

# ПЛАЗМИНОГЕН-АКТИВАТОРНАЯ ФУНКЦИЯ УРОКИНАЗЫ И ТКАНЕВОГО АКТИВАТОРА В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ $Fe^{2+}$

**Пыжова Н.С., Никандров В.Н.**

*РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь*

Перицеллюлярный протеолиз, включающий звено плазминоген-плазмин (Pg-Pl), играет чрезвычайно важную роль в регуляции жизнедеятельности клеток нервной ткани, а также в защите их от воздействия повреждающих факторов [1]. Тем не менее, молекулярные механизмы регуляции этого звена и их нарушения при патологии все еще далеки от исчерпывающей ясности. Железо – жизненно необходимый элемент, но избыточное накопление его в головном мозгу и в нервной ткани вызывает дегенеративные изменения, включая демиелинизацию [2,3]. В нервной ткани синтезируются Pg, а также его активаторы – урокиназа (УК), тканевый активатор Pg (ТАР) [1]. Железо участвует в регуляции экспрессии гена ингибитора-I активатора плазминогена (РАI-I) и УК [4,5]. Однако данные литературы о влиянии его ионов на Pg-активаторную способность УК и ТАР до наших исследований отсутствовали.

Цель настоящей работы – раскрыть особенности действия ионов  $Fe^{2+}$  на Pg-активаторную способность УК и ТАР.

В работе использованы образцы УК и ТАР, плазмина, белки и другие реактивы, методы определения P<sub>g</sub>-активаторной способности и фибринолитической активности (по лизису фибриновых пластин, содержащих активируемый P<sub>g</sub>, и пластин с инактивированным P<sub>g</sub>) описанные нами ранее [6]. Учитывая феномен фосфатного эффекта в протеолизе [7], определение активности проведено и в 0,15 М растворе NaCl и в 0,06 М фосфатном буфере. Ионы железа добавляли в виде FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O. Все исследования выполнены не менее чем 4-кратно. Результаты обработаны статистически. В тексте ниже описаны только статистически достоверные результаты (P≤0,05).

В отсутствие неорганического ортофосфата добавление ионов Fe<sup>2+</sup> в диапазоне концентраций 10<sup>-4</sup>–10<sup>-1</sup> М к обоим активаторам P<sub>g</sub> вызвало угнетение их P<sub>g</sub>-активаторной способности (рис.).

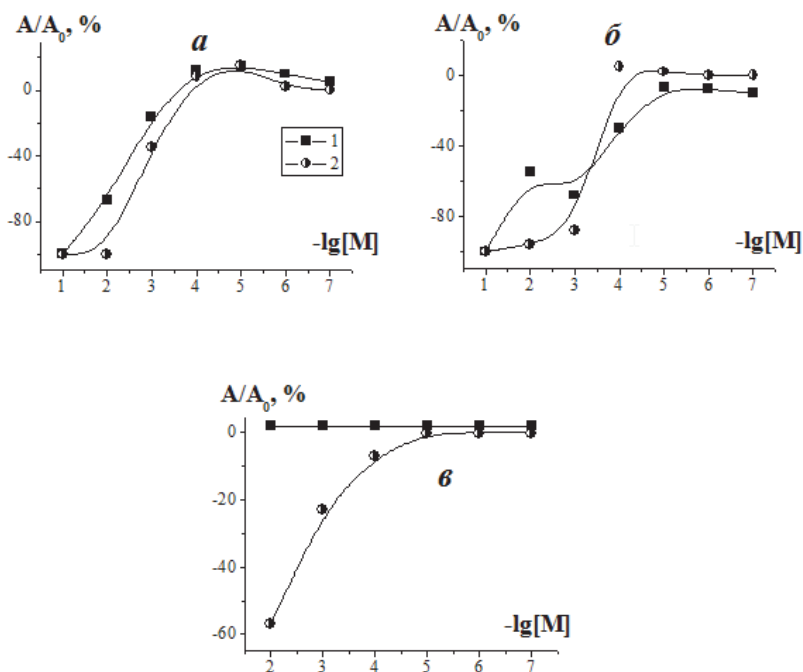


Рис. Влияние Fe<sup>2+</sup> на изменения (% к контролю) плазминоген-активаторной способности тканевого активатора (*a*), урокиназы (*б*) и фибринолитической активности плазмина (*в*) в 0,15 М растворе хлорида натрия (1) или 0,06 М фосфатном буфере рН 7,4 (2)

Поскольку в этих условиях фибринолитическая активность плазмина не изменялась, данный эффект обусловлен воздействием катионов металла на молекулы активатора либо на взаимодействие их с P<sub>g</sub>.

В присутствии ионов неорганического ортофосфата подавление активаторной функции ТАР усиливалось в диапазоне концентраций Fe<sup>2+</sup> 10<sup>-3</sup>–10<sup>-2</sup> М: эффект достигал 35 и 100% соответственно против 16 и 35% в бесфосфатной среде. В том же концентрационном диапазоне заметно возросло ингибирующее действие катионов Fe<sup>2+</sup> на активаторную функцию УК, достигая 88 и 96% против 55 и 68% в бесфосфатной среде.

В присутствии неорганического ортофосфата добавление ионов железа, начиная с концентрации 10<sup>-3</sup> М, вело к заметному подавлению фибринолитической активности плазмина. Однако даже при максимальной концентрации катиона сила эффекта не достигала таковой для активаторов P<sub>g</sub>. В данном случае был использован растворенный плазмин, что отличает эту ситуацию от определения P<sub>g</sub>-активаторной способности, где плазмин образуется из прочно связанного с фибрином P<sub>g</sub> и такой плазмин уже не переходит в раствор.

Изменения P<sub>g</sub>-активаторной активности обнаружены нами при чрезмерно высоких для клетки концентрациях Fe<sup>2+</sup>. Конечная же концентрация ТАР, УК и плазмина в данных экспериментах не превышала 10<sup>-6</sup> М. Однако эти эксперименты нами выполнены в модельных молекулярных системах, а в клетках и тканях многие процессы идут на границе раздела фаз, на биомембранах или же на активаторах P<sub>g</sub>, плазмине, связанных со специфическими рецепторами. Поэтому соотношение молекул белка и катионов металла в определенном сайте в конкретное время может быть 1:1 и даже превышать эту величину. Исходя из этого, вполне логично считать, что накопление железа в нервной ткани может угнетать P<sub>g</sub>-активаторную способность ТАР и УК, что с неизбежностью повлечет за собою ряд структурно-функциональных изменений нервной ткани. Разумеется, патогенетическое значение описанных выше эффектов должно быть проработано в дальнейшем на уровне организма.

### Литература

1. Никандров, В.Н. Действие плазминогена и стрептокиназы на жизнедеятельность клеток нервной ткани в культуре / В.Н.Никандров и др. // Биомед. химия. – 2008. – Т. 54, № 2. – С. 192–200.
2. Ward, R.J. Neurodegenerative diseases and therapeutic strategies using iron chelators / R.J.Ward, D.T.Dexter, R.R.Crichton // J. Trace Elem. Med. Biol. – 2015. – Vol. 31. – P. 267–273.

3. Daugherty, A.M. Accumulation of iron in the putanem predicts its shrinkage in healthy older adults: a multi-occasion longitudinal study / A.M.Daugherty, N. Raz // *Neuroimage*. – 2016. – Vol. 128. – P. 11–20.
4. Radha, K.S. Iron-mediated stability of PAI-1 mRNA in adenocarcinoma cells-involvement of a mRNA-binding nuclear protein / K.S. Radha et al. // *Thromb. Res.* – 2005. – Vol. 116, No 3. – P. 255–263.
5. Ornstein, D.L., Zacharski L.R. Iron stimulates urokinase plasminogen activator expression and activates NF-kappa B in human prostate cancer cells / D.L.Ornstein, L.R.Zacharski // *Nutr. Cancer*. – 2007. – Vol. 58, No 1. – P. 115–126.
6. Никандров, В.Н. Методы исследования протеолиза / В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова // *Современные проблемы биохимии. Методы исследований*. – Минск: Выш. шк., 2013. – Гл. 5. – С. 132–157.
7. Пыжова, Н.С. Влияние биогенных фосфатов на расщепление белков протеиназами и функцию активаторов плазминогена / Н.С.Пыжова, В.Н.Никандров // *Биоорг. химия*. – 2008. – Т. 34, № 3. – С. 382–391.