

**Министерство здравоохранения
Республики Беларусь
Белорусский центр научной медицинской информации
Академия медицинских наук Республики Беларусь**

**Health Ministry of the Republic of Belarus
Byelorussian Center of Scientific Medical Information
Academy of Medical Sciences of the Republic of Belarus**

**ДОСТИЖЕНИЯ
МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ
БЕЛАРУСИ**

ВЫПУСК III

РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЕЖЕГОДНИК

**ACCOMPLISHMENTS OF MEDICAL SCIENCE
IN BELARUS**

3rd Issue

**Минск
БелЦНМИ
1998**

УДК 577.151.042:577.34

УЧАСТИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ РЕАКЦИЯХ

Н.С. Пыжова, В.Н. Никандров

Рубрика: 76.03.31

Тема НИР: «Кислородзависимый протеолиз (пути реализации кислородзависимого протеолиза на молекулярном уровне и в культуре клеток)».

Сроки выполнения НИР: 1992—1995 гг.

Научный руководитель: д-р биол. наук, проф. В.Н. Никандров.

Источник финансирования: Фонд фундаментальных исследований РБ (грант Б11–235).

Методом ингибиторного анализа с использованием перехватчиков различных форм активного кислорода (синглетного, гидроксильного, супероксидного, H_2O_2) впервые показана возможность участия этих форм в каталитической функции металлопротеиназ *Staphylococcus aureus*, *Bac. subtilis*, яда змеи, α -амилаз из *Bac. subtilis* и поджелудочной железы. Чувствительность указанных энзимов к различным перехватчикам позволяет считать, что наиболее вероятно участие в каталитической функции гидролаз супероксидного радикала и H_2O_2 . Исследование кинетики ингибирования протеолитического действия пепсина на сывороточный альбумин одним из перехватчиков супероксидного радикала — адреналином — выявило ингибирование по неконкурентному механизму. Это согласуется с авторской гипотезой участия активных форм кислорода в каталитической функции протеиназ.

В системе NADH-феназинметосульфат и в тесте автоокисления пирогаллола впервые обнаружена супероксиддисмутазаподобная способность пепсина и трипсина, в отличие от стрептокиназы не зависящая от концентрации в системе нуклеотида. В случае пепсина эта способность практически полностью снижается добавками (10^{-3} М) диэтилдитиокарбамата, ЭДТА, 8-оксихинолина, а в присутствии 8М мочевины — и фер-

роцианида калия. Супероксиддисмутазаподобная способность трипсина чувствительна ко всем комплексонам, включая о-фенантролин. В стандартной тестовой системе супероксидконвергирующая способность пепсина или трипсина уступает таковой истинной Cu, Zn-супероксиддисмутазы на 3 порядка.

Впервые показано, что обработка химотрипсиногена А перекисью водорода, химическими системами генерирования супероксидного радикала или ионами двухвалентного железа (10^{-4} – 10^{-5} М) вызывает частичную активацию зимогена.

Установлено, что субклеточные фракции (ядерная, митохондриальная, «тяжелых мембран») печени и головного мозга мышей способны активировать плазминоген человека как связанный с нитями фибрина, так и растворимый. Эта способность в различной степени (в зависимости от фракции и органа) усиливается добавками экзогенного NADH. Она подавляется в присутствии нитротетразолиевого синего, а в ряде случаев усиливается цианидом и арсенатом.

Возможность активации плазминогена добавками ионов экзогенного трехвалентного железа, а также активация протеолиза в присутствии неорганического ортофосфата продемонстрирована в ряде перевиваемых линий лимфоцитов человека.

Представленные данные развивают авторскую гипотезу кислородзависимых реакций протеолиза, что в перспективе позволит переосмыслить механизм реакций энзиматического гидролиза. В ряде медико-биологических наук могут быть и практические приложения в виде обоснования путей коррекции активности протеиназ, амилаз, активации зимогенов в биологических субстратах, разработки нетрадиционных ингибиторов протеолиза и дифференциально-диагностических тестов.

Область применения: энзимология, лабораторная диагностика, фармация.

Рекомендации по использованию: полученные данные целесообразно включить в курс лекций по биохимии.

Предложения по сотрудничеству: совместные исследования с НИИ НАНБ, зарубежными центрами.

PARTICIPATION OF ACTIVE OXYGEN FORMS IN PROTEOLYTIC REACTIONS

N.S. Pyzhova, V.N. Nikandrov

The possibility of participation of active oxygen forms in the catalytic function of metalloproteinases and amylases and in chymotrypsin activation was demonstrated, as well as superoxide-converging ability of pepsin and trypsin, which is inhibited by chelating agents. The ability of subcellular fractions of mouse brain and liver to activate human plasminogen (which is sensitive to active oxygen forms scavengers and inhibitors of energy metabolism) was established. The whole complex of the original data develops the authors' hypothesis of oxygen-dependent reactions of proteolysis, which will enable to reinterpret enzymic hydrolysis mechanisms and substantiate the ways of hydrolyase activity correction in biological substrates.