

3. Cellular membrane disruption by amyloid fibrils involved intermolecular disulfide cross – linking / B. Huang [et al.] // Biochemistry. – 2009. – Vol. 48. – P. 5794-5800.
4. Methods to Monitor ROS Production by Fluorescence Microscopy and Fluorometry / A. Wojtala [et al.] // Methods in enzymology. – 2014. – P. 243-245.

## **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КОМПЛЕКСА ЛАКТОФЕРРИНА И ОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ С ЦЕРУЛОПЛАЗМИНОМ**

**Соколов А.В.<sup>1</sup>, Власенко А.Ю.<sup>1</sup>, Костевич В.А.<sup>1</sup>, Луценко В.Е.<sup>2</sup>,  
Старикова Э.А.<sup>1</sup>, Васильев В.Б.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Ранее нами было показано, что катионный трансферрин экзокринных секретов и гранул нейтрофилов, лактоферрин (ЛФ), формирует специфический комплекс с медь-содержащим белком плазмы крови, церулоплазмином (ЦП), *in vivo* и *in vitro* [1]. Для многих белков молока, например альфа-лактальбумина, показано формирование комплексов с олеиновой кислотой (HAMLET) с выраженной активностью против раковых клеток [2]. Недавно цитотоксический комплекс с олеиновой кислотой был описан и для ЛФ из молока коров [3]. Целью нашей работы было сравнение возможности и специфичности образования *in vitro* и *in vivo* многокомпонентных комплексов, включающих ЛФ (человека и коровы), ЦП и олеиновую кислоту, а также функциональные последствия такого взаимодействия.

В течение 1-5 часов после внутрибрюшинной инъекции крысам ЛФ человека либо ЛФ коровы (100 мг/кг) мы обнаружили увеличение концентрации неэстерифицированных жирных кислот в 1,5-4,2 раза, а также образование гетерологичных комплексов ЦП крыс с ЛФ по данным Вестерн-блоттинга и специфической окраски активности ЦП *o*-дианизидином. В комплексе ЦП-ЛФ, выделенном из сыворотки крыс, была обнаружена олеиновая кислота, что подтверждает наше предположение о возможности образования комплекса между ними *in vivo*.

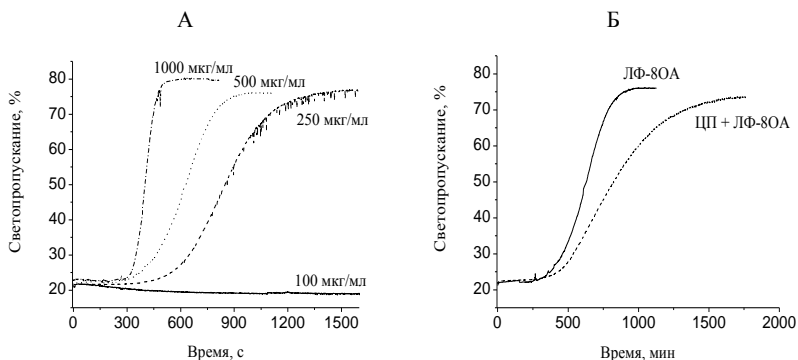


Рисунок 1 – Влияние ЛФ с олеиновой кислотой на эритроциты крови человека: А – типичные кинетические кривые гемолиза эритроцитов в фосфатно-солевом буфере, содержащем 1 мМ CaCl<sub>2</sub>, 0,5 мМ MgCl<sub>2</sub> (рН 7,4), при добавлении различных концентраций ЛФ, содержащего 8 моль олеиновой кислоты на 1 моль ЛФ; б – типичные кинетические кривые гемолиза эритроцитов, инициированного добавлением 500 мкг/мл ЛФ, содержащего 8 моль олеиновой кислоты на 1 моль ЛФ, в отсутствие и в присутствии 300 мкг/мл ЦП

При добавлении раствора олеиновой кислоты в этаноле к ЛФ мы не наблюдали образования мицелл, характерного для смешивания олеиновой кислоты с водой и физиологическим раствором. Титрование ЛФ олеиновой кислотой показало, что один моль ЛФ может связать до 8 моль олеиновой кислоты. При этом ЛФ человека и коровы практически не отличались по способности к связыванию жирной кислоты. Оба комплекса показали практически идентичную аффинность к ЦП по данным электрофореза, поверхностного плазмонного резонанса и аффинной хроматографии на агарозном геле с иммобилизованным ЦП. Комплексы ЛФ с олеиновой кислотой индуцировали апоптоз раковых клеток (HL-60, ТНР-1, Jurkat) и лимфоцитов, выделенных из периферической крови человека, а также дозо-зависимым образом инициировали гемолиз эритроцитов (рисунок 1 А). Однако присутствие ЦП в среде предотвращало описанные цитотоксические эффекты. На рисунке 1 Б представлены данные по влиянию ЦП на гемолиз эритроцитов, индуцированный комплексом ЛФ и олеиновой кислоты.

Таким образом, взаимодействие ЦП с комплексом ЛФ и олеиновой кислоты может модулировать его цитотоксическую активность.

Исследование поддержано грантом Президента РФ МК-5074.2016.4.

### Литература

1. Sokolov, A.V. et al. // *Biometals*. – 2014. – Vol. 27. – P. 815-828.
2. Rath, E.M. et al. // *J. Pharm. Pharm. Sci.* – 2015. – Vol. 18. – P. 773-824.
3. Fang, B. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2014. – Vol. 1841. – P. 535-543.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА У ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Соколов А.В.<sup>1,2,3</sup>, Костевич В.А.<sup>1,2</sup>, Григорьева Д.В.<sup>4</sup>, Горудко И.В.<sup>4</sup>, Черенкевич С.Н.<sup>4</sup>, Васильев В.Б.<sup>1,3</sup>, Панасенко О.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России,  
Москва, Россия

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный университет,  
Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Сердечно-сосудистые заболевания сопровождаются развитием галогенирующего/окислительного стресса, опосредованного галогенирующей активностью фермента нейтрофилов, миелопероксидазы (МПО) [1]. Продукты катализа МПО,  $\text{HOCl}$  и  $\text{NOBr}$ , модифицируют практически все типы биомолекул, в том числе белки и липиды в составе липопротеинов низкой плотности (ЛНП) крови. Для модификации ЛНП с участием МПО важны как связывание фермента с их поверхностью, так и уровень активности МПО [2], регулируемый рядом факторов плазмы, в том числе ее физиологическим ингибитором, церулоплазмином (ЦП) [3]. Проведенные нами исследования показали, что ЛНП, модифицированные продуктами катализа МПО ( $\text{HOCl}$  и  $\text{NOBr}$ ) и карбонильными соединениями (малоновым диальдегидом, МДА и метилглиоксалем, МГ), являются