

ISSN 1810-5033

**НОВОСТИ
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ
НАУК**

**NEWS
OF BIOMEDICAL SCIENCES**

Научно-практический и научно-теоретический журнал

Издается с 2001 года

Выходит четыре раза в год

№ 4, 2009

Минск

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

В. С. Улащик (главный редактор),
В. А. Кульчицкий (зам. главного редактора), А. Г. Чумак (зам.
главного редактора), А. В. Сидоров (ответственный секретарь),
Л. И. Арчакова, Ф. И. Висмонт, С. Л. Кабак, В. Н. Калюнов, Л. М. Лобанок,
А. С. Медведев, А. Г. Мрочек, В. Н. Никандров, Е. И. Слобожанина,
В. В. Солтанов, Н. Ф. Сорока, С. Н. Черенкевич

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

К. В. Анохин (Москва, Россия), Ю. А. Владимиров (Москва, Россия),
А. И. Григорьев (Москва, Россия), Р. А. Григорьян (Санкт-Петербург,
Россия), Д. П. Дворецкий (Санкт-Петербург, Россия), В. В. Зинчук (Гродно,
Беларусь), Ю. Д. Игнатов (Санкт-Петербург, Россия), П. Г. Костюк (Киев,
Украина), А. И. Кубарко (Минск, Беларусь), В. А. Матюхин (Москва, Рос-
сия), А. Д. Ноздрачев (Санкт-Петербург, Россия), Г. Н. Пономаренко (Санкт-
Петербург, Россия), А. Н. Разумов (Москва, Россия), В. Ф. Сагач (Киев,
Украина), В. О. Самойлов (Санкт-Петербург, Россия), И. Н. Семененя
(Минск, Беларусь), А. П. Солодков (Витебск, Беларусь), К. В. Судаков
(Москва, Россия), В. А. Труфакин (Новосибирск, Россия), G. Burnstock
(United Kingdom), M.-A. Custaud (France), N. Dale (United Kingdom),
D. Djuric (Serbia), R. Gerstberger (Germany), M. J. Kluger (USA), K. M. Spyer
(United Kingdom), M. Szekely (Hungary), W. Winlow (United Kingdom)

Адрес редакции:

*Институт физиологии НАН Беларуси, к. 203, ул. Академическая, 28,
220072, г. Минск, Республика Беларусь
Тел./Факс: (375) 17 284-16-30
Электронная почта: biblio@fizio.bas-net.by*

© Институт физиологии НАН Беларуси
© Новости медико-биологических наук

УДК 612.014.464:577.155.2

Н. С. ПЫЖОВА^{1,2}, В. Н. НИКАНДРОВ^{1,2}

О ВОЗМОЖНОСТИ УЧАСТИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В РАСЩЕПЛЕНИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НУКЛЕАЗАМИ

¹ – *Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь;*

² – *НИИ эпидемиологии и микробиологии Министерства здравоохранения
Республики Беларусь, Минск, Беларусь*

Ранее нами была обоснована принципиальная возможность участия активных форм кислорода (особенно супероксидного радикала) в реализации ряда протеолитических реакций, включая каталитическую функцию протеиназ и активацию их зимогенов [5, 9, 13–15]. Методом ингибиторного анализа было показано также, что расщепление картофельного крахмала панкреатической и микробной α -амилазами подавляется каталазой и нитротетразолиевым синим [10].

Однако только этими примерами не исчерпывается многообразие энзиматического гидролиза. Между тем на модельной химической системе генерации супероксидного радикала (NADH-феназинметосульфат) при введении в нее АТФ или GTP в концентрации 0,002 М было продемонстрировано высвобождение неорганического фосфата 0,07 и 0,23 М на 1М нуклеотида соответственно [7].

Цель настоящей работы – методом ингибиторного анализа выявить принципиальную возможность участия активных форм кислорода в расщеплении РНК и ДНК панкреатическими РНК-азой и ДНК-азой соответственно.

Материалы и методы. ДНК-азную и РНК-азную активность определяли по лизису соответственно ДНК селезенки быка или тРНК дрожжей в тонком слое агарового геля [3,8]. Концентрация нуклеиновых кислот при этом соответствовала 2–3 г/л, агар-агара – 10–15 г/л; в качестве растворителя использовали 0,02 М трис-НСl буфер рН 7,5. Пластины с нанесенными пробами инкубировали при 37 °С в течение 24 ч. Зоны лизиса визуализировали путем обработки 2 н хлорной кислотой. Содержание белка определяли колориметрическим методом [12].

В работе использовали панкреатические РНК-азу и ДНК-азу производства ООО «Самсон-Мед» (Санкт-Петербург, Россия), РНК-азу А тип X-A, адреналин, Cu, Zn-супероксиддисмутазу эритроцитов, каталазу печени быка, цитохром С (Sigma, США), бактоагар типа «Difco» (Ferak, Германия), азид натрия, панкреатическую РНК-азу (Serva, Германия), кумасси голубой G-250 (Fluka, Швейцария), нитротетразолиевый синий, D-маннит (Chemapol, Чехия), тиомочевину, DL-гистидин, DL-триптофан, DL-метионин (Reanal, Венгрия). ДНК селезенки быка, тРНК дрожжей, а также другие реактивы квалификации «хч» или «чда» были производства стран СНГ, их использовали после соответствующей дополнительной очистки. Все исследования выполнены не менее чем 4-кратно. Результаты обработаны статистически по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. При «стандартной» схеме эксперимента добавление к нуклеазам перехватчиков супероксидного (нитротетразолиевый синий, адреналин), гидроксильного (маннит, формиат, тиомочевина, этанол) радикалов, синглетного кислорода (азид натрия, гистидин, триптофан, метионин), а также H₂O₂ (каталаза печени) в конечной концентрации 10⁻³ М принципиального влияния на расщепление нуклеиновых кислот, как правило, не оказали (табл. 1). Исключение составил лишь этанол, вызвавший увеличение активности нуклеаз на 30–35%.

Табл. 1. Расщепление РНК панкреатической РНК-азой и ДНК панкреатической ДНК-азой (мм^2 зон лизиса) в тонком слое агарового геля при добавлении перехватчиков активных форм кислорода; концентрация раствора нуклеаз – 0,5 мг/мл, концентрация нуклеиновых кислот – 30 г/л, агар-агара – 15 г/л; 0,02 М трис-НСl буфер рН 7,4 ($n = 5$)

Эффектор	Активность РНК-азы	Активность ДНК-азы
Контроль	1208 ± 62	716 ± 29
Нитротетразолиевый синий, 0,001 М	1251 ± 68	770 ± 35
Адреналин, 0,001 М	1360 ± 93	722 ± 20
Контроль	977 ± 48	582 ± 30
Маннит, 0,001 М	878 ± 43	588 ± 12
Формиат, 0,001 М	878 ± 35	576 ± 22
Тиомочевина, 0,001 М	996 ± 42	Не исследовали
Этанол, 50%	1319 ± 110*	757 ± 30*
Азид натрия, 0,001 М	931 ± 30	523 ± 25
Гистидин, 0,001 М	900 ± 46	523 ± 32
Триптофан, 0,001 М	953 ± 101	581 ± 20
Метионин, 0,001 М	953 ± 52	588 ± 20

Примечание: здесь и далее * – изменения статистически достоверные при $P \leq 0,05$.

Добавление каталазы, например, к РНК-азе в конечной концентрации 2,7 или 5,4 мг/мл (8 100 или 16 200 ЕД/мл) на лизис РНК не влияло: размер зон лизиса соответствовал 607 ± 21 или 584 ± 15 против 572 ± 16 мм^2 в контроле. Проведенные нами исследования показали, что в образцах каталазы фирмы “Sigma” (при концентрации ее 19,3 мг/мл в опыте) присутствует примесь нуклеаз. Эти образцы вызывали расщепление РНК и ДНК, площадь зон лизиса которых составляла: 576 ± 15 и 564 ± 19 мм^2 соответственно. Причем такая активность не подавлялась азидом натрия (10^{-2} М), блокирующим каталитическую функцию каталазы. Следовательно, расщепление нуклеиновых кислот образцами каталазы не сопряжено с активным центром этой оксидоредуктазы, а вызвано примесями нуклеаз. В силу этой причины в дальнейших экспериментах мы отказались от использования каталазы.

Как было отмечено ранее [13,15], при исследовании протеолитических процессов на конкретных объектах мы столкнулись с рядом особенностей ингибирующего действия перехватчиков активных форм кислорода. Эти особенности свидетельствуют о сложности участия, в частности, супероксидного радикала в протеиназном катализе и, весьма вероятно, наличии каких-либо обходных путей. О сущности последних в настоящее время можно лишь строить предположения. Так, протеолитическая активность плазмина, субтилизина, папаина, пепсина, металлопротеиназы золотистого стрептококка, плазминогенактиваторная функция стрептокиназы резко и стабильно подавлялись при добавлении нитротетразолиевого синего. Плазминогенактиваторная функция урокиназы в присутствии данного перехватчика угнеталась лишь в ранней фазе процесса расщепления фибрина, затем скорость активации возрастала и конечный результат не отличался от контроля [13,15].

В настоящем исследовании влияние перехватчиков гидроксильного радикала в динамике лизиса РНК РНК-азой не превышало 21%. Лишь этанол в концентрации 50% стимулировал расщепление нуклеиновой кислоты, что также было наиболее демонстративно (в 1,35–1,55 раза) в начальной фазе процесса (рисунки).

Перехватчики синглетного кислорода подавляли активность РНК-азы также только в начальный период расщепления нуклеиновой кислоты – на 35–37%. Более того, перехватчики супероксидного радикала – нитротетразолиевый синий, адреналин и цитохром С в первый час стимулировали расщепление РНК со 144 ± 12 мм^2 в контроле до 182 ± 20 , 176 ± 23 и 176 ± 21 мм^2 соответственно – увеличение не превышало 28%. В последующий период интенсивность расщепления РНК не отличалась от контроля. Раскрытие природы этих достаточно слабых эффектов нуждается в отдельном изучении. Они наводят на мысль о том, что в реакционной системе может присутствовать несколько видов активных форм кислорода, вступающих в различные взаимодействия. Кроме того, в металлсодержащей системе супероксидный радикал достаточно быстро трансформируется в иные формы активированного кислорода.

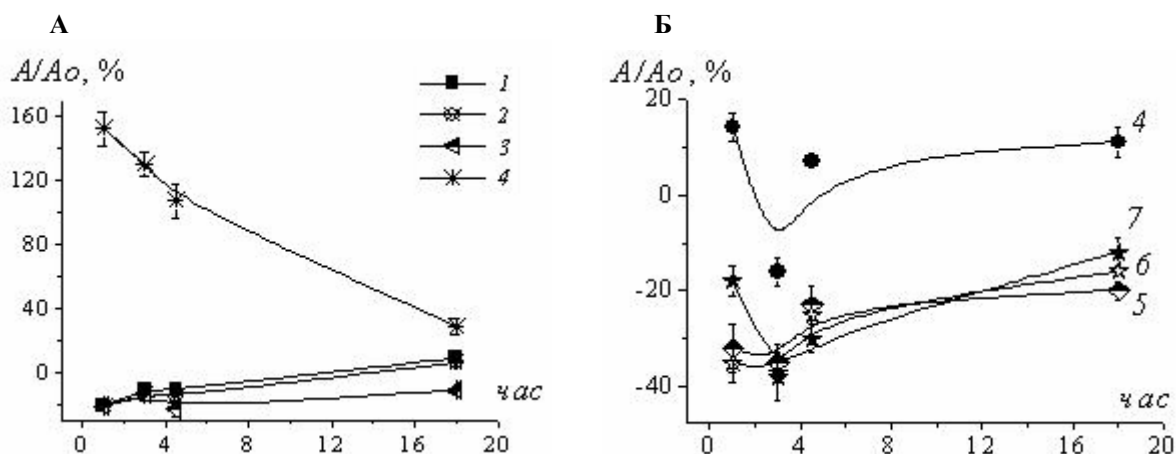


Рисунок. Изменения (% к контролю) интенсивности расщепления в тонком слое агара РНК рибонуклеазой в присутствии перехватчиков OH -радикала (А) или синглетного кислорода (Б):

1 – маннита; 2 – формиата натрия; 3 – тиомочевины; 4 – этанола; 5 – азиды натрия; 6 – гистидина; 7 – триптофана; 8 – метионина в конечной концентрации 10^{-2} М.

Концентрация агара – 15 г/л, РНК – 10 г/л, РНК-азы – 0,5 мг/мл; 0,02 М трис-НСI буфер рН 7,5.

Судя по изложенным данным, при «стандартной» схеме эксперимента перехватчики активных форм кислорода оказали весьма слабое влияние на активность РНК-азы.

Как мы уже отмечали [10], выявление участия активных форм кислорода в подобных процессах – достаточно сложная задача. Это касается и ингибиторного анализа. Она обусловлена тем, что, например, ранее исследованные нами протеиназы и зимогены генерировали активные формы кислорода со скоростью 10^{-1} – 10^{-3} Ммин $^{-1}$ на 1 М белка, а концентрация протеиназ в экспериментах, как правило, не превышала 10^{-5} М. А константа же взаимодействия того же нитротетразолиевого синего с O_2^- находится, как известно, в пределах 10^4 – 10^6 М $^{-1}$ с $^{-1}$, что на несколько порядков менее констант протонирования последнего, реакции его с OH , HO_2 и другими. О весьма небольшой концентрации сколь-нибудь долгоживущих O_2^- и отсутствии в системе других оксидоредуктантов свидетельствует тот факт, что содержащие ДНК(РНК) агаровые пластины не имели интенсивной фиолетовой окраски.

При выявлении участия активных форм кислорода в подобных энзиматических реакциях с помощью перехватчиков или ловушек следует принимать во внимание, что демонстративные изменения активности могут быть достигнуты лишь в тех случаях, когда функционально (каталитически) значимая форма активного кислорода доступна перехватчику: она либо выделяется в растворитель или частичная дестабилизация макромолекулы энзима позволяет получить такой доступ. Иллюстрацией одной из особенностей такого плана являются результаты о подавлении нитротетразолиевым синим расщепления фибрина трипсином или α -химотрипсином лишь в ранней фазе процесса, которое проявилось только в 8 М растворе мочевины [6].

Действительно, при добавлении к растворам нуклеаз мочевины картина существенно изменялась. Прежде всего следует отметить, что эта часть экспериментов с ДНК-азой выполнена при рН 7,5 и 8,5, тогда как с РНК-азой – лишь при рН 7,5, поскольку при рН 8,5 образцы этой нуклеазы в присутствии 8 М мочевины были неактивны. В присутствии 4 М мочевины использованные перехватчики активированного кислорода даже в концентрации 10^{-2} М на расщепление ДНК панкреатической ДНК-азой влияния не оказали: изменения активности не превышали $\pm 15\%$ (табл. 2). Ситуация принципиально не менялась при увеличении концентрации денатуранта до 7 М (не показано). Вместе с тем при концентрации мочевины 8 М отмечено резкое угнетение активности ДНК-азы нитротетразолиевым синим при обоих значениях рН.

Действие перехватчиков активных форм кислорода на активность РНК-азы аналогично ДНК-азе на фоне 4 или 7 М мочевины не проявилось: изменения активности колебались в пределах 12% (не показано). Увеличение концентрации денатуранта до 8 М вело к подавлению активности этой нуклеазы нитротетразолиевым синим на 53% (табл. 3).

Табл. 2. Влияние перехватчиков форм активированного кислорода на расщепление ДНК панкреатической ДНК-азой (мм² зон лизиса) в тонком слое агарового геля в присутствии мочевины; концентрация раствора ДНК-азы – 0,5 мг/мл, 0,02 М трис-НСl буфер (*n* = 5)

Эффектор, 10 ⁻² М	Концентрация мочевины		
	4 М, pH 7,5	8 М, pH 7,5	8 М, pH 8,5
Без добавок (контроль)	444 ± 20	326 ± 23	253 ± 20
+ нитротетразолиевый синий	408 ± 17	120 ± 8*	64 ± 7*
+ адреналин	430 ± 22	359 ± 30	290 ± 14
+ супероксиддисмутаза	431 ± 10	287 ± 23	240 ± 18
+ стрептокиназа	437 ± 17	293 ± 23	247 ± 15
Без добавок (контроль)	404 ± 19	317 ± 21	257 ± 23
+ D-маннит	396 ± 19	323 ± 14	248 ± 0
+ формиат натрия	390 ± 16	298 ± 23	217 ± 22
+ тиомочевина	395 ± 9	268 ± 28	207 ± 27
+ этанол, 25%	449 ± 25	313 ± 22	276 ± 19
+ азид натрия	388 ± 20	264 ± 29	242 ± 12
+ DL-гистидин	380 ± 18	289 ± 29	242 ± 0
+ DL-триптофан	370 ± 20	285 ± 23	253 ± 27
+ DL-метионин	377 ± 10	288 ± 28	256 ± 10

Примечание: здесь и далее конечная концентрация супероксиддисмутазы – 0,1 мг/мл (500 ЕД/мл), стрептокиназы – 1000 МЕ/мл.

Табл. 3. Расщепление РНК панкреатической РНК-азой (мм² зон лизиса) в тонком слое агарового геля при добавлении к энзиму перехватчиков активных форм кислорода в присутствии 8 М мочевины; концентрация раствора РНК-азы – 0,5 мг/мл, 0,02 М трис-НСl буфер pH 7,5 (*n* = 5)

Эффектор	Активность РНК-азы	Эффектор	Активность РНК-азы
Без добавок (контроль)	331 ± 20	Без добавок (контроль)	313 ± 22
+ нитротетразолиевый синий	155 ± 7*	+ D-маннит	285 ± 17
+ адреналин	299 ± 18	+ формиат натрия	268 ± 15
+ супероксиддисмутаза	277 ± 17	+ тиомочевина	240 ± 20
+ стрептокиназа	292 ± 13	+ этанол, 10%	282 ± 15
		+ азид натрия	250 ± 23
		+ DL-гистидин	283 ± 0
		+ DL-триптофан	280 ± 10
		+ DL-метионин	270 ± 17

По-видимому, развертывание глобул нуклеаз, не ведущее, однако, к катастрофическим последствиям для их каталитической функции, может способствовать высвобождению функционально значимых O₂⁻-радикалов в раствор и (или) увеличивать доступ перехватчика к радикалгенерирующим сайтам нуклеаз – радикал может и не высвободиться в растворитель. Нужно отметить, что супероксиддисмутаза, как и стрептокиназа, не оказала эффекта, возможно, из-за достаточно большого размера макромолекулы, препятствующего контакту с такими сайтами нуклеаз. Проявлению действия супероксиддисмутаза не способствовали также присутствие денатуранта в высокой концентрации и температура расплавленного агара. В этом отношении стрептокиназа более «благополучна», поскольку в функциональном плане отличается значительной термостабильностью и выдерживает воздействие 8 М мочевины [4]. Однако продукт ее взаимодействия с супероксидным радикалом остается пока неидентифицированным. Не исключены и причины зарядового характера. Кроме того, катализируемая супероксиддисмутазой реакция заключается в образовании из супероксидных радикалов гидропероксида, опять-таки способного разлагаться в металлсодержащей системе с образованием активных форм кислорода. Этот энзим не является необратимой «ловушкой» в отличие от нитротетразолиевого синего.

Однако скорее всего молекулы нуклеаз – не единственный источник O₂⁻ в системе. Хорошо известно, что нуклеиновые кислоты способны связывать катионы металлов переменной валентности, могущие в присутствии кислорода продуцировать его активированные формы, в том числе супероксидный радикал. Как оказалось, сильное угнетение расщепления нуклеиновых кислот нуклеазами может быть достигнуто без применения мочевины, но путем насыщения перехватчиком O₂⁻ всей тестовой системы. Так, введение нитротетразолиевого синего в концентра-

ции 10^{-3} М в содержащий нуклеиновую кислоту агаровый гель вело к подавлению активности РНК-азы на 67%, а ДНК-азы – на 28%. При увеличении концентрации перехватчика вдвое эти величины составляли 87 и 65% соответственно (табл. 4).

Табл. 4. Влияние нитротетразолиевого синего, добавленного в содержащий нуклеиновые кислоты агаровый гель, на расщепление РНК панкреатической РНК-азой и ДНК панкреатической ДНК-азой (mm^2 зон лизиса) в тонком слое агарового геля; концентрация раствора нуклеаз – 0,5 мг/мл, 0,02 М трис-НСI буфер, рН 7,5 ($n = 5$)

Вариант эксперимента	Активность РНК-азы	Активность ДНК-азы
Контроль	1216 ± 50	639 ± 16
+ нитротетразолиевый синий, 0,001 М	396 ± 19*	460 ± 15*
Контроль	1252 ± 46	606 ± 14
+ нитротетразолиевый синий, 0,002 М	163 ± 10*	212 ± 10*

На образцах РНК-азы А тип X-A (Sigma) были получены аналогичные изложенным выше результаты (не показано).

Итак, изложенные данные впервые демонстрируют подавление активности ДНК-азы и РНК-азы при использовании в качестве субстратов соответствующих нуклеиновых кислот перехватчиком O_2^- – нитротетразолиевым синим. Это позволяет предполагать возможность участия указанного радикала в каталитической функции нуклеаз. Таковая возможность косвенно подкрепляется изложенными в литературе данными о том, что

1) методом квантовой молекулярной динамики установлена реализация дефосфорилирования нуклеозидтрифосфата катионами Mg по радикальному механизму [11];

2) белок-ингибитор РНК-азы (50 кДа), выделенный из плаценты коров, способен перехватывать O_2^- , OH , $\text{O}_2^{\Delta 1}$ и радикальные производные липидов [1];

3) синтезированный гемин-гексапептидный (фрагмент фактора клеток HLDF) конъюгат способен по окислительному механизму расщеплять ДНК – своего рода модель нуклеазы [2].

Вместе с тем при складывающемся впечатлении функциональной значимости для расщепления нуклеиновых кислот нуклеазами именно супероксидного радикала мы не можем утверждать, что именно он участвует во фрагментации нуклеиновых кислот. Выше упоминалось об интенсификации расщепления нуклеиновой кислоты в присутствии этанола. Как известно, алифатические спирты, в том числе этанол, являются наиболее специфичными и эффективными перехватчиками гидроксильного радикала. Это позволяет считать, что в исследуемой реакционной системе гидроксильный радикал (если таковой образуется) скорее оказывает негативное воздействие на функциональные свойства нуклеазы или же взаимодействует с теми формами активированного кислорода, которые функционально значимы для энзиматического расщепления нуклеиновой кислоты. В то же время так называемый «криптогидроксильный» радикал фактически недоступен воздействию перехватчиков. Данный аспект, как и возможность существования радикалгенерирующих сайтов (и их природа) в макромолекулах нуклеаз, составляет достаточно сложную и объемную задачу дальнейших исследований.

Необходимо упомянуть, что каталитический белок может не обладать собственной радикалгенерирующей способностью. Так, при изучении активации плазминогена стрептокиназой (процесс полностью подавляется нитротетразолиевым синим или адреналином) оказалось, что O_2^- радикал может генерировать только плазминоген, но не стрептокиназа. Последняя способна трансформировать его, подавляя редукцию нитротетразолиевого синего в химических системах генерирования O_2^- и автоокисление пирогаллола [4].

Характер изложенных в настоящей статье результатов позволяет также полагать, что источником функционально значимых для нуклеазного катализа O_2^- , по-видимому, является не только макромолекула нуклеазы, но и расщепляемый субстрат – нуклеиновая кислота.

Литература:

- [1]. Вэнг С., Ли Х. Ингибитор рибонуклеазы плаценты коровы как ловушка радикалов // Биохимия. 2006. Т. 71. С. 645–650.

- [2]. Желтухина Г.А., Лобанова Т.Н., Небольсин В.Е. и др. Синтез и структурно-функциональные исследования искусственных нуклеаз на основе конъюгатов гемина с пептидными фрагментами фактора дифференцировки клеток HLDF // Биоорг. химия. 2006. Т. 32. С. 198–210.
- [3]. Мессина О.В., Юсупова И.Б., Шамсутдинов Н.Ф. Дезоксирибонуклеазная активность коринебактерий и ее связь с токсигенностью // Журнал микробиол. эпидемиол. иммунобиол. 1963. № 3. С. 20–28.
- [4]. Никандров В.Н. Стрептокиназа. Структурные и функциональные свойства. Автореф. дис. д-ра биол. наук: 03.00.04 / М.: Университет дружбы народов Госкомобразования СССР, 1989.
- [5]. Никандров В.Н., Пыжова Н.С. Кислородзависимый путь активации плазминогена и новые физико-химические механизмы протеолиза // Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. 2001. № 1. С. 54–60.
- [6]. Никандров В.Н., Пыжова Н.С. Протеолиз как универсальный механизм регуляции биохимических и биологических процессов. Дискуссионные аспекты // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2008. № 1. С. 4–22.
- [7]. Никандров В.Н., Пыжова Н.С., Клингер Ю.Е. Взаимодействие нуклеотидов с супероксидными радикалами в модельных системах // Докл. АН БССР. 1987. Т. 31. С. 1045–1048.
- [8]. Никандров В.Н., Пыжова Н.С., Шатило Н.Л. Протеолитическая и эндонуклеазная активность штаммов *Corynebacterium diphtheriae* при росте на питательных средах сложного состава. I. «Нейтральные» деполимеразы // Роль антропогенных и природных патогенов в формировании инфекционных и неинфекционных болезней человека. Мн., 2002. С. 326–342.
- [9]. Пыжова Н.С. Участие активных форм кислорода в процессах протеолиза: Дис. ... канд. биол. наук: 03.00.04 / Мн.: Белорусский НИИ эпидемиологии и микробиологии Минздрава БССР, 1990.
- [10]. Пыжова Н.С., Никандров В.Н. Влияние перехватчиков активных форм кислорода на расщепление крахмала α -амилазой // Докл. НАН Беларусі. 1995. Т. 39, № 5. С. 48–52.
- [11]. Тулуб А.А. Катион Mg^{2+} инициирует превращение нуклеозидтрифосфата в нуклеозидмонофосфат по радикальному механизму. Расчеты методом квантовой молекулярной динамики // Биофизика. 2006. Т. 51, № 2. С. 197–203.
- [12]. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.
- [13]. Nikandrov V.N., Pyzhova N.S. Some unusual manifestation of proteolysis // Cel. Mol. Biol. 2006. Vol. 52, № 4. P. 30–39.
- [14]. Pyzhova N.S., Nikandrov V.N. Activation of plasminogen by streptokinase: the aspects of fibrinolysis regulation // V-th International Meeting of the Danubian League against Thrombosis and Haemorrh. Diseases. Abstracts. Erfurt, 1987. P. 76.
- [15]. Pyzhova N.S., Nikandrov V.N. Effect of active oxygen species scavengers on fibrinolytic activity of some proteinases // Thromb. Res. 1996. Vol. 88. P. 303–312.

Поступила в редакцию 13. 10. 2009 г.

N. S. PYZHOVA^{1,2}, V. N. NIKANDROV^{1,2}

ON THE POSSIBILITY OF PARTICIPATION OF ACTIVE OXYGEN SPECIES IN A CLEAVAGE OF NUCLEIC ACIDS BY NUCLEASES

¹– Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus;

²–Institute of Epidemiology and Microbiology, Ministry of Public Health of Belarus, Minsk, Belarus

Summary

Effect of scavengers of various active oxygen species on DNA or RNA cleavage by pancreatic DNAase or RNAase accordingly was studied. For the first time the inhibition of nucleases' activity by the scavenger of superoxide radical – nitrotetrazolium blue in the presence of 8 M (but not 4 or 7 M) urea was demonstrated. It is supposed, that the effect was caused by loosening of nucleases' globules and increase of availability of nuclease radical-generating sites for the scavenger. The reasons of inactivity of superoxide radical scavengers such as superoxide dismutase or streptokinase on nucleic acids' cleavage by the nucleases are discussed. For the first time the inhibition of nucleases' enzymic activity was showed in the absence of urea, but under saturation of the system with nitrotetrazolium blue. It gives the base to consider the substrate – nucleic acid as an independent source of superoxide radicals, which are functionally significant for nuclease catalysis. Set of the obtained data allows to consider the function of nucleases as mediated with inter superoxide radicals, produced by "enzyme-substrate" system.

Key words: active oxygen species, DNA, RNA, nuclease

СОДЕРЖАНИЕ

ФИЗИОЛОГИЯ

С. Г. ПАШКЕВИЧ

РЕГУЛЯЦИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЛИГАНДОВ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ЯДРО СОЛИТАРНОГО ТРАКТА..... 7

А. В. СИДОРОВ

ВЛИЯНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РЕАЛИЗАЦИЮ ОБОРОНИТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ МОЛЛЮСКА *LUMNAEA STAGNALIS*..... 16

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

В. В. СОЛТАНОВ, В. А. СЕРГЕЕВ

НЕРВНО-ГУМОРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫХ РАСТРОЙСТВ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ КОЛИТОМ..... 22

Г. К. ТРОПНИКОВА

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СЕРОТОНИНА В ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКЕ И НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ СТВОЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ХОЛЕСТАЗЕ И ВВЕДЕНИИ МЕЛАТОНИНА..... 28

А. Н. ЧЕРНОВ, Л. А. ЛОПАТИНА, В. Н. КАЛЮНОВ

ДЕЙСТВИЕ ФАКТОРА РОСТА НЕРВОВ НА ДИНАМИКУ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КУЛЬТУРЫ ГЛИОМЫ С6..... 34

МОРФОЛОГИЯ

В. Н. БОЧАРОВА, Е. Н. САВЧИНА

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЯДРЕ СОЛИТАРНОГО ТРАКТА ПРИ СИСТЕМНОМ ВОСПАЛЕНИИ У КРЫС, ВЫЗЫВАЕМОМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОМ *ESCHERICHIA COLI*..... 39

А. А. ЕМЕЛЬЯНОВА, Н. Д. ЖУКОВА, Е. Ю. МАНИНА

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ МОБИЛЬНОГО ТЕЛЕФОНА «MOTOROLA C-139» НА ГОЛОВНОЙ МОЗГ КРЫС..... 44

БИОХИМИЯ

В. Н. НИКАНДРОВ, В. А. КОЛОС, О. К. КУПЧЕНКО

ПРОТЕОЛИЗ БЕЛКОВЫХ СУБСТРАТОВ В ГЕТЕРОГЕННОЙ СИСТЕМЕ: ДИНАМИКА БЕЛКА И ПЕПТИДНЫХ ФРАКЦИЙ В РАСТВОРИМОЙ ФАЗЕ..... 49

Н. С. ПЫЖОВА, В. Н. НИКАНДРОВ

О ВОЗМОЖНОСТИ УЧАСТИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В РАСЩЕПЛЕНИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НУКЛЕАЗАМИ..... 57

ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

О. Г. КИРКЕВИЧ, Е. В. КРАВЧЕНКО

ВЛИЯНИЕ НООПЕПТА НА ВЫПОЛНЕНИЕ МЫШАМИ КРАТКОВРЕМЕННЫХ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНЫХ НАГРУЗОК В ПЛАВАТЕЛЬНОМ ТЕСТЕ..... 63

Е. В. КРАВЧЕНКО, Л. В. МАКСИМОВА
ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ СОЕДИНЕНИЯ ИФБ-30 ПРИ НАРУШЕНИЯХ НЕАССОЦИАТИВНОГО ОБУЧЕНИЯ, ВЫЗВАННЫХ ПЕНТИЛЕНТЕТРАЗОЛОМ..... 68

С. Г. ПАШКЕВИЧ, Т. В. КАРАВАЙ, А. Г. ЧУМАК, В. А. КУЛЬЧИЦКИЙ
ЭФФЕКТЫ МЕКСИБЕЛА И ФЕНИБУТА В ОТНОШЕНИИ ГИПОКСИЧЕСКОГО ФАКТОРА..... 73

А. Н. ЧЕРНОВ, М. В. ТАЛАБАЕВ, Д. Г. ГРИГОРЬЕВ, З. Б. КВАЧЕВА, Е. Д. ЧЕРСТВОЙ, В. Н. КАЛЮНОВ, В. А. КУЛЬЧИЦКИЙ
ОЦЕНКА *IN VITRO* ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ХИМИОПРЕПАРАТАМ КЛЕТОК МЕДУЛЛОБЛАСТОМЫ И ГЛИОМЫ..... 80

БИОМЕДИЦИНСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

Д. А. МАКАРЕВИЧ, А. А. ФЕДОРОВ, О. В. КОЗЛЯКОВА, Т. В. РЯБЦЕВА, А. К. КОРОЛИК, В. В. КИРКОВСКИЙ, В. П. ГОЛУБОВИЧ, Е. Д. ЧУМАКОВА
СОРБЕНТ ДЛЯ СЕЛЕКТИВНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ANTI-Rh АНТИТЕЛ ИЗ ПЛАЗМЫ КРОВИ..... 85

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

Н. В. ГЛУТКИНА, В. В. ЗИНЧУК
КРИВАЯ ДИССОЦИАЦИИ ОКСИГЕМОГЛОБИНА: ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ... 90

О. В. КИСТЕНЬ, В. В. ЕВСТИГНЕЕВ, В. С. УЛАЩИК, Б. В. ДУБОВИК
ТРАНСКРАНИАЛЬНАЯ МАГНИТНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ЭПИЛЕПСИИ..... 99

В. В. СОЛТАНОВ
ЭНДОТОКСИНЫ И НЕЙРОГУМОРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ВЕГЕТАТИВНЫХ ФУНКЦИЙ..... 109

В. С. УЛАЩИК
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ТРАНСКРАНИАЛЬНОЙ ЭЛЕКТРОТЕРАПИИ 120

В. Н. РОСТОВЦЕВ, В. С. УЛАЩИК
СПЕКТРАЛЬНАЯ ДИНАМИКА И ФИЗИОЛОГИЯ..... 129

СОБЫТИЯ, ДАТЫ, ЛЮДИ

ВИТАЛИЙ НИКОЛАЕВИЧ НИКАНДРОВ (к 60-летию со дня рождения)..... 134

ОТ РЕДАКЦИИ

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ..... 137

NEWS OF BIOMEDICAL SCIENCES

№ 4, 2009

Founded by Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus
Published quarterly since January, 2001

Editorial Board:

V. S. Ulashchik (Editor-in-Chief)
V. A. Kulchitsky (Associate Editor-in-Chief), A. G. Chumak (Associate Editor-in-Chief),
A. V. Sidorov (Responsible Secretary), L. I. Archakova, S. N. Cherenkevich, S. L. Kabak,
V. N. Kaliunov, L. M. Lobanok, A. S. Medvedev, A. G. Mrochek, V. N. Nikandrov,
E. I. Slobozhanina, V. V. Soltanov, N. F. Soroka, F. I. Vismont

Address of the Editorial Office:

Institute of Physiology, room 203, Akademicheskaya str. 28, 220072 Minsk, Republic of Belarus
Tel/Fax: (375)-17-284-16-30; E-mail: biblio@fizio.bas-net.by

CONTENTS

PHYSIOLOGY

- S. G. PASHKEVICH*
BODY TEMPERATURE REGULATION AT RATS AFTER INTRODUCTION OF GLUTAMATE RECEPTORS LIGANDS IN NUCLEUS TRACTUS SOLITARIUS..... 7
- A. V. SIDOROV*
EFFECT OF HYDROGEN PEROXIDE ON ELECTRICAL ACTIVITY OF THE NEURONS INVOLVED IN DEFENSIVE BEHAVIOUR WITHIN MOLLUSK *LYMNAEA STAGNALIS*..... 16

PATHOPHYSIOLOGY

- V. V. SOLTANOV, V. A. SERGEEV*
NERVOUS-HUMORAL MECHANISMS OF GASTRODUODENAL DISORDERS IN EXPERIMENTAL COLITIS RATS..... 22
- G. K. TROPNIKOVA*
INFLUENCE OF EXOGENOUS MELATONIN ON THE CHANGE OF SEROTONIN CONTENT IN THE DUODENUM AND SOME BRAIN STEM REGIONS OF CHOLESTATIC RATS..... 28
- A. N. CHERNOV, L. A. LOPATINA, V. N. KALJUNOV*
EFFECT OF THE NERVE GROWTH FACTOR ON DINAMICS OF THE MORPHOFUNCTIONAL PROPERTIES OF C6 GLIOMA CELL CULTURE..... 34

MORPHOLOGY

- V. N. BOCHAROVA, E. N. SAVCHINA*
MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN NUCLEUS TRACTUS SOLITARIUS OF RATS DURING SYSTEMIC INFLAMMATION CAUSED BY *E. COLI* LYPOPOLYSACCHARIDE..... 39
- A. A. EMELJANOVA, N. D. ZHUKOVA, E. Ju. MANINA*
EFFECT OF ELECTROMAGNETIC RADIATION OF «MOTOROLA C-139» MOBILE PHONE ON RATS BRAIN..... 44

BIOCHEMISTRY

<i>V. N. NIKANDROV, V. A. KOLOS, O. K. KUPCHENKO</i> PROTEOLYSIS OF PROTEIN SUBSTRATES IN HETEROGENOUS SYSTEM: PROTEIN AND PEPTIDE FRACTION DYNAMICS IN SOLUBLE PHASE.....	49
--	-----------

<i>N. S. PYZHOVA, V. N. NIKANDROV</i> ON THE POSSIBILITY OF PARTICIPATION OF ACTIVE OXYGEN SPECIES IN A CLEAVAGE OF NUCLEIC ACIDS BY NUCLEASES.....	57
---	-----------

PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY

<i>O. G. KIRKEVICH, E. V. KRAVCHENKO</i> EFFECT OF NOOPEPT ON THE FULFILMENT BY MICE OF SHORT- AND LONG-TERM EXERCISES IN SWIMMING PROBE.....	63
---	-----------

<i>E. V. KRAVCHENKO, L. V. MAKSIMOVA</i> STUDY OF EFFECTS OF IFB-30 COMPOUND ON NONASSOCIATIVE LEARNING AFFECTED BY PENTILENTETRAZOLE.....	68
--	-----------

<i>S. G. PASHKEVICH, T. V. KARAVAJ, A. G. CHUMAK, V. A. KULCHITSKY</i> EFFECTS OF MEXIBEL AND FENIBUT IN THE RELATION TO HYPOXIA...	73
---	-----------

<i>A. N. CHERNOV, M. V. TALABAEV, D. G. GRIGOREV, Z. B. KVACHEVA, E. D. CHERSTVOY, V. N. KALJUNOV, V. A. KULCHITSKY</i> IN VITRO ASSESSMENT OF INDIVIDUAL SENSITIVITY OF MEDULLOBLASTOMA AND GLIOMA CELLS TO CHEMOTHERAPY.....	80
--	-----------

BIOMEDICAL TECHNOLOGIES

<i>D. A. MAKAREVICH, A. A. FEDOROV, O. V. KOZLYAKOVA, T. V. RYABTZEVA, A. I. KOROLIK, V. V. KYRKOVSKY, V. P. GOLUBOVICH, E. D. CHUMAKOVA</i> SORBENT FOR SELECTIVE EXTRACTION OF ANTI-Rh ANTIBODIES FROM BLOOD PLASMA...	85
--	-----------

REVIEWS AND PROBLEM ARTICLES

<i>N. V. GLUTKINA, V. V. ZINCHUK</i> OXYHEMOGLOBIN DISSOCIATION CURVE: PHYSIOLOGICAL IMPORTANCE.....	90
--	-----------

<i>O. V. KISTSEN, V. V. EVSTIGNEEV, V. S. ULASHCHIK, B. V. DUBOVIK</i> TRANSCRANIAL MAGNETIC STIMULATION IN DIAGNOSTIC AND TREATMENT OF EPILEPSY.	99
---	-----------

<i>V. V. SOLTANOV</i> ENDOTOXIN AND NEUROHUMORAL MECHANISMS OF REGULATION OF AUTONOMIC FUNCTIONS.....	109
---	------------

<i>V. S. ULASCHIK</i> BIOMEDICAL BASICS OF TRANSCRANIAL ELECTROTHERAPY.....	120
---	------------

<i>V. N. ROSTOVTSEV, V. S. ULASHCHIK</i> SPECTRAL DYNAMIC AND PHYSIOLOGY.....	129
---	------------

CHRONICLE AND JUBILEE

VITALY NIKOLAEVICH NIKANDROV (TO 60-th ANNIVERSARY).....	134
---	------------

EDITORIAL NOTES

INSTRUCTION FOR AUTHORS.....	137
-------------------------------------	------------