

DOI:10.26693/jmbs04.06.321

УДК 577.112.85:616.61

Васильченко В. С.^{1,2}, Дунаєвська О. Ф.³, Король Л. В.¹,
Кучменко О. Б.², Степанова Н. М.¹

АКТИВНІСТЬ ЛІПОПРОТЕЇН-АСОЦІЙОВАНИХ ЕНЗИМІВ ПАРАОКСОНАЗИ-1 ТА МІЕЛОПЕРОКСИДАЗИ У ПАЦІЄНТІВ З ХРОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ НИРОК

¹ДУ «Інститут нефрології» НАМН України, Київ, Україна

²Національний університет "Києво-Могилянська академія", Київ, Україна

³КЗВО «Житомирський базовий фармацевтичний коледж» ЖОР, Житомир, Україна

vasylchenkovita@gmail.com

За хронічної хвороби нирок можливий розвиток ряду супутніх захворювань, що пов'язані з порушенням функцій імунної та серцево-судинної систем. Саме тому вивчення потенційних індикаторів розвитку патологічних станів серцево-судинної системи у пацієнтів з хронічною хворобою нирок є актуальним та необхідним.

Мета роботи – дослідження якісного стану ліпопротеїнів за активністю ензимів у пацієнтів з хронічною хворобою нирок.

Для досягнення мети проводили визначення активності параоксонази-1 та мієлопероксидази в сироватці крові у 36 пацієнтів з хронічною хворобою нирок. Активність параоксонази-1 визначали спектрофотометрично за кількістю утворених фенольних комплексів з використанням фенілацетату; активність мієлопероксидази – за реакцією взаємодії з пероксидом водню у присутності та без її специфічного інгібітору (гамма-амінобензойної кислоти).

Активність параоксонази-1 у референтній групі умовно здорових осіб становила 6,57 кУ/л. У групі пацієнтів з хронічною хворобою нирок I-II стадій активність ензиму знижена на 30 % (4,58 кУ/л) та у групі пацієнтів з хронічною хворобою нирок V стадії – на 46 % (3,55 кУ/л) порівняно з референтною групою. Аналіз даних за критерієм Крускала-Уоліса ($P < 0,05$) підтвердив різницю між групами. Застосування критерію Данна засвідчило наявність різниці між контролем та обома групами пацієнтів ($P < 0,05$). Активність мієлопероксидази у пацієнтів групи 1 знижувалася майже вдвічі і становила в середньому 0,12 ум.од./л, а у пацієнтів групи 2, навпаки, підвищувалася у 1,5 рази (до 0,37 ум.од./л.). Аналіз даних за критерієм Крускала-Уоліса ($P < 0,05$) та Данна встановили різницю між контролем та групами пацієнтів ($P < 0,05$).

Зниження активності параоксонази-1 спостерігалось у обох групах пацієнтів з хронічною хворобою нирок у порівнянні з контролем. Підвищення

активності мієлопероксидази спостерігається у пацієнтів з хронічною хворобою нирок V стадії, а зниження – у пацієнтів з хронічною хворобою нирок I-II стадії. Таким чином, активність ензимів у складі ліпопротеїнів високої густини відображає їх функціональний статус та свідчить про патологічні зміни в організмі, більш виразні у пацієнтів з хронічною хворобою нирок V стадії. Пропонуємо використовувати активність параоксонази-1 та мієлопероксидази в якості потенційних маркерів попередження розвитку ускладнень серцево-судинних захворювань у пацієнтів з хронічною хворобою нирок.

Ключові слова: параоксоназа-1, мієлопероксидаза, хронічна хвороба нирок, серцево-судинні захворювання, оксидативний статус.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота є фрагментом НДР «Вивчити вплив стану обміну оксалатів та уратів на еволюцію уражень нирок різної етіології (№ державної реєстрації 0119U000002) та «Вивчити нові прогностонегативні детермінанти виживаності методу перитонеального діалізу та можливості їх фармакологічної корекції» (№ державної реєстрації 0117U002122).

Вступ. За хронічної хвороби нирок (ХХН) можливий розвиток ряду супутніх захворювань, що пов'язані з порушенням функцій імунної та серцево-судинної систем. Одне з найпоширеніших – це атеросклероз. Виняткову роль у його розвитку відіграє порушення метаболізму ліпопротеїнів. Незворотні зміни відбуваються з ліпопротеїнами високої та низької густини. Проте йдеться не лише про порушення структури ліпідних компонентів, але і про втрату функціональної активності ензимів. З одного боку, підвищення інтенсивності окислювальних реакцій змінює оксидативний статус організму, а й відтак – статус ліпопротеїнів. З іншого боку, прооксидантні реакції інгібують захисні ензими, що

здатні захищати ліпопротеїни високої густини від шкідливого впливу активних форм кисню. Ліпопротеїни, як мультифункціональні частки різної густини, здійснюють аферентний та еферентний транспорт холестеролу [1]. Цей спирт в організмі відіграє такі функції як структурна, регуляторна та інші [1, 2].

Найкраще вивчена участь холестеролу у функціонуванні серцево-судинної та імунної системах [2, 3]. Його вважали одним з основних показників, зміна якого передбачала розвиток кардіометаболічних захворювань разом із підвищенням діастолічного тиску. Невдовзі увагу почали приділяти й іншим показникам, які відображають якість ліпідного обміну. До них належать, зокрема, кількість холестеролу ліпопротеїнів низької густини, зміна рівня яких чітко асоційовані з розвитком серцево-судинних захворювань та якісний стан ліпопротеїнів високої густини [4, 5].

Ензиматичний потенціал ліпопротеїнів високої густини відіграє кардіопротекторну роль та захищає як власні частки від модифікацій, так і ендотеліоцити та кардіоміоцити від надмірного утворення вільних радикалів та їх руйнівного впливу [6, 7]. Одночасно з функціональним станом необхідним є визначення кількісного вмісту холестеролу ліпопротеїнів високої густини, оскільки як низькі, так і зависокі концентрації пов'язані з виникненням серцево-судинних захворювань. Такі результати отримали фахівці популяційного дослідження у Копенгагені. За результатами якого серед різних груп за віковими та статевими ознаками був підтверджений парадоксальний факт підвищення смертності у групах з екстремально високим вмістом холестеролу ліпопротеїнів високої густини [8].

До показників ліпідного обміну, які також визначають за серцево-судинних захворювань, належать структурні зміни триацилгліцеролів у складі ліпопротеїнових часток, проте вони малоінформативні на тлі змін метаболізму ліпідів [9]. Оскільки до складу ліпопротеїнів входять, окрім ліпідів, протеїни, то визначення їх стану окреслює їх функціональну активність. Найпоширенішими модифікаціями є окиснена та структурна перебудова ензимів, на поверхні часток [10]. Перекисне окиснення протеїнів у складі ліпопротеїнів високої густини та ліпопротеїнів низької густини має місце за розвитку багатьох патологічних станів, що є поширеним ускладненням за ХХН та інших патологій [10, 11]. Якісний стан ліпопротеїнів визначається за функціональною активністю ензимів. Зокрема, з ліпопротеїнами високої густини пов'язаний багатофункціональний ензим – параоксоназа-1 (ПОН-1). Маючи антиатерогенні властивості, він сприяє регресії атеросклеротичних бляшок. Як кардіопротекторний

ензим він сприяє нормалізації роботи кардіоміоцитів, тому встановлення його вмісту та активності важливе для ранньої діагностики серцево-судинних захворювань. Найважливіші функції цього ензиму полягають у захисті ліпопротеїнів від модифікації. ПОН також притаманні антиоксидантні та антиатерогенні ефекти [12].

Як відомо, ПОН-1 синтезується в печінці та декретується в кров. Ліпопротеїни, які взаємодіють з сквенджер-рецепторами (scavenger receptors) плазматичної мембрани гепатоцитів, зв'язуються з ензимом. Роль медіатора виконує апопротеїн А-I. Також долучаються інші класи апопротеїнів: А-II, Е, J, зв'язуючись гідрофобними N-доменами. Важливо зазначити, що ПОН може транспортуватися в результаті рецептор-опосередкованого транспорту холестеролу. Тому може бути нестабільним компонентом ліпопротеїнів високої густини. Такі взаємодії найчастіше відбуваються у ендотеліальних та гладких м'язових клітинах [12, 13].

Крім того, ПОН володіє гідролазною, арилестеразною та лактоназною активностями. Саме властивість ПОН каталізувати естеразний гідроліз окиснених ліпідів призводить до зменшення розміру атеросклеротичних бляшок. Параоксоназна і арилестеразна активність позитивно корелює з вмістом холестеролу ліпопротеїнів високої густини і апопротеїну А-I та негативно – з рівнями загального холестеролу і апопротеїну В. Проте відношення вмісту апопротеїну до активності ПОН-1 може бути кращим індикатором рівня атерогенності, ніж відношення вмісту загального холестеролу до холестеролу ліпопротеїнів високої густини [12, 14, 15].

Доведено, що ПОН-1 разом з мієлопероксидазою (МПО) утворюють асоційований комплекс. Оскільки МПО – це гем-вмісний ензим, що міститься в азурофільних гранулах нейтрофілів, він вивільняється при активації клітини зовнішніми чинниками чи внутрішніми медіаторами та приєднується до фракцій ліпопротеїнів високої густини. Обидва ензими частково інгібують один одного, що зменшує їхню спорідненість до часток ліпопротеїнів високої густини [15, 16].

Комплекс з ПОН формує МПО, яка продукує вільні радикали, розкладаючи пероксид водню та також асоційована з ліпопротеїнами високої густини. Дослідники визначають активність ПОН за ниркових та серцево-судинних патологій, у той час як активність МПО – за наявності запальних процесів та захворювань імунної системи. Субстратом МПО є пероксид водню. Вона виявляє пероксидазну активність та здатна здійснювати двохелектронне окиснення галогенів і псевдогалогенів [17].

Пероксидазна активність підвищується за інфекційних та запальних процесів, що, у свою

чергу, індукує процеси вільнорадикального окиснення ліпідів та появу активних форм кисню [18].

Відомо, що МПО бере участь у вільнорадикальному та нерадикальному окисненні ліпопротеїнів низької густини. Метаболізуючи пероксид водню, МПО може активувати продукування гіпохлоритної кислоти, диоксиду азоту та окиснення тіоціонату. Гіпохлоритна кислота взаємодіє з протеїновими компонентами ліпопротеїнів, наприклад, залишками тирозину апопротеїну А чи В, утворюючи 3-хлортирозин. Модифіковані апопротеїни розпізнаються сквендж-рецепторами макрофагів, зокрема CD36, та генерують вторинні продукти окиснення: акролеїн, радикали тирозину, високореактивні ненасичені гліцеральдегіди тощо. Такі сполуки є атрактантами для моноцитів та макрофагів. Також гіпохлоритна кислота утворюється у ендотеліальних клітинах за апоптозу і здійснює активацію матриксних металопротеїназ (8, 9, 12, 13). Паралельно МПО окислює та інгібує тканинні інгібітори матриксних протеїназ, що у результаті стоншує фіброзні надбудови бляшок у судинах [16–18].

Окислювати як протеїнові, так і ліпідні складові ліпопротеїнів здатна окиснена форма оксиду азоту, хлорангідрид азотної кислоти. А нуклеофільні групи заміщують продукти окиснення тіоціонату. Ліпопротеїни низької густини з такими метаболічними перетвореннями захоплюються макрофагами, через взаємодію зі сквенджер-рецепторами класу А і В, та беруть участь у формуванні пінистих клітин [7, 19, 20].

Окрім модифікацій ліпопротеїнів низької та високої густини, МПО знижує біодоступність оксиду азоту, приєднуючи радикали хлору до субстрату синтази оксиду азоту, аргініну чи здійснює, безпосередньо, його окиснення [21].

Розвитку більшості кардіометаболічних захворювань передують атерогенез, за якого утворюються бляшки на ендотелію судин, порушується обмін ліпідів, активізація процесів вільнорадикального окиснення та змінюється активність ферментів фібринолітичної системи. Останнє впливає на стабільність бляшкових утворень, а саме формування зовнішнього корку з сіток фібриногену [10, 11]. Таким чином, за серцево-судинних захворювань на початковій фазі відбуваються порушення обміну ліпідів та зміна активності ферментів ліпопротеїнів високої густини, коагуляційної та фібринолітичної систем [7]. Детальне вивчення патогенетичних механізмів, які спричиняють незворотні зміни структури судин та ролі в цьому різних за складом ліпопротеїнів, є перспективним для покращення підходів до діагностики та корекції порушень стану серцево-судинної системи, а також виявлення та усунення ризиків їх розвитку [9, 11, 12].

Стабільне підвищення артеріального тиску за суміжних захворювань, наприклад нейродегенеративних, діабету та хронічних запальних процесів, призводить до вторинних ускладнень та прогресування атеросклерозу [5, 14]. За ХХН можливі аналогічні наслідки, оскільки серцево-судинні захворювання є провідною причиною смерті пацієнтів з ХХН V стадії. [22].

Оскільки на сьогодні повний механізм виникнення первинних і вторинних кардіометаболічних ризиків повністю невідомий, а також відсутній уніфікований перелік прогностичних маркерів серцево-судинних захворювань, то вивчення потенційних індикаторів розвитку патологічних станів серцево-судинної системи у пацієнтів з ХХН є необхідним та важливим [6, 10, 23].

Мета роботи – дослідження якісного стану ліпопротеїнів за активністю ферментів у пацієнтів з ХХН.

Матеріал та методи дослідження. Для досягнення мети проводили визначення активності ПОН-1 та МПО в сироватці крові у 36 пацієнтів з ХХН, які перебували на лікуванні в ДУ «Інститут нефрології НАМН України». Середній вік хворих становив $46,5 \pm 12,3$ років. Усі пацієнти надали письмово оформлену інформовану згоду на участь у дослідженні. Протокол дослідження схвалений Комісією з біоетики та деонтології ДУ «Інститут нефрології НАМН України» (Протокол № 5 від 12.06.2018).

Активність ПОН-1 визначали спектрофотометрично за кількістю утворених фенольних сполук з використанням фенілацетату [22], активність МПО – за реакцією взаємодії з пероксидом водню у присутності та без її специфічного інгібітору – гамма-амінобензойної кислоти [24].

Усі пацієнти були розподілені на групи: групу 1 склали 18 пацієнтів з ХХН I-II стадії; групу 2 – 18 пацієнтів з ХХН V стадії. Референтну групу склали 18 практично здорових донорів того ж віку та статі.

Статистичну обробку даних проводили у декілька етапів. Спершу визначали характер розподілу кожної з ознак, а саме – активність ферментів, за критерієм Шапіро-Уїлка ($p=0.01$). Він у наших групах був ненормальним, тому використовували наступні непараметричні методи досліджень. Наявність достовірної різниці між кожною групою аналізували за критерієм Крускала-Уоліса та Данна ($P<0,05$). Для встановлення зв'язку між показниками визначали наявність кореляції, розраховуючи коефіцієнт кореляції за Спірменом ($P < 0,001$).

Результати дослідження. Активність параоксонали-1 у референтній групі умовно здорових осіб умовно становила $6,57$ кУ/л. У групі 1 (пацієнти з

ХХН I-II) активність ензиму знижена на 30% (4,58 кU/л) та у групі 2 (пацієнти з ХХН V стадії) – на 46% (3,55 кU/л) порівняно з референтною групою умовно здорових осіб (рис. 1, 2). Статистичний аналіз даних за критерієм Крускала-Уоліса ($P < 0,05$) встановив різницю між групами. Застосування критерію Данна засвідчив наявність різниці між контролем та обома групами пацієнтів ($P < 0,05$).



Рис. 1. Показники активності параоксонази-1 у донорів (референтна група) та пацієнтів: група 1 (пацієнти з ХХН I-II); група 2 – пацієнти з ХХН V стадії

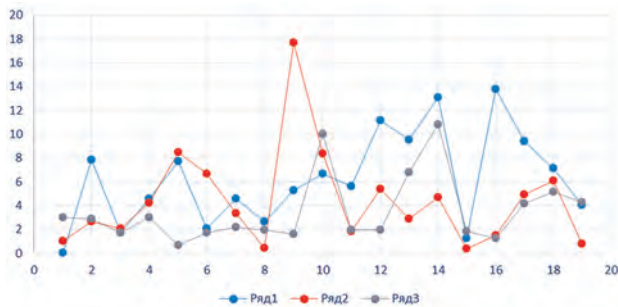


Рис. 2. Індивідуальні показники активності параоксонази-1 у донорів та пацієнтів: ряд 1 – референтна група, ряд 2 – група 1 (пацієнти з ХХН I-II); ряд 3 – група 2 (пацієнти з ХХН V стадії)

За результатами наших досліджень, активність МПО в референтній групі умовно здорових донорів складала 0,25 ум.од./л. Активність даного ензиму у пацієнтів групи 1 знижувалася майже вдвічі і становила в середньому 0,12 ум.од./л, а у пацієнтів групи 2, навпаки, підвищувалася у 1,5 рази (до 0,37 ум.од./л.) (рис. 3, 4).



Рис. 3. Показники активності мієлопероксидази у донорів (референтна група) та пацієнтів: група 1-пацієнти з ХХН I-II; група 2-пацієнти з ХХН V стадії

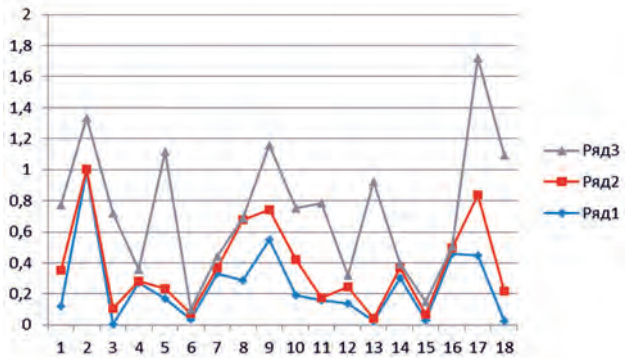


Рис. 4. Індивідуальні показники активності мієлопероксидази у донорів та пацієнтів: ряд 1 – референтна група, ряд 2 – група 1 (пацієнти з ХХН I-II); ряд 3 – група 2 (пацієнти з ХХН V стадії)

Статистичний аналіз даних за критеріями Крускала-Уоліса ($P < 0,05$) та Данна підтвердив різницю між контролем та групами пацієнтів ($P < 0,05$).

Коефіцієнти кореляції між активністю ПОН-1 та МПО були наступними: у першій групі та другій групах – 0,98, у контрольній групі – 0,99, що засвідчує прямий позитивний зв'язок між показниками.

Зниження активності ПОН-1 спостерігалось за ХХН у обох групах пацієнтів у порівнянні з контролем. Підвищення активності МПО спостерігається у пацієнтів з ХХН V стадії, а зниження – у пацієнтів з ХХН I-II стадії. Таким чином, активність ензимів у складі ліпопротеїнів високої густини відображає їх функціональний статус та свідчить про патологічні зміни в організмі, які були виразні більше у пацієнтів з ХХН V стадії.

Обговорення результатів дослідження. Як відомо, ПОН-1 здійснює гідроліз ліпідних перекисів, елімінуючи таким чином окиснені ліпопротеїни низької густини з бляшкових утворень. Також цей ензим може пригнічувати біосинтез холестеролу та стимулювати транспорт холестеролу від клітин, який опосередкований власне ліпопротеїнами високої густини [12, 22]. Таким чином, зниження активності ПОН-1 сприяє уповільненню даних процесів у пацієнтів з ХХН. Ліпідний профіль, який відображають показники ПОН-1 в сироватці крові, а також різні аспекти метаболізму ліпопротеїнів високої густини, структура та їх функції суттєво змінюються у пацієнтів із нефротичним синдромом та ХХН. Це може, у свою чергу, сприяти розвитку та прогресуванню серцево-судинних ускладнень та інших супутніх захворювань, таких як гломерулосклероз.

До того ж, арилестеразна активність ПОН-1 знижується у двох підкласах (другому і третьому) ліпопротеїнів високої густини. Відповідно, до зменшення концентрації у кровотоці двох підкласів ліпопротеїнів високої густини у пацієнтів з ХХН, кількісні та якісні зміни часток відбуваються одночасно

або поступово [25]. Важливо зазначити, що кількість білку не завжди корелює з активністю ензимів, а, оскільки у ПОН є три типи активності, то вони пов'язані з іншими факторами. Яскравим прикладом цього є лактозна активність, що вимірювалася групою вчених імуноферментним аналізом. Її визначали у базових зразках плазми, зібраних з когорти 248 пацієнтів із ХХН, стандартизованих за дослідженням хронічної ниркової недостатності – CRISIS (Chronic Renal Insufficiency Standards and Implementation Study). За результатами останнього, лактозна активність ПОН-1 значно знижувалась під час ХХН, за винятком її II-ї стадії, де не було достовірної різниці ні в зміні активності, ні в кількості білка в порівнянні з контрольними групами. До того ж, протягом 10-річного спостереження за обраними пацієнтами, саме зниження активності ензиму корелювало з підвищеною смертністю за аналізом медіан кількісних та якісних показників [26].

Оскільки пацієнти з ХХН належать до групи з найвищим ризиком смертності від серцево-судинних захворювань, для них характерно посилення окислювального стресу в організмі, що є наслідком надмірної продукції реактивних форм кисню, паралельно з порушенням антиоксидантної системи. Дослідження групою вчених маркерів оксидативного статусу у дітей з термінальною стадією ХХН продемонстровано зниження активності ПОН-1 як компонента ліпопротеїнів високої густини у порівнянні з контрольною групою умовно здорових дітей, проте дослідники виявили незначне підвищення активності МПО [27].

Як показано у дослідження [28], навіть застосування діалітичної терапії не передбачає одночасного уникнення розвитку патологічних станів судинного ендотелію, а мінімізація його пошкодження може попередити розвиток вторинних кардіальних синдромів [28].

В іншому дослідженні встановлено, що поширеність поліморфізмів у гені ПОН-1 суттєво не відрізняється від таких серед пацієнтів та здорових осіб [29]. Можливим механізмом патологічних змін є нагромадження уремічних токсинів та зміни у розподілі та функціонуванні підкласу ліпопротеїнів, а саме – високої густини, що, у свою чергу і призводить до зниження концентрації та активності ПОН за ниркової недостатності [25]. Також зміна активності цього ензиму може бути пов'язана із артеріальною гіпертензією, резистентністю до інсуліну та ремоделюванням міокарда [30, 31].

Пацієнти з ХХН мають високий ризик атерогенезу, дисліпопротеїнемії та зниження активності ліпопротеїн-асоційованого ензиму – ПОН-1, що, можливо, відіграє головну роль у патогенетичних змінах та підтверджено наявність зв'язку між ліпід-

ним профілем та активністю ПОН-1 у сироватці крові у пацієнтів, які лікуються гемодіалізом, проте на ці показники впливає терапія статинами, що здатна стабілізувати активність ензиму на рівні з контролем у короткострокових проміжках [32].

Що стосується МПО, то активність цього ензиму змінюється залежно від стадії ХХН. Так, для пацієнтів з ХХН I-II стадії активність ензиму знижується (порівняно з умовно здоровими особами), що можна пояснити частковою компенсаторною дією системи антиоксидантного захисту ліпопротеїнів від шкідливого впливу реактивних форм кисню. Зниження ресурсів антиоксидантних систем в сироватці крові сприяє зростанню рівня пероксидів і, як наслідок, спостерігається активація МПО [33, 34]. Також схожий напрямок змін активності МПО спостерігали у дослідженні [35] констатуючи при цьому, що активність МПО та рівень білку в сироватці крові у пацієнтів з ХХН змінюється у протилежному напрямку: активність з I до V стадії ХХН збільшується, а кількість білку, навпаки, зменшується. Також корисним для визначення оксидативного статусу, як показано авторами, є вміст 3-хлоротирозину (3-chlorotyrosine, ClY), який, як і активність МПО, збільшується за хронічних серцево-судинних та ниркових патологій у комплексі [35]. В іншому дослідженні, групою вчених з Мічиганського університету для поглиблення вивчення індукування атеросклерозу за ХХН було використано експериментальну модель за участі мишей з індукованою ХХН, яких годували їжею з низьким або високим вмістом жирів. Було продемонстровано підвищення активності МПО, що пов'язано з макрофагами, у групі тварин, яких годували їжею з високим вмістом жирів. Підвищену експресію та каталітичну активність ензиму при атеросклеротичних ураженнях у тварин супроводжували фіброз та звуження просвіту артеріальних судин. [36].

Отже, молекули ліпопротеїнів, як це мультифункціональні транспортні комплекси, еволюційно пристосовуються для транспорту ліпідів та інших жиророзчинних сполук кров'яним руслом. Найінформативнішими даними про їх функціональну спроможність є активність ензимів, що пов'язані з ліпопротеїнами. Для ліпопротеїнів високої густини – це ПОН і МПО. Ізоформи 1 і 3 ПОН захищають ліпопротеїни від модифікації та здійснюють естеразний гідроліз окиснених ліпідів. А МПО інгібує активність параоксонази, тобто вони діють як антагоністи один для одного.

Висновки. Результати дослідження продемонстрували достовірне зниження активності ПОН-1 у пацієнтів з ХХН. Активність МПО була знижена у пацієнтів з ХХН I-II стадії, а у пацієнтів з ХХН V стадії – підвищувалася. Отримані результати

корелюють з даними літератури та підтверджують наявні результати про зниження активності ПОН-1, а участь та роль МПО у зміні оксидативного статусу потребує подальшого вивчення для розуміння глибинних механізмів патогенетичного процесу у пацієнтів з ХХН.

Перспективи подальших досліджень. Перспективними вважаємо визначення активності ПОН-1 та МПО у пацієнтів з ХХН III-IV стадії для побудови моделі прогнозування та попередження у них кардіометаболічних ризиків.

References

1. Goldstein JL, Brown MS. A Century of Cholesterol and Coronaries: From Plaques to Genesto Statins. *Cell*. 2017; 161(1): 161-72. PMID: 25815993. PMCID: PMC4525717. doi: 10.1016/j.cell.2015.01.036
2. Lieberman AP, Swanson JA. High Cholesterol at the Heart of Phagolysosomal Damage. *Cell Metab*. 2018; 27(3): 487-8. doi: 10.1016/j.cmet.2018.02.015
3. Tall AR, Yvan-Charvet L. Cholesterol, inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2015; 15: 104–16. PMID: 25614320. PMCID: PMC4669071. doi: 10.1038/nri3793
4. Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ. The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *Lancet*. 2014; 383(9921): 999-1008. PMID: 24084292. PMCID: PMC4159698. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61752-3
5. Song J, Ping L, Duong D, Gao X, He C, Wei L, et al. Native low density lipoprotein promotes lipid raft formation in macrophages. *Mol Med Rep*. 2016 Mar; 13(3): 2087-93. PMID: 26781977. PMCID: PMC4768993. doi: 10.3892/mmr.2016.4781
6. Kontush A. HDL-mediated mechanisms of protection in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 2014; 103: 341-9. PMID: 24935434. doi: 10.1093/cvr/cvu147
7. Rader D, Hovingh K. HDL and cardiovascular disease. *Lancet*. 2014; 384(9943): 618–25. PMID: 25131981. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61217-4
8. Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Extreme high high-density lipoprotein cholesterol is paradoxically associated with high mortality in men and women: two prospective cohort studies. *Eur Heart J*. 2017; 38(32): 2478-86. PMID: 28419274. doi: 10.1093/eurheartj/ehx163
9. Spracklen CN, Chen P, Kim YJ, Wang X, Cai H, Li S, et al. Association analyses of East Asian individuals and trans-ancestry analyses with European individuals reveal new loci associated with cholesterol and triglyceride levels. *Hum Mol Genet*. 2017; 26(9): 1770–84. PMID: 28334899. PMCID: PMC6075203. doi: 10.1093/hmg/ddx062
10. Rasmiena AA, Barlowa CK, Ng TW, Meikle PJ. High density lipoprotein efficiently accepts surface but not internal oxidised lipids from oxidised low density lipoprotein. *Biochim Biophys Acta*. 2016; 1861(2): 69-77. PMID: 26569052. doi: 10.1016/j.bbailip.2015.11.002
11. Kratzer A, Giral H, Landmesser U. High-density lipoproteins as modulators of endothelial cell functions: alterations in patients with coronary artery disease. *Cardiovasc Res*. 2014; 103: 350-61. PMID: 24935432. doi: 10.1093/cvr/cvu139.
12. Kovalenko VM, Kuchmenko OB, Mkhitarjan LS. Molekulyarno-henetychni osoblyvosti funkcionuvannya paraoksonaziv ta yiyi vlastyosti u rozvytku sertsevo-sudynnoyi patolohiyi. *Ukrayin Kardiolog zhurn*. 2014; 5: 105-16. [Ukrainian]
13. Rader D. Spotlight on HDL biology: new insights in metabolism, function, and translation. *Cardiovasc Res*. 2014; 103: 337-40. doi: 10.1093/cvr/cvu164
14. Gordon SM, Remaley AT. High density lipoproteins are modulators of protease activity: Implications in inflammation, complement activation, and atherothrombosis. *Atherosclerosis*. 2017 Nov 16; 259: 104-13. PMID: 28242049. PMCID: PMC5391047. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.11.015
15. Ungurianu A, Margina D, Gradinaru D, Bacanu C, Ilie M, Tsitimpikoungurianu C, et al. Lipoprotein redox status evaluation as a marker of cardiovascular disease risk in patients with inflammatory disease. *Mol Med Rep*. 2017 Nov 14; 15: 256-62. PMID: 27909725. PMCID: PMC5355743. doi: 10.3892/mmr.2016.5972
16. Koeth RA, Haselden V, Tang WH. Myeloperoxidase in cardiovascular disease. *Adv Clin Chem*. 2013; 62: 11–32. PMID: 24772664
17. Teng N, Maghzal GJ, Talib J, Rashid I, Lau AK, Stocker R. The roles of myeloperoxidase in coronary artery disease and its potential implication in plaque rupture. *Redox Report*. 2016 Nov 25; 22(2): 51-73. PMID: 27884085. doi: 10.1080/13510002.2016.1256119
18. Baseri M, Heidari R, Mahaki B, Hajizadeh Y, Momenizadeh A, Sadeghi M. Myeloperoxidase levels predicts angiographic severity of coronary artery disease in patients with chronic stable angina. *Adv Biomed Res*. 2014 March 12; 3: 137. PMID: 25161986. PMCID: PMC4139978. doi: 10.4103/2277-9175.135155
19. Van der Stoep M, Korporaal SJ, Van Eck M. High-density lipoprotein as a modulator of platelet and coagulation responses. *Cardiovasc Res*. 2014 June 1; 103(3): 362-71. PMID: 24891399. doi: 10.1093/cvr/cvu137.
20. Chistiakov DA, Melnichenko AA, Orekhov AN, Bobryshev YV. Paraoxonase and atherosclerosis-related cardiovascular diseases. *Biochimie*. 2017 Oct 19; 132: 19-27. PMID: 27771368. doi: 10.1016/j.biochi.2016.10.010
21. Ku E, Mitsnefes MM. Cardiovascular disease in young adults with incident ESRD. *Nat Rev Nephrol*. 2019 Jul; 15(7): 390-1. PMID: 31043718. doi: 10.1038/s41581-019-0154-3

22. Zhou C, Cao J, Shang L, Tong C, Hu H, Wang H, et al. Reduced Paraoxonase 1 Activity as a Marker for Severe Coronary Artery Disease. *Dis Markers*. 2013 Jul 28; 35(2): 97–103. PMID: PMC3774974. PMID: 24167353. doi: 10.1155/2013/816189
23. Gaal K, Lorincz H, Seres I, Harangi M, Olah AV, Paragh G. Characterization of a novel high-density lipoprotein antioxidant capacity assay and its application to high-density lipoprotein fractions. *Clin Biochemistry*. 2013 Jan 24; 46: 825–7. PMID: 23353781. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.01.007
24. Gorudko IV, Cherkalina OS, Sokolov AV, Pulina MO, Zaharova ET, Vasilev VB, i dr. Novyye podhodyi k opredeleniyu kontsentratsii i peroksidaznoy aktivnosti mieloperoxidazy v plazme krovi cheloveka. *Bioorganicheskaya himiya*. 2009; 35(5): 629–39. [Russian]
25. Miljkovic M, Stefanovic A, Vekic J, Zeljkovic A, Gojkovic T, Simic-Ogrizovic S, et al. Activity of paraoxonase 1 (PON1) on HDL2 and HDL3 subclasses in renal disease. *Clin Biochem*. 2018 Sep; 60: 52-8. PMID: 30130521. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.08.006
26. Mohammed CJ, Xie Y, Brewster PS, Ghosh S, Dube P, Sarsouret T, et al. Circulating Lactonase Activity but Not Protein Level of PON-1 Predicts Adverse Outcomes in Subjects with Chronic Kidney Disease. *J Clin Med*. 2019; 8(7): 1034. PMID: 31311140. PMID: PMC6678354. doi: 10.3390/jcm8071034
27. Ristovski-Kornic D, Stefanović A, Kotur-Stevuljević J, Zeljković A, Spasojević-Kalimanovska V, Vekić J, et al. Association of Myeloperoxidase and the Atherogenic Index of Plasma in Children with End-Stage Renal Disease. *J Med Biochem*. 2017 Jan 25; 36(1): 23–31. PMID: PMC5471656. PMID: 28680346. doi: 10.1515/jomb-2016-0027
28. Vaziri ND. HDL abnormalities in nephrotic syndrome and chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2016 Jan; 12(1): 37-47. PMID: 26568191. doi: 10.1038/nrneph.2015.180
29. Hammadah MH, Kalogeropoulos AP, Georgiopoulou VV, Weber M, Wu Y, Haze SL, et al. High-density lipoprotein-associated paraoxonase-1 activity for prediction of adverse outcomes in outpatients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2017 Jun; 19(6): 748-55. PMID: 28176482. PMID: PMC5461194. doi: 10.1002/ehf.777
30. Duni A, Liakopoulos V, Rapsomanikis KP, Dounousi E. Chronic Kidney Disease and Disproportionally Increased Cardiovascular Damage: Does Oxidative Stress Explain the Burden? *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 2017: 9036450. PMID: 29333213. PMID: PMC5733207. doi: 10.1155/2017/9036450
31. Efe TH, Ertem AG, Altunoglu A, Koseoglu C, Erayman A, Bilgin M, et al. Paraoxonase Levels are Correlated with Impaired Aortic Functions in Patients with Chronic Kidney Disease. *Acta Cardiol Sin*. 2016 Jan; 32(1): 75–80. PMID: PMC4804944. PMID: 27122934. doi: 10.6515/ACS20150429A
32. Samouilidou E, Kostopoulos V, Liaouri A, Kioussi E, Vassiliou K, Bountou E, et al. Association of lipid profile with serum PON1 concentration in patients with chronic kidney disease. *Ren Fail*. 2016 Nov; 38(10): 1601-6. doi: 10.3109/0886022X.2016.1144031
33. Franck T, Minguet G, Delporte C, Derochette S, Boudjeltia KZ, Antwerpen PV, et al. An immunological method to combine the measurement of active and total myeloperoxidase on the same biological fluid, and its application in finding inhibitors which interact directly with the enzyme. *Free Radic Res*. 2015 May 27; 49(6): 790–9. PMID: 25968947. DOI: 10.3109/10715762.2015.1027197
34. Kisic B, Miric D, Dragojevic I, Rasic J, Popovic L. Role of Myeloperoxidase in Patients with Chronic Kidney Disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 1069743. PMID: 27127544. doi: 10.1155/2016/1069743
35. Afshinnia F, Zeng L, Byun J, Gadegbeku CA, Magnone MC, Whatling C, et al. Myeloperoxidase Levels and Its Product 3-Chlorotyrosine Predict Chronic Kidney Disease Severity and Associated Coronary Artery Disease. *Am J Nephrol*. 2017; 46(1): 73-81. doi: 10.1159/000477766
36. Zeng L, Mathew AV, Byun J, Atkins KB, Brosius FC, Pennathur S. Myeloperoxidase-derived oxidants damage artery wall proteins in an animal model of chronic kidney disease-accelerated atherosclerosis. *J Biol Chem*. 2018 May 11; 293(19): 7238-49. doi: 10.1074/jbc.RA117.000559

УДК 577.112.85:616.61

АКТИВНОСТЬ ЛИПОПРОТЕИН-АССОЦИИРОВАННЫХ ЭНЗИМОВ ПАРАОКСОНАЗЫ-1 И МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК

Васильченко В. С., Дунаєвська О. Ф., Король Л. В., Кучменко О. Б., Степанова Н. М.

Резюме. При хронической болезни почек возможно развитие ряда сопутствующих заболеваний, связанных с нарушением функций иммунной и сердечно-сосудистой систем. Изучение потенциальных индикаторов развития патологических состояний сердечно-сосудистой системы у пациентов с хронической болезнью почек является актуальным и необходимым.

Целью работы было исследование качественного состояния липопротеинов, по активности энзимов у пациентов с хронической болезнью почек.

Для достижения цели проводили определение активности параоксоназы-1 и миелопероксидазы в сыворотке крови у 36 пациентов с хронической болезнью почек. Активность параоксоназы-1 определяли спектрофотометрически по количеству образованных фенольных комплексов с использованием фенолацетату;

активность миелопероксидазы – по реакции взаимодействия с пероксидом водорода в присутствии и без ее специфического ингибитора – гамма-аминобензойной кислоты. Активность параоксоназы-1 в референтной группе условно здоровых лиц составляла 6,57 kU / л. В группе пациентов с хронической болезнью почек I-II стадии активность энзима снижена на 30 % (4,58 kU / л) и в группе пациентов с хронической болезнью почек V стадии – на 46% (3,55 kU / л) по сравнению с референтной группой. Анализ данных по критерию Крускала-Уоллиса ($P < 0,05$) подтвердил разницу между группами. Применение критерия Данна обосновало наличие разницы между контролем и обеими группами пациентов ($P < 0,05$). Активность миелопероксидазы у пациентов группы 1 снижалась почти вдвое и составила в среднем 0,12 у.е. / л, а у пациентов группы 2, наоборот, повышалась в 1,5 раза (до 0,37 у.е. / л.). Анализ данных по критерию Крускала-Уоллиса ($P < 0,05$) и Данна показал разницу между контролем и группами пациентов ($P < 0,05$). **Выводы.** Снижение активности параоксоназы-1 наблюдалось у обеих групп пациентов с хронической болезнью почек по сравнению с контролем. Повышение активности миелопероксидазы наблюдалось у пациентов с хронической болезнью почек V стадии, а снижение – у пациентов с хронической болезнью почек I-II стадии. Таким образом, активность энзимов в составе липопротеинов высокой плотности отражает их функциональный статус и свидетельствует о патологических изменениях в организме, более выраженный у пациентов с хронической болезнью почек V стадии. Предлагаем использовать активность параоксоназы-1 и миелопероксидазы в качестве потенциальных маркеров предупреждения развития осложнений сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с хронической болезнью почек.

Ключевые слова: параоксоназа-1, миелопероксидаза, хроническая болезнь почек, сердечно-сосудистые заболевания, оксидативный статус.

UDC 577.112.85:616.61

Activity Of Lipoprotein-Associated Paraoxonase-1 Enzymes and Myeloperoxidase in Patients with Chronic Kidney Disease

Vasilchenko V., Dunaevskaya O., Korol L., Kuchmenko O., Stepanova N.

Abstract. Developing of comorbidities associated with impaired immune and cardiovascular function in patients with chronic kidney disease is impossible. That is why the study of potential indicators of the development of pathological conditions of the cardiovascular system in patients with chronic kidney disease is relevant and necessary.

The purpose of the work was to study the qualitative state of lipoproteins, enzyme activity, in patients with chronic kidney disease.

Material and methods. To achieve this goal, the activity of paraoxonase-1 and serum myeloperoxidase was determined in 36 patients with chronic kidney disease. The activity of paraoxonase-1 was determined spectrophotometrically by the number of phenolic complexes formed using phenylacetate; myeloperoxidase activity was researched by reaction with hydrogen peroxide in the presence and without its specific inhibitor (gamma-aminobenzoic acid).

Results and discussion. According to the results of our studies, the activity of paraoxonase-1 in the reference group of conditionally healthy individuals was 6.57 kU / l. In the group of patients with stage I-II of chronic kidney disease enzyme activity decreased by 30% (4,58 kU / l) and in the group of patients with stage V of chronic kidney disease it decreased by 46% (3,55 kU / l) compared with the reference group. Data analysis by the Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$) confirmed the difference between the groups. Dunn's test indicated that there was a difference between control and both groups of patients ($P < 0.05$). Myeloperoxidase activity in patients in group 1 was almost halved to an average of 0.12 conventional units / l, and in patients in group 2, on the contrary, increased 1.5 times (up to 0.37 conventional units / l). Data analysis using the Kruskal-Wallis ($P < 0.05$) and Dunn's tests established the difference between control and patient groups ($P < 0.05$).

Conclusion. The decreased paraoxonase-1 activity was observed in both groups of patients with chronic kidney disease compared with controls. Increased myeloperoxidase activity was observed in patients with stage V of chronic kidney disease, and a decrease in patients with stage I of chronic kidney disease. Thus, the activity of enzymes, in the composition of high-density lipoproteins, reflected their functional status and indicated pathological changes in the body, more pronounced in patients with stage V of chronic kidney disease. We suggest using the activity of paraoxonase-1 and myeloperoxidase as potential markers to prevent the development of complications of cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease.

Keywords: paraoxonase-1, myeloperoxidase, chronic kidney disease, cardiovascular disease, oxidative status.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 05.08.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування