

Биорегулирующие функции и патогенетическая роль протеолиза.

V. Физиологическая роль и биохимические механизмы реакций ограниченного протеолиза

Г.А. Яровая

Российская медицинская академия последипломного образования, Москва

В предыдущих публикациях серии обзоров, посвященных роли протеолиза, были представлены молекулярные механизмы контроля и функции полного протеолиза белков и пептидов. Данный обзор литературы посвящен реакциям ограниченного протеолиза, которые на посттрансляционном уровне включены в контроль концентрации активных форм основных биорегуляторов белковой и пептидной природы. В работе представлены наиболее распространенные реакции ограниченного протеолиза и их биологическое значение.

Образующиеся в процессе трансляции полипептидные цепи белков, как правило не способны сразу выполнять специфические функции и должны быть подвергнуты дальнейшему протеолизу (процессингу), чтобы приобрести «индивидуальность». Ограниченный протеолиз заключается в специфическом расщеплении одной или нескольких пептидных связей в молекуле белка, что приводит к образованию биологически активных продуктов или изменяет свойства последних. В отличие от полного протеолиза, при котором гидролиз молекулы белка до аминокислот осуществляется множеством протеиназ с различной специфичностью к отдельным пептидным связям, ограниченный протеолиз обеспечивается ограниченным числом протеиназ, во многих случаях — только одной.

С участием реакций ограниченного протеолиза связано осуществление множества физиологических процессов. Ограниченный протеолиз — основа активации проферментов и образования из неактивных предшественников биологически активных белков и пептидов, в том числе гормонов, факторов роста и многих других.

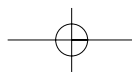
Тем самым протеолиз практически контролирует характер метаболических процессов и морфогенез клеток. Ограниченный протеолиз вовлечен в процессы иммунного ответа, апоптоза, межклеточного взаимодействия, миграцию клеток и моделирование тканей, регуляцию артериального давления и моторики ЖКТ. Образование надмолекулярных структур, а также репродуцирующие и многие другие реакции и функции, в том числе реакции адаптации и защиты, осуществляются с участием ограниченного протеолиза. Процессинг биологически активных пептидов в ЦНС обеспечивает нейромодуляторные функции, взаимодействия с нейромедиаторными системами и соответственно определяет многие поведенческие реакции и сенсорные процессы.

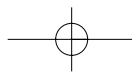
Ограниченный протеолиз вызывает не только образование, но и инактивацию и модификацию биологически активных белков и пептидов, и таким образом осуществляет контроль концентрации основных биорегуляторов в организме.

Ниже будут представлены наиболее распространенные реакции ограниченного протеолиза и их биологическое значение.

1. Участие протеиназ в образовании, модификации и инактивации ферментов.

Образование ферментов из неактивных предшественников происходит в процессе активации целого каскада зимогенов протеиназ желудочно-кишечного тракта и сыворотки крови, обеспечивающих соответственно пищеварительную функцию, гемокоагуляцию, фибринолиз, кининогенез, ангиотензиногенез, лизис клеток. Образование из неактивного предшественника сперматозоидов трипсиноподоб-





назам. Образование трипсина, протекающее под влиянием энтеропептидазы является по существу пусковым моментом, включающим процессы образования из предшественников других ферментов пищеварения: химотрипсина, эластазы карбоксипептидазы, фосфолипазы. Активация трипсиногена, как известно, протекает и автокаталитически, но в 1000 раз медленнее, чем под влиянием энтеропептидазы.

Подобно трипсину, занимающему центральное место в активации зимогенов поджелудочной железы, другие протеиназы выполняют аналогичную функцию в других системах. Такую роль играет, например, калликреин плазмы крови, который может запускать системы свертывания крови и фибринолиза, обеспечивать кининогенез, активацию проренина и ряда компонентов комплемента. В этих каскадных процессах образование фермента из неактивного предшественника является триггерным механизмом, начинающим последовательную цепь ферментативных реакций. Каждая из стадий такого каскада представляет собой активацию соответствующего зимогена: в результате реакции ограниченного протеолиза происходит образование фермента, который катализирует затем последующую реакцию. Таким путем – последовательного включения ряда протеолитических ферментов, в организме реализуются важные физиологические процессы: свертывание крови, фибринолиз, лизис клеток, регуляция артериального давления и другие.

Описанные выше примеры относятся главным образом к процессам, протекающим во внеклеточной среде организма. Однако подобного типа реакции протекают и внутри клетки, где в результате ограниченного протеолиза из зимогенов образуются протеиназы, участвующие как в катаболизме внутриклеточных белковых молекул, так и в процессировании из предшественников регуляторных белков и пептидов (гормонов, факторов роста и других биологически активных молекул).

В результате ограниченного протеолиза происходит не только образование ферментов из неактивных предшественников, но наблюдаются также и изменения свойств ферментов. Подобного рода реакции имеют важное значение для регуляции внутриклеточного метаболизма, т. к. ограниченный протеолиз может приводить как к увеличению, так и к снижению активности фермента, изменению его регуляторных свойств и специфичности. Примером фермента, активность которого увеличивается в результате протеолитического воздействия, может

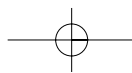
служить киназа фосфоорилазы b, которая может быть активирована под действием трипсина, при этом происходит частичная деградация регуляторных A и B субъединиц фермента. Вследствие этого каталитическая субъединица C, которая расположена внутри молекулы, становится более доступной для субстрата киназы фосфоорилазы b.

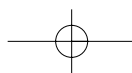
Изменения аллостерических свойств ферментов под влиянием протеиназ известно для целого ряда ферментов. Например, для фруктозо-1,6-дифосфатазы печени было обнаружено появление новой формы фермента, которая отличалась от нативной сдвигом оптимума pH в более щелочную область и меньшей чувствительностью к аллостерическому ингибитору – АМФ. Образование этой формы фруктозо-1,6-дифосфатазы наблюдалось под влиянием субтилизина и сопровождалось отщеплением N-концевого пептида с молекулярной массы 6000 дальтон от каждой из 4 субъединиц молекулы фермента. Аналогичные изменения фруктозо-1,6-дифосфатазы происходили при инкубации ее с экстрактом лизосом и, в частности, под действием катепсина В1.

В настоящее время для многих ферментов установлено существование множественных форм, причиной возникновения которых часто является ограниченный протеолиз. Такие формы описаны для мутаза фосфоглицериновой кислоты, альдолазы, гексокиназы и для других ферментов. Полиморфизм протеолитических ферментов и существование «семейств» химотрипсина, карбоксипептидаз A и B и ряда других протеиназ так же может явиться результатом ограниченного протеолиза.

Есть основания утверждать, что в результате ограниченного протеолиза могут появляться формы фермента, отличающиеся по своей специфичности и регуляторным свойствам. Это, очевидно, имеет определенное биологическое значение, так как полиморфизм ферментов, имеющий не только генетическое, но и посттрансляционное происхождение, может обеспечивать более тонкую регуляцию обмена в организме.

Под влиянием протеиназ в ряде случаев происходит специфическая инактивация ферментов, например глюкокиназы, альдолазы, пируваткиназы, ряда трансаминаз, лактатдегидрогеназы и креатинфосфокиназы. Механизм инактивации для многих ферментов точно не выяснен. Однако для некоторых ферментов, например орнитинтрансаминазы, фосфоорилазы a и b, установлено, что под действием специфических протеиназ происходит ограничен-





ный протеолиз, приводящий к образованию из молекулы фермента двух фрагментов.

В настоящее время можно утверждать, что протеолитическая модификация ферментов наблюдается под действием разных протеиназ и описана для большого числа ферментов, относящихся к различным группам обмена. Среди них фосфоорилаза, альдолаза, фруктозо-1,6-дифосфатаза, фосфофруктокиназа и некоторые другие, являющиеся ключевыми ферментами обмена. Соответственно модификация этих ферментов может приводить не только к изменению скорости отдельных реакций, но и сказываться на направлении процесса обмена (в частности, обмена углеводов).

Вопрос о множественных формах ферментов и их биологическом значении имеет один важный аспект. Разные формы фермента, несколько отличающиеся по своей конформации, могут характеризоваться и различием своих энзиматических свойств и различной устойчивостью к протеолитическим ферментам. Возникающая при некоторых наследственных болезнях человека энзимопатия может быть вызвана не только нарушением биосинтеза фермента, но и образованием его лабильной формы, быстро разрушающейся под действием протеиназ. Так индуцируемые гормонами формы изоферментов тирозинаминотрансферазы и гексокиназы более чувствительны к действию протеолитических ферментов, чем другие изоформы. Повышенная чувствительность индуцируемых изоэнзимов к протеолитическим ферментам является регулирующим фактором, обеспечивающим быстрый распад внутриклеточных компонентов, функционирование которых необходимо в течение короткого периода жизнедеятельности клетки.

Чувствительность ферментов к протеолитической деградации может изменяться в зависимости от целого ряда факторов. В присутствии субстратов, коферментов, различных эффекторов конформация фермента может меняться. Во многих случаях это сказывается и на характере протеолитического расщепления. Например, апоформы пиридоксалевого ферментов значительно более чувствительны к действию протеиназ, чем холоферменты. Лактатдегидрогеназа инактивируется трипсином быстрее в отсутствие НАД, чем в его присутствии, пируваткиназа или РНК-полимераза не инактивируются трипсином в присутствии субстратов и т. д.

Изменение конформации фермента и превращение его в форму, чувствительную к действию протеиназ, является начальным этапом деградации фермента.

Конформация фермента и подверженность его протеолизу могут меняться не только при взаимодействии с лигандами, но и при таких модификациях, как гликозилирование, фосфорилирование, ацетилирование, окисление и других, которые происходят в клетке в физиологических условиях. Это свидетельствует о том, что в клетке существует сложная система контроля, регулирующая протеолитический распад ферментов.

2. Участие протеиназ в образовании, модификации и инактивации гормонов и других биологически активных пептидов и белков.

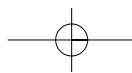
Наиболее хорошо изученным процессом образования гормона из предшественника является превращение проинсулина в инсулин.

Инсулин синтезируется островковыми клетками панкреатической железы в виде одной полипептидной цепи неактивного предшественника – проинсулина, первичная структура которого приведена на рис. 1. Проинсулин состоит из 86 аминокислот и имеет 3 дисульфидные связи. Проинсулин превращается в биологически активный инсулин путем протеолитической модификации его первичной структуры под действием протеиназ (сериновых), присутствующих в островковых клетках, которые гидролизуют две пептидные связи в проинсулине между остатками 30 и 31 и 65 и 66. При этом освобождается сегмент из 35 аминокислотных остатков (С-пептид) и молекула активного инсулина. Инсулин состоит из 2-х полипептидных цепей (А и В), состоящих из 21 и 30 аминокислот, соответственно, ковалентно связанных теми же дисульфидными связями, которые присутствовали в проинсулине.

С-пептид в дальнейшем процессируется в островковых клетках протеиназами, отщепляющими по дипептиду с COOH- и NH₂- концов С-пептида. Этот модифицированный С-пептид секретируется в кровь вместе с инсулином и определение его количества, как и количества иммунореактивного инсулина может использоваться для оценки степени синтеза проинсулина.

Существование больших по размеру предшественников установлено у целого ряда гормонов-пептидов: паратиреоидного гормона (ПТГ), глюкагона, адренокортикотропного (АКТГ), β-липотропного (β-ЛПГ), меланоцитстимулирующих гормонов (МСГ) и др.

Под влиянием каких ферментов в физиологических условиях происходит образование гормонов из соответствующих предшественников не всегда установлено. Для ПТГ, однако, показано, что образование из



про-ПТГ может осуществляться под влиянием трипсиноподобной протеиназы. Трипсиноподобные ферменты, для специфичности которых важно присутствие в субстрате двух или более расположенных подряд основных аминокислот, возможно, участвуют и в образовании других гормонов. В пользу этого свидетельствуют данные о первичной структуре предшественника глюкагона, а также данные о первичной структуре б-ЛПГ и АКТГ, которые рассматриваются как возможные предшественники β -МСГ, α -МСГ и эндорфинов.

На рис. 2 представлена упрощенная модель про-опиомеланкортина (ПОМК) — белка, состоящего из 235 аминокислотных остатков, который синтезируется в гипофизе и является предшественником АКТГ, β ЛПГ, γ ЛПГ, β МСГ, α МСГ и опиоидных пептидов. NH₂-концевая область ПОМК имеет так называемый «сигнальный» пептид из 26 остатков аминокислот, который обеспечивает транслокацию предшественника с рибосом в аппарат Гольджи, где сигнальный пептид отщепляется специфической протеиназой, а оставшаяся молекула предшественника подвергается протеолизу с участием ряда протеиназ. В результате образуются перечисленные выше гормоны, а так же ряд эндорфинов, один из которых (β -эндорфин) отмечен на рисунке, и два энкефалина из NH₂-концевой области молекулы, оставшейся после отщепления сигнального пептида.

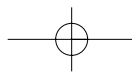
Другой группой физиологически активных пептидов, в биогенезе которых участвуют протеиназы, являются кинины, ангиотензины, атриапептиды, эндотелины и др. Обладающие гипотензивным действием, повышающие проницаемость капилляров, вызывающие боль и многие другие эффекты брадикинин и родственные ему кинины образуются в организме из кининогенов под влиянием калликреинов — трипсиноподобных протеиназ. Под контролем протеолитических ферментов находится не только образование, но и инактивация биологически активных пептидов и гормонов. Например, инактивацию брадикинина и родственных ему пептидов вызывает целый ряд ферментов. Среди них важная роль принадлежит пептидилдипептидазе (ангиотензин-превращающий фермент, АПФ). Этот фермент включен не только в инактивацию брадикинина, но и в образование его антагониста — ангиотензина II. Обладающий гипертензивным действием ангиотензин II образуется в организме под влиянием двух ферментов: высокоспецифической протеиназы ренина, который отщепляет от молекулы ангиотензи-

ногена N-концевой пептид ангиотензин I, и АПФ, превращающей ангиотензин I в ангиотензин II.

Говоря об участии протеиназ в образовании биологически активных пептидов, надо отметить, что во многих системах, обеспечивающих образование функционально активных белков из неактивных предшественников, отщепляющиеся пептиды также играют физиологическую роль. Примером такого пептида может служить N-концевой гексапептид трипсиногена, освобождающийся при активации. Было установлено, что этот пептид является антагонистом гастринина и, действуя по типу «обратной связи» подавляет секрецию желудочного сока. Фрагменты белков, образованные под действием пепсина стимулируют функциональную активность поджелудочной железы. Биологическим действием обладают также пептиды, отщепляемые тромбином при превращении фибриногена в фибрин: пептид В имеет хемотактические свойства и вызывает миграцию лейкоцитов к месту своего образования, пептид А обладает местным гипертензивным действием. Сильный физиологический эффект оказывают пептиды, образующиеся при активации системы комплемента: пептиды С3а, С4а и С5а (так называемые анафилатоксины) вызывают освобождение гистамина из тучных клеток, имеют хемотактические свойства, увеличивают проницаемость сосудов и вызывают сокращение гладкой мускулатуры.

Полученные в последние годы данные свидетельствуют о присутствии в организме человека более 500 биологически активных пептидов и указывают на многообразие функций пептидов в организме, связывая с их участием такие сложные процессы, как явления памяти, сна и многие другие, а также возникновение некоторых патологических состояний. Выяснение физиологической роли пептидов и ферментных систем, принимающих участие в их образовании и инактивации, представляет большой интерес и неразрывно связано с пониманием регуляторной функции протеолитических ферментов.

Известно, что некоторые секретируемые белки синтезируются в клетках в виде больших по размеру предшественников. Превращение таких предшественников в соответствующие белки происходит при участии протеиназ. Наиболее изученной реакцией такого типа является превращение проколлагена в коллаген. α 1- и α 2-полипептидные цепи молекулы коллагена синтезируются в клетке в виде больших по размеру предшественников, которые, объединяясь, образуют молекулу проколлагена. В культуре

**ПРОТЕОЛИЗ И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ**

фибробластов, а также в коже, сухожилиях и хрящах был обнаружен специальный протеолитический фермент — проколлаген-пептидаза, которая превращает проколлаген в коллаген. При этом происходит отщепление N-концевого фрагмента, состоящего из 130–200 аминокислотных остатков, которое осуществляется вне клетки, куда секретируется также и проколлаген-пептидаза. После отщепления указанного фрагмента молекулы коллагена агрегируют и образуют коллагеновые фибриллы.

Таким образом, ограниченный протеолиз предшествует агрегации белковых молекул и образованию надмолекулярных структур. Ограниченный протеолиз, приводящий к последующей полимеризации белковых частиц, происходит при превращении фибриногена в фибрин, при образовании компонентов комплемента, атакующих клеточную мембрану. В этих случаях отщепление пептидов или гидролиз отдельных связей приводят, очевидно, к обнажению гидрофобных участков белковых молекул, за счет которых затем происходит их ассоциация и образование надмолекулярных структур.

Установлена роль протеиназ в формировании всех известных 15-и амилоидных структур, в том числе наиболее распространенных амилоидов, которые образуются легкими цепями иммуноглобулинов или некоторыми сывороточными белками острой фазы воспаления, а также амилоид болезни Альцгеймера.

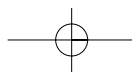
В виде предшественников синтезируется не только белки, формирующие надмолекулярные структуры. Существование биосинтетических предшественников показано для таких белков, как сывороточный альбумин, γ -глобулин. Так в бесклеточной системе легкая цепь молекулы γ -глобулина синтезируется в виде более длинного полипептида, имеющего на N-конце дополнительно от 8 до 20 аминокислотных остатков. Этот небольшой N-концевой фрагмент может легко отщепляться под действием трипсиноподобного фермента. В печени синтезируется предшественник альбумина — проальбумин, который превращается в альбумин в результате протеолиза. Многочисленные факты свидетельствуют о том, что протеиназы могут быть включены в заключительные этапы биосинтеза белка, связанные с образованием функционально активных продуктов. Вместе с тем имеются данные о том, что протеолитические ферменты могут участвовать и в начальных этапах белкового

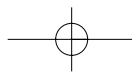
синтеза, действуя на стадии как активации генома, так и трансляции. Роль протеиназ в этих случаях может быть связана с расщеплением или модификацией белков-репрессоров или каких-то ингибиторов. Подтверждением этого предположения в известной мере служат данные о том, что в ядрах и хроматине обнаружены протеиназы, расщепляющие гистоны, и удаление последних повышает матричную активность ДНК.

Большинство рассмотренных выше примеров — это процессы или реакции, для которых известны субстрат, фермент, а во многих случаях и характер протеолитической модификации субстрата. Вместе с тем в последнее время накопился большой фактический материал, свидетельствующий об участии протеолитических ферментов в таких процессах, как деление, рост и миграция клеток, злокачественная и вирусная трансформация клеток, реакции иммунного ответа, развития ряда патологических состояний. Каковы непосредственные механизмы участия протеолитических ферментов в этих процессах, известно не во всех случаях. Действие протеиназ помимо рассмотренных выше видов реакций может быть связано с модификацией белков плазматической мембраны. В частности, предполагается, что в процессе злокачественной трансформации клеток может происходить протеолитическая модификация поверхностных белков клеточной мембраны и появление новых антигенов, что имеют существенное значение для таких процессов, как распознавание клеток и межклеточные взаимодействия. Выяснение роли протеиназ в этих и других биологических системах очень важно для понимания механизмов биологического контроля в организме.

Представленный материал свидетельствует о широком распространении в организме реакций ограниченного протеолиза. Естественно возникает вопрос, какие протеолитические ферменты выполняют эту функцию, как осуществляется регуляция их активности.

Рассматривая образование ферментов и гормонов из неактивных предшественников, а также процессы образования биологически активных пептидов, следует подчеркнуть роль трипсина и трипсиноподобных протеиназ в этих процессах. Под влиянием трипсина наблюдалась также модификация свойств ряда ферментов и образование таких белков, как сывороточный альбумин и γ -глобулин из биосинтетических предшественников. Однако вопрос о том, какие ферменты в физиологических ус-





ловиях вовлечены в деградацию и модификацию белков, во многих случаях остается открытым.

Деградация ферментов в клетке может начинаться с действия специализированных протеиназ, осуществляющих реакции ограниченного протеолиза. Такого типа протеиназы, специфически инактивирующие апоформы пиридоксальных ферментов, были обнаружены в различных органах и тканях. Эти специфические протеиназы относятся к группе сериновых протеиназ и по специфичности действия похожи на химотрипсин. Ферменты, проявляющие максимальную активность в щелочной среде, обнаружены во фракции митохондрий. В норме они находятся в латентном состоянии, так как в тканях присутствуют ингибиторы ферментов. Образовавшиеся после действия специфических протеиназ крупные фрагменты молекул ферментов подвергаются затем действию неспецифических протеиназ и расщепляются до низкомолекулярных продуктов.

Имеются ли в организме еще подобного рода протеиназы, специфически настроенные на определенные группы белков-ферментов, пока не известно. По аналогии с такими высокоспецифичными протеиназами, как коллагеназа и эластаза, начинающими деградацию соответствующих белков, можно представить существование в организме специализированных групп протеиназ. К числу таких ферментов, возможно, относятся и высокоспецифические протеиназы трипсинового типа, для которых важно присутствие в субстрате двух расположенных подряд основных аминокислот или наличие определенных пептидных последовательностей.

Вместе с тем имеющиеся данные свидетельствуют о том, что специфическая инактивация и модификация ферментов и других белков могут осуществляться протеиназами широкого диапазона действия. Например, было установлено, что под влиянием одной из основных лизосомных протеиназ – катепсина В1 в нейтральной среде происходит инактивация глюкокиназы, альдолазы и пируваткиназы, тогда как активность ряда ферментов остается без изменения. Еще более специфическое действие катепсина В1 отмечалось в случае фруктозо-1,6-дифосфатазы, когда в результате отщепления пептида происходило образование новой формы фермента с измененными аллостерическими свойствами. Известно, что лейкоцитарная эластаза инактивирует широкий спектр белков, помимо эластина и коллагена гидролизует ЛДГ, КФК, все факторы систем свертывания крови, фибринолиза, комплемента и кинино-генина.

Примером фермента с широкой специфичностью, осуществляющим две высокоспецифические реакции, может служить также АПФ, под действием которого происходит образование ангиотензина II и инактивация его антагониста брадикинина.

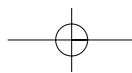
Приведенные данные, а также пример трипсина, который вызывает активацию многих зимогенов и специфическую модификацию ряда ферментов, свидетельствует о том, что избирательная протеолитическая деградация может осуществляться протеиназами широкого диапазона действия. Более того, эти данные позволяют заключить, что специфичность реакций ограниченного протеолиза определяется не только специфичностью действующей протеиназы, но и структурой белка (пептида) – субстрата.

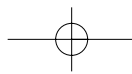
3. Регуляция протеолитической активности.

Белки и пептиды, особенно модифицированные, могут подвергаться активному протеолизу под действием множества протеиназ в патологических условиях (воспаление, сепсис, ДВС, шок и другие критические состояния), при этом образуются продукты деградации функционально значимых белковых и пептидных структур с образованием неактивных, а иногда и токсических фрагментов, например, так называемые «молекулы средней молекулярной массы».

Как известно, в организме существуют мощные системы ингибиторов протеолитических ферментов, контролирующие активность протеолиза и обеспечивающие антипротеолитическую защиту организма. Среди них встречаются как поливалентные ингибиторы (например, α 2-макроглобулин), протеиназа (α 1-антитрипсин), и внутриклеточные ингибиторы, взаимодействующие со многими протеиназами, так и моновалентные ингибиторы, специфически тормозящие действие какого-либо одного или несколько однотипных ферментов (α 2-антиплазмин). Существование в организме протеолитических ферментов различной специфичности и ингибиторов белковой природы различных спектров действия свидетельствует о том, что активация протеолитических ферментов путем расщепления или модификации их ингибиторов представляет собой один из основных физиологических механизмов регуляции активности этих ферментов и их избирательного включения в обмен.

У высших организмов большая часть внутриклеточных протеолитических ферментов находится внутри лизосом и тем самым отделена от основной мас-





сы белков. Внутриклеточный распад белков, согласно современным представлениям, протекает главным образом как в цитоплазме с участием убиквитинной системы, так и внутри лизосом. Вместе с тем при определенных физиологических и патологических состояниях наблюдается выход лизосомных ферментов в цитоплазму и межклеточные пространства. Примером этому может служить освобождение коллагеназы и катепсинов при инволюции матки, активация лизосомных ферментов в реакциях иммунного ответа, появление лизосомных протеиназ (эластазы, катепсина С, катепсина В1 и В2 и других) в различных очагах воспаления и т. д. Более того, в настоящее время известен ряд веществ, влияющих на проницаемость лизосомных мембран, таких как, например, витамины А и Е, некоторые гормоны, неметаболизируемые сахара, циклические нуклеотиды и др., которые способствуют или препятствуют освобождению лизосомных ферментов и регулируют тем самым их уровень в клетке.

Следовательно, можно думать, что структурное разобщение ферментов и субстратов в клетке, а также их возможная локализация в различных типах клеток и разных тканях имеют важное биологическое значение. Это, с одной стороны, предохраняет от разрушения белки и другие структурные компоненты, а с другой — создает возможность регуляции активности ферментов на уровне осуществления их контакта с субстратами.

Таким образом, протеолитические ферменты участвуют в регуляции клеточного метаболизма, включая следующие механизмы, с помощью которых в физиологических условиях может осуществляться контроль активности и избирательного действия этих ферментов:

- присутствие в организме протеиназ с различной субстратной и эффекторной специфичностью;
- присутствие ингибиторов, специфичных для разных протеиназ;
- зависимость протеолитической деградации от конформации и структурных особенностей белков (ферментов)-субстратов;
- различные скорости биосинтеза и деградации различных протеиназ и ингибиторов;
- активация, инактивация и модификация протеиназ и ингибиторов в результате ограниченного протеолиза;
- различная локализация в субклеточных элементах протеиназ, ингибиторов, эффекторов и белков-субстратов.

4. Заключение

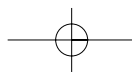
В настоящее время уже возможно составить достаточно полное представление о регуляторной функции протеолитических ферментов.

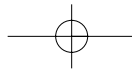
Характерной особенностью реакций, катализируемых протеиназами, является их практически односторонний характер, так как в физиологических условиях гидролиз пептидных связей по существу — необратимый процесс. Это определяет специфику функций протеиназ в организме и приводит к тому, что включение в обмен этих ферментов может быть сигналом для начала и реализации ряда физиологических процессов. Примером этому служат свертывание крови, фибриллогенез и ряд других процессов. В этих, как и многих других случаях, протеиназы выступают как факторы пострибосомной модификации белков, с действием которых связано как образование функционально активных белков, так и модификация свойств последних. Участие протеиназ в заключительных этапах образования функционально активных белков, и особенно ферментов, по-видимому, можно рассматривать как своего рода биологическое приспособление, так как с помощью одной реакции ограниченного протеолиза, не требующей энергетических затрат, в организме может быстро и своевременно реализоваться потребность в необходимом белковом компоненте.

Воздействуя на энзиматические системы клетки и изменяя свойства отдельных ферментов (особенно ключевых ферментов обмена), протеолитические ферменты могут вызвать не только количественные, но и качественные изменения обмена или отдельных его звеньев, и играть тем самым роль ключевых механизмов, запускающих, переключающих, а иногда и включающих многие биохимические процессы.

Помимо непосредственного участия в регуляции внутриклеточного метаболизма путем воздействия на ферментные системы клетки, протеолитические ферменты в организме включены в осуществление более высокого уровня регуляции. Участвуя в биогенезе гормонов и биологически активных пептидов и контролируя их концентрацию в организме, протеолитические ферменты тем самым опосредовано включены в осуществление гормональной регуляции и регуляции многих физиологических функций.

Таким образом, в настоящее время, основываясь на огромном фактическом материале, накопленном в последние годы, можно утверждать, что протеолити-





ческие ферменты — ферменты белкового катаболизма — играют в организме не только деструктивную роль, вызывая распад белковых молекул, но и выполняют регуляторную функцию, представляя собой один из важнейших контрольных механизмов клеточного метаболизма.

С деятельностью протеолитических ферментов связано как образование многих ферментов, гормонов и ряда биологически активных пептидов, так и их инактивация. Уровень активности многих биостимуляторов в организме находится под контролем протеолитических ферментов и зависит не только от скорости биосинтеза этих соединений, но и от активности протеолитических ферментов, принимающих участие в их образовании и распаде.

Последние годы ознаменовались открытием новых функций протеиназ. Так установлена ключевая роль урокиназы (фермента хорошо известного в качестве активатора плазминогена) в миграции клеток, в том числе клеток стволовых, и в ремоделировании тканей. В эти процессы, по современным данным, так же вовлечены матричные протеиназы. Показано участие каспаз и кальпаинов в апоптозе и других регуляторных функциях организма. В клетках млекопитающих обнаружены протеиназы, активирующие предшественники факторов роста многих бактерий и вирусов и тем самым способствующие распространению инфекции. Так, например, единственный белок вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), представляющий собой предшественник аспартатной протеиназы, активируется сериновой протеиназой Т-лимфоцитов в протеиназу, обладающую функцией ростового фактора. Установлена роль протеосом (полисубъединичного протеолитического комплекса, гидролизующего белки до фрагментов определенной молекулярной массы) в презентации белковых антигенов иммунокомпетентным клеткам.

К принципиально новым направлениям в изучении функций протеиназ следует отнести открытие рецепторов на эндотелиальных и других клетках к протеиназам плазмы крови, таким как тромбин, факторы Ха и VIIa, активный протеин С, урокиназа. У этих протеиназ выявлены свойства клеточных регуляторов, влияющих на эмбриогенез, ангиогенез, воспаление, заживление ран, тромбоз, атерогенез и образование опухолей, которые они осуществляют через специфические мембранные рецепторы. Обнаружены и клонированы новые рецепторы, активируемые протеиназами (PAR). Все представители PAR

относятся к суперсемейству интегральных мембранных рецепторов, сопряженных с G-белками. Тромбин и ряд других сериновых протеиназ регулируют активность клеток, расщепляя одну пептидную связь во внеклеточном домене PAR, при этом открывается новый NH₂-концевой участок рецептора, который выполняет функцию агониста этого рецептора.

В итоге можно заключить, что имеются убедительные свидетельства универсальной, многообразной, уникальной роли протеолиза в регуляции практических всех функций организма. Есть веские основания утверждать, что ограниченный протеолиз является особым молекулярным механизмом, с помощью которого наиболее полно может быть использована информация, считанная с генетического аппарата и закодированная в полипептидной цепи белка, необходимая для проявления той или иной биологической функции.

Дальнейшие публикации будут посвящены роли в норме и патологии отдельных протеиназ и протеолитических систем.

Литература:

1. Биохимия, т. 67, №1, 2002.
2. Вопросы медицинской химии. 2001, т. 47, выпуск 1.
3. Локшина Л. А. Реакции ограниченного протеолиза и их регуляторное значение. Успехи биологической химии, вып. IV, с. 162-187, 1977.
4. Мосолов В. В. Механизмы контроля протеолиза. Успехи биологической химии, т. 28, с. 125-144, 1988.
5. B. Alberts, D. Bray, J. Levis, M. Raff, K. Roberts, J. D. Watson. Molecular biology of the cell. 1994, Garland Publishing, Inc. New York, London, p. 195-223, 477-599.
6. Biological functions of proteases and inhibitors. Eds. Katunuma N., Suzuki K., Travis J., Fritz H. Japan scientific societies press. 1994, p. 274.
7. Bond J. S., Barrett A. J. Proteolysis and Protein Turnover. 1993. Portland Press. London.
8. James M. G. Convergence of active-centre geometrics among the proteolytic enzymes. Proteolysis and protein turnover. — Ed. by Bond J. S., Barrett A. J. —London: Portland Press, 1993, P. 1-8.
9. Proteolysis in Cell Functions. Eds: V. Hopsn-Havu, M. Jarvinen, H. Kirschke. 10s Press, Amsterdam, 1997, p. 576.
10. Textbook of biochemistry with clinical correlations. Ed. T. M. Ddevlin, Willy-Lyss, N. Y. p. 750-752, 1055-1073, 2001.
11. Uoessner I. F. FASEB J. 1991. v.5. p. 2145-2154.

