

АЛЬБУМИН, МОДИФИЦИРОВАННЫЙ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИПЕРГЛИКЕМИИ, ИНГИБИРУЕТ ЛЕЙКОЦИТАРНУЮ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗУ, ПРЕПЯТСТВУЯ РАЗВИТИЮ ГАЛОГЕНИРУЮЩЕГО СТРЕССА

В. А. Иванов¹, В. А. Костевич^{1,2}, Н. П. Горбунов², И. В. Горудко³,
Д. В. Григорьева³, А. В. Соколов^{1,2}, О. М. Панасенко¹

¹ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина ФМБА, Москва, Россия

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Ключевой фермент клеточного звена врожденного иммунитета лейкоцитарная миелопероксидаза (МПО) катализирует образование активных форм галогенов, которые, с одной стороны, выполняют бактерицидную функцию, уничтожая патогены, с другой – повреждают биомолекулы, клетки и ткани, что приводит к развитию галогенирующего стресса, способствующего воспалительным заболеваниям. Одно из таких заболеваний – сахарный диабет, как правило, сопровождается гипергликемией, которая приводит к неферментативному гликированию белков под действием глюкозы и основных продуктов ее превращения – глиоксаля и метилглиоксаля (МГ). Гликированные белки способны снижать активность таких бактерицидных агентов, как лизоцим и лактоферрин, способствуя развитию инфекционных осложнений. Цель работы – выяснить, изменится ли в условиях моделирования гипергликемии ферментативная активность МПО и повлияет ли это на уровень маркеров галогенирующего стресса в крови человека.

Методы. Гипергликемию моделировали добавлением к МПО или в цельную кровь глюкозы, МГ или человеческого сывороточного альбумина, модифицированного путем инкубации с МГ (ЧСА-МГ). Пероксидазную активность МПО регистрировали по окислению 2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоната) аммония, хлорирующую – по обесцвечиванию целестинового синего В. Связывание МПО с ЧСА-МГ исследовали методом электрофореза, а также с использованием моноклональных антител против МПО. МПО, хлорированные церулоплазмин (ЦП-С1) и липопротеины низкой плотности (ЛНП-С1) регистрировали в плазме крови методом ИФА с использованием соответствующих моноклональных антител. Дегрануляцию нейтрофилов исследовали методом проточной цитофлуориметрии, регистрируя экспрессию на поверхности клеток маркера азурофильных гранул (CD63) с использованием флуоресцентно меченых антител.

Результаты. Добавление к МПО глюкозы (до 22 мМ) или МГ (до 42 мкМ) не влияло на ее ферментативную активность. ЧСА-МГ связывался с МПО, образуя прочный комплекс ($K_d = 1,1$ нМ), что подтверждает конкуренция ЧСА-МГ с моноклональными антителами против МПО за связывание с ферментом. ЧСА-МГ дозозависимо ингибировал пероксидазную и хлорирующую активности МПО по неконкурентному механизму. Инкубация донорской крови при 37 °С с ЧСА-МГ в течение 1,5 ч с последующим добавлением активатора нейтрофилов форбол-12-миристан-13-ацетата приводила к достоверному снижению во внеклеточной среде уровня как самой МПО, так и ЦП-С1 и ЛНП-С1. Ни глюкоза, ни МГ в аналогичных условиях не влияли на содержание МПО, ЦП-С1 и ЛНП-С1 в крови. Поскольку источником МПО в крови являются

нейтрофилы, исследовали влияние ЧСА-МГ на высвобождение МПО из их гранул. Установлено, что ЧСА-МГ не влиял на экзоцитоз содержимого азурофильных гранул, в том числе и МПО.

Вывод. Моделирование гипергликемии путем добавления глюкозы или МГ к изолированной МПО (*in vitro*) или в цельную кровь (*ex vivo*) не влияло на ее ферментативную активность и маркеры галогенирующего стресса в крови. ЧСА-МГ связывался с МПО, ингибировал ее активность, препятствуя галогенирующему стрессу.

Работа поддержана грантом РФФ № 20-15-00390-П.