

ческого алгоритма ИА являются актуальными вопросами в педиатрии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Федоскова Т.Г., Лусс Л.В. Кожные проявления инсектной аллергии. Принципы медикаментозной терапии и профилактики. Российский аллергологический журнал, 2014, №3, с.37-46.
2. Швец С.М. Аллергические реакции на яд жалящих насекомых. Российский аллергологический журнал, 2004, №3, с.9-18.
3. Chipps В.Е. The value of immunotherapy with venom in children with allergy to insect sting. Pediatrics, 1992, v.90, №2, p.291-298.
4. Walls R.S. Роль факторов окружающей среды в возникновении респираторной аллергии, Астма, 2009, т.10, №1, с.42-43.
5. Чурсина Е.М., Рыбникова Е.А., Федоскова Т.Г., Продеус А.П. Показатели распространенности ИА у

детей с аллергопатологией – жителей московского региона. Российский аллергологический журнал, 2016, т.2, №3, с.41-42.

6. Muller U., Johansen N., Petersen A. Hymenoptera venom allergy. Allergy, 2009, v.64, p.543-548.
7. Simons F., Peng Z. Skeeter syndrome. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 1999, v. 104, p. 705-711.
8. Tan J., Campbell D. Insect allergy in children. Journal of Paediatrics and Child Health, 2013, v. 49, p. 381-387.
9. Pfender N., Lucassen R., Offermann N., Schulte-Pelkum J., Fooke M., Jako T. Evaluation of a Novel Rapid Test System for the Detection of Specific IgE to Hymenoptera Venoms. Journal of Allergy, 2012, Article ID 862023.
10. Гущин И.С., Читаева В.Г. Аллергия к насекомым. Клиника, диагностика и лечение, М., 2003, с.48-56.

СЫВОРОТОЧНЫЙ АЛЬБУМИН В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИНТЕРФЕРОНОВ

Сагакянц А.Б.

ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванковского, кафедра биохимии и микробиологии, г. Ростов-на-Дону

SERUM ALBUMIN IN REGULATION OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF INTERFERONS

Sagakyants A.B.

Russia, Rostov-on-Don, Southern Federal University, Academy of Biology and Biotechnology, department of biochemistry and microbiology

Сывороточный альбумин (СА) – сложная, сполифункциональная система, выполняющая коммуникативные функции в живых системах. Уникальная конформационная подвижность молекулы СА, его полифункциональность и участие в поддержании ряда важнейших составляющих гомеостаза в многоклеточном организме – всё это делают альбумин объектом пристального изучения для решения актуальных задач фундаментальной и прикладной биомедицины [1,2].

СА оказывает существенное влияние на окислительно-восстановительный потенциал организма, обладая про- и антиоксидантными свойствами, формируя своеобразную «буферную» систему, а также участвует в тиоловом обмене [8]. Важнейшей функцией СА является участие молекулы в транспорте самого широкого спек-

тра соединений эндо- и экзогенного происхождения, причём показана уникальная способность СА обеспечивать трансэндотелиальный переход в системе «кровь-ГГБ (ГЭБ)», а также связанная с транспортом веществ дезинтоксикационная функция белка [3,5,7].

В последнее время особое внимание исследователей привлекают представители новой функциональной группы эндогенных веществ – аларминов, или ДАМП, появляющихся при повреждении различного характера и определяющих запуск сложных процессов, направленных на восстановление гомеостаза [4,6]. К числу данных молекул относят и интерферон-альфа (ИФН-α), обладающего выраженной противовирусной, антипролиферативной и регуляторной активностями. Функциональная активность

аларминов зависит от разных факторов: как от типа деструктивного процесса, силы и выраженности патогенетического фактора, от характера их химической модификации (окислительные модификации, протеолиз и др.), так и от скорости высвобождения и распределения этих соединений во внутренней среде организма. Определенную роль может иметь неспецифическое взаимодействие с другими белками, в частности, с молекулами СА.

В связи с выше изложенным, целью данной работы являлось исследование влияния СА на концентрацию ИФН- α при различных условиях (рН среды и температуре) и сроках инкубации, что может отражать вероятное влияние СА на функциональную активность данной группы цитокинов.

Постановка эксперимента:

1) Приготовление рабочего раствора сывороточного альбумина проводили путём разведения исходного 100 г/л раствора САЧ (производства ФГУП «НПО Микроген», Россия) соответствующим буфером – ацетатном буфере, рН 3.4; фосфатном буфере, рН 7.4 и ТРИС-НСI буфере, рН 8.4 в соотношении 1:1 (1 часть 100 г/л САЧ и 1 часть буфера);

2) приготовление рабочего раствора ИФН- α : содержимое ампул с леофилизированным лейкоцитарным препаратом интерферона-альфа (производства ФГУП «НПО Микроген», Россия) разводили в 2 мл соответствующего буфера (ацетатном буфере, рН 3.4; фосфатном буфере, рН 7.4 и ТРИС-НСI буфере, рН 8.4).

Рабочие растворы САЧ и ИФН- α прединкубировали при температуре $18 \pm 2,00^\circ\text{C}$ в течение 30 минут. По истечении времени прединкубации готовили основную инкубационную смесь, включающую 1 мл рабочего раствора САЧ (50 г/л) и 50 мкл ИФН- α .

3) Экспериментальная модельная система содержала 1 мл САЧ (50 г/л) и 50 мкл ИФН- α на соответствующем буфере. Модельные системы разделяли по сериям (10 параллелей в каждой), которые инкубировали при 370°C и 500°C в течение 15 и 30 минут.

По завершению сроков инкубации в инкубационной смеси проводили определение концентрации ИФН- α методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора «Альфа-интерферон-ИФА-Бест» производства ЗАО Вектор-Бест (Ново-

сибирск, Россия) в соответствии с инструкцией к набору. Результаты считывали на фотометре Stat Fax 2100 (Awareness Technology, Inc., USA), с использованием программного обеспечения для иммуноферментного анализа PlateStat (Austria). Концентрацию ИФН- α в инкубационной системе рассчитывали по калибровочной кривой и выражали в пг/мл.

Результаты, полученные в сериях опытов, обрабатывали статистически по методу Стьюдента-Фишера.

Функциональная активность биологически важных молекул, к которым относятся как молекулы интерферона, так и молекулы альбумина, зависит от особенностей структурной организации, определяемой условиями, в которых находится молекула. При изменении условий (рН, температура) происходит закономерное изменение пространственной организации биополимеров с дальнейшим изменением их функциональной активности. При этом следует отметить возможность взаимодействия полипептидов, что также вносит свой вклад в характер реализации функциональной активности молекул.

Проведение совместной инкубации САЧ и ИФН-альфа при различных значениях рН и температурах приводит к выраженным изменениям концентрации ИФН-альфа, а характер выявленных изменений позволяет говорить о некоторых особенностях вероятного взаимодействия САЧ и ИФН-альфа.

Так, при рН 3,4, температуре 370°C и 500°C концентрация ИФН-альфа после инкубации с САЧ составила $20,2 \pm 0,8$ пг/мл (15 мин), что ниже контрольных данных на 79% ($p < 0,05$), $18,2 \pm 0,8$ пг/мл (30 мин), что выше контрольных данных на 275% ($p < 0,05$) и $14,6 \pm 2,2$ пг/мл (15 мин), что ниже контрольных значений на 79% ($p < 0,05$), $3,0 \pm 0,6$ пг/мл (30 мин), что ниже контрольных значений на 57% ($p < 0,05$) соответственно.

При рН 7.4, температуре 370°C и 500°C концентрация ИФН-альфа после инкубации с САЧ, составила $120,9 \pm 6,4$ пг/мл (15 мин), что выше контрольных данных на 10% ($p < 0,05$), $124,6 \pm 4,1$ пг/мл (30 мин), что выше контрольных данных на 26% ($p < 0,05$) и $121,2 \pm 8$ пг/мл (15 мин), что выше контрольных значений на 13% ($p < 0,05$), $126,3 \pm 5,9$ пг/мл (30 мин), что выше контрольных значений на 51% ($p < 0,05$) соответственно.

При рН 8.4, температуре 370°C и 500°C концентрация ИФН-альфа после инкубации с САЧ, со-

ставила $114,3 \pm 6.1$ пг/мл (15 мин), что выше контрольных данных на 15% ($p < 0,05$), $62,7 \pm 5.3$ пг/мл (30 мин), что выше контрольных данных на 10% ($p < 0,05$) и $107,9 \pm 2,4$ пг/мл (15 мин), что выше контрольных значений на 34% ($p < 0,05$), $63,5 \pm 3.4$ пг/мл (30 мин), что выше контрольных значений на 51% ($p < 0,05$) соответственно. Увеличение концентрации ИФН-альфа может свидетельствовать о вероятном взаимодействии молекул данного цитокина с молекулами СА.

Вероятно, основой для взаимодействия данных белков является изменение пространственной структуры альбумина, особенно выраженные при низких значениях рН, где наблюдается N-F конформационный переход с расширением молекулы белка, расхождением в пространстве доменов, что способствует, вероятно, увеличению способности альбумина присоединять различные лиганды. На фоне структурных преобразований отмечается мономеризация молекул ИФН-альфа, что также может обуславливать повышение вероятности его присоединения к альбумину. В данных условиях роль подобного взаимодействия может заключаться в стабилизации пространственной структуры ИФН-альфа, что, несомненно, будет благоприятно сказываться на функциональной активности белка.

Особенности организации, обмена в организме и распределения, а также за счёт взаимодействия с рядом рецепторов, молекула СА характеризуется длительным периодом полужизни в циркуляторном русле – около 19 дней [5,7]. Все процессы перераспределения в организме СА опосредуются несколькими рецепторами: gp18, gp30, gp60, кубулин (cubulin), мегалин (megalin) и неонатальный Fc рецептор (FcRn). Показано участие данных рецепторов в обеспечении функциональной активности СА и присоединенных к молекуле веществ.

В нашей лаборатории было проделано дополнительное исследование возможной модулирующей активности СА по отношению к функциональным свойствам ИФН- $\alpha 2$, в частности, на способность последней индуцировать продукцию ряда цитокинов (ЦК) клетками периферической крови доноров в опытах *ex vivo*. В результате отмечено, что интенсивность спонтанной и митоген-активируемой продукции ЦК клетками периферической крови зависит от наличия в инкубационной среде ИФН- $\alpha 2$, либо прединкубированного комплекса «СА-ИФН- $\alpha 2$ », в последнем

случае отмечено более выраженное изменение продукции ЦК. Наиболее выраженное изменение коэффициента стимуляции клеток крови по продукции ЦК наблюдается в том случае, когда комплекс «СА-ИФН- $\alpha 2$ » прединкубировался в ацетатном буфере, рН 3,4.

На основании проведённых экспериментов и литературных данных можно предположить, что при развитии патологических процессов, сопровождающихся ацидозом интерстиций, формируются условия, обеспечивающие эффективное взаимодействие не только СА и FcRn, но и СА и ИФН- $\alpha 2$. Данный тип взаимодействий может определять функциональную активность реагирующих молекул, особенности которой требуют дальнейшего исследования.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Сагакянц А.Б. Биохимические механизмы протекторного действия сывороточного альбумина, нитроглицерина и протимозина-альфа при гипокинетическом и вестибулярном воздействиях. // Дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук. – Ростов-на-Дону, 2003. – 173 с.
2. Сагакянц А.Б., Синичкин А.А. Структурно-функциональная метастабильность альбумина как источник коммуникативной функции белка. // Материалы международного симпозиума: «Молекулярные механизмы регуляции функции клетки». – Тюмень, 2005. – С. 98-100.
3. Синичкин А.А., Бардахчян Э.А., Сагакянц А.Б. Трансэндотелиальные переходы сывороточного альбумина, связанного с красителем Эванса синим, через гематоэнцефалический барьер у крыс при острой форме гипероксии. // Известия Высших учебных заведений. Сев.-Кавказский регион. Естествен. науки, 2009. - №2. - СС. 96-98.
4. Хаитов Р.М., Сагакянц А.Б. Эволюция современных представлений о формировании ответной реакции организма на повреждение. // Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогенетика. - Т. 15. - № 5, 2011. – СС. 10-17.
5. Fanali G., Alessandra di Masi, Trezza V., Marino M., Fasano M., Ascenzi P. Human serum albumin: From bench to bedside// Molecular Aspects of Medicine. – 33. – 2012. – p. 209–290
6. Hertzog P.J., O'Neill L.A., Hamilton J.A. The interferon in TLR signaling: more than just antiviral. // TRENDS in immunology. - 2003. – Vol. 24. – No 10. – P. 534-539.
7. Peters, T., Jr. (Ed.). All about Albumin: Biochemistry, Genetics and Medical Applications. Academic Press, San Diego and London. - 1996.
8. Roche M., Rondeau Ph., Singh N.R., Tarnus E., Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin // FEBS Letters. – 582. – 2008. – p. 1783–1787