

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ И КАТИОННЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ

**Г. Д. Мороз<sup>1</sup>, Т. В. Вахрушева<sup>1</sup>, А. В. Соколов<sup>1,2</sup>, М. С. Юдин<sup>1,3</sup>, А. М. Варижук<sup>1</sup>,  
С. Э. Алиева<sup>1</sup>, В. Н. Лазарев<sup>1,3</sup>, О. М. Панасенко<sup>1</sup>**

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

<sup>2</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет), Москва, Россия

Возрастающее распространение устойчивых к антибиотикам бактерий побуждает к поиску новых антибактериальных препаратов, в качестве которых перспективными считаются короткие катионные антимикробные пептиды (кАМП). Как правило, при оценке биосовместимости кАМП ограничиваются определением их цитотоксичности. Очень мало исследований взаимодействия кАМП с белками организма-хозяина. В этом отношении особый интерес представляют собственные антибактериальные белки организма. Одним из них является фермент миелопероксидаза (МПО), секретируемый нейтрофилами в очаге инфекции, где ожидается и присутствие кАМП. Взаимодействие кАМП и МПО может сказаться как на бактерицидности кАМП, так и на активности МПО. Цель работы – исследование влияния: 1) кАМП на каталитическую активность МПО и 2) модификации кАМП, вызванной действием  $\text{HOCl}$ , антимикробного продукта функционирования МПО, на бактерицидность кАМП.

**Методы.** В работе использованы четыре коротких кАМП, сконструированных на основе микробиома пиявки *Hirudo medicinalis*: *pept\_1545* (FLIGKAIKRKFLRSVWNA), Hm-AMP1 (RLKRFKRVALRREKTARNFRSIVS), Hm-AMP2 (EKRWRRLLIFNYF) и Hm-AMP8 (RAVIYKIPYNAIASRWIIAPKKC). Связывание кАМП с МПО определяли методом микромасштабного термофореза. Пероксидазную активность МПО оценивали спектрофотометрически по изменениям спектра поглощения гемовой группы при переходе фермента из нативной формы в промежуточное редокс-состояние. Для выявления участия остатков тирозина и цистеина пептидов в реакциях пероксидазного цикла МПО использовали, соответственно, метод флуориметрии и измерение свободных  $-\text{SH}$  групп с помощью реактива Элмана. Бактерицидное действие кАМП оценивали на бактериях *E. coli*. О количестве бактерий судили по оптической плотности при 540 нм.

**Результаты.** Методом микромасштабного термофореза показано, что все исследуемые кАМП связываются с МПО (диапазон  $K_d$  1–10 мкМ). При этом Hm-AMP2 активировал, у *pept\_1545* с увеличением концентрации активирующее действие сменялось на ингибирующее, Hm-AMP8 ингибировал, а Hm-AMP1 не влиял на пероксидазную активность МПО. Установлено, что в механизмах обнаруженного влияния пептидов на активность МПО участвуют их остатки тирозина и цистеина. Степень модификации кАМП под действием  $\text{HOCl}$  варьировали, используя разное мольное соотношение  $\text{HOCl}$ /пептид. При его увеличении до определенного значения прекращалось бактерицидное действие пептида. Это соотношение составило 2:1 для Hm-AMP2 и 5:1 для *pept\_1545* и Hm-AMP8. Этот результат с учетом аминокислотного состава указанных

пептидов позволяет предположить, что модификация остатков лизина, а не цистеина, играла существенную роль в потере пептидами бактерицидной активности.

*Вывод.* На примере исследованных кАМП показано, что короткие кАМП в зависимости от аминокислотного состава могут: 1) оказывать влияние на каталитическую активность МПО, ингибируя её или ускоряя каталитические обороты; 2) терять свой бактерицидный потенциал, став мишенью для НОСІ, высокореакционного антимикробного агента, продуцируемого МПО.