.
22. Sugiyama S., Okada Y., Sukhova G.K. // Am J Pathol. – 2001 – V. 158. P. 879.
23. Thukkani A.K., McHowat J. et al//Circulation –2003– V. 108. P. 3128.
24. Tiruppathi C., Naqvi T. et al // PNAS. – 2004 – V. 101. P. 7699.
25. Vita J.A., Brennan M.L. et al // Circulation. – 2004 – V. 110. P. 1134.
26. van der Woude, F.J. et al. // Lancet – 1985 – V. 1. P. 425.
27. Xiao H., Heeringa P. et al // J. Clin. Invest. – 2002 – V.110. P.955.
28. Yang J., Cheng Y., Ji R., Zhang C. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2006 – V. 291. P. H3087.
29. Zhang R., Brennan M.L., Fu X. // JAMA. – 2001 – V. 286. P. 2136.
30. Zhang R., Brennan M.L. et al //J Biol Chem. –2002– V.277. P. 46116.
31. Zheng L., Nukuna B., Brennan M.L. et al // J Clin Invest. – 2004 – V. 114. P. 529.

MYELOPEROXIDASE: BIOLOGICAL FUNCTIONS AND CLINICAL VALUE

Ruleva N.Yu., Zvyaghintseva M.A., Dughin S.F.

Russian cardiologic research-and-production complex of Roszdrav

Myeloperoxidase is a member of the heme mammalian peroxidase superfamiy and the most abundant component of azurophilic granules of neutrophils, monocytes and some subtypes of tissue macrophages. Myeloperoxidase is released into the phagosome during phagocytosis. Generated by this enzyme reactive oxidants and diffusible radical species are involved in the microbicidal activity of neurophils, contributing to innate host defenses. Myeloperoxidase can be released to the outside of the cell by some conditions, and may induce tissue damage. This review will consider the biological function and the role in disease pathogenesis of myeloperoxidase.