

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

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

# **Достижения медицинской науки Беларуси**

*Выпуск V*

*Рецензируемый научно-практический ежегодник*

# **Accomplishments of Medical Science in Belarus**

*5th Issue*

**Минск  
БелЦНМИ  
2000**

УДК 577.112:577.15

### Новые функциональные свойства молекулы фактора роста нервов и ее субъединиц

*В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова, В.С. Лукашевич,  
И.Б. Лукашевич, А.В. Агурков, А.Г. Давыдовский,  
Г.А. Шпак*

Рубрика: 76.03.31

*Тема НИР:* «Роль взаимодействия звеньев протеолиза и белковых факторов роста в регуляции функциональных свойств нервной ткани» и «Раскрыть новые механизмы регуляции протеолиза на молекулярном и клеточном уровнях».

*Сроки выполнения НИР:* 1999–2001 гг.

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

*Источник финансирования:* госбюджет, Министерство здравоохранения РБ.

Исследование очищенных гомогенных (по данным электрофореза и изоэлектрофокусирования в полиакриламидном геле) образцов фактора роста нервов (NGF) из подчелюстной слюнной железы мышей и его субъединиц позволило впервые выявить плазминоген-активаторную способность  $\beta$ -субъединицы белка. Методом лизиса фибриновых пластин показано, что в проявлении этой способности NGF,  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединицами, в сравнении с традиционными активаторами плазминогена (стрептокиназой, урокиназой, тканевым активатором из сердца свиньи), имеется лаг-период продолжительностью более 3 часов. Удельная плазминоген-активаторная способность  $\beta$ -субъединицы составляет 42% от таковой способности  $\gamma$ -субъединицы. Эти две особенности объясняют отрицательные результаты попыток определения у  $\beta$ -субъединицы активности активатора плазминогена в работах других исследователей. Лишь NGF и  $\gamma$ -субъединица способны интенсивно гидролизовать N-бензоил-DL-аргинил- $\rho$ -нитроанилид, активность  $\beta$ -субъединицы по этому субстрату не превышает 6% таковой  $\gamma$ -субъединицы. Плазминоген-активаторная способность NGF и его субъединиц нечувствительна к перехватчикам синглетного кислорода и OH-радикала. Подавление ее нитротетразолиевым синим ( $10^{-2}$  моль) на 47, 40 и 100% в случае NGF,  $\gamma$ - или  $\beta$ -субъединиц указывает на вероятное участие в их активаторной способности супероксидного радикала ( $O_2^-$ ). Это расширяет сферу реализации активации плазминогена по кислородзависимому пути.

Плазминоген-активаторная способность  $\beta$ -субъединицы (но не NGF или  $\gamma$ -субъединицы) на 20–33% подавляется  $\rho$ -хлормеркурибензоатом, а также этилендиаминотетраацетатом, о-фенантролином и 8-оксихинолином в конечной концентрации  $10^{-3}$  моль. Выявленные различия чувствительности отражают особенности структурной организации субъединиц и дополнительно подтверждают самостоятельность плазминоген-акти-

ваторных свойств  $\beta$ -субъединицы.

$\alpha$ -субъединица не влияет на фибринолитическую активность трипсина,  $\alpha$ -химотрипсина, субтилизина, папаина, пепсина, а также на плазминоген-активаторную способность  $\gamma$ -субъединицы. Однако она может полностью (эффект имеет температурозависимый характер в узком диапазоне температур) подавлять такую  $\beta$ -субъединицы.

NGF,  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединицы не расщепляют гемоглобин или фибрин. Впервые найден белковый субстрат, интенсивно гидролизуемый NGF и обеими субъединицами. Активность  $\beta$ -субъединицы по его гидролизу составляет 26% от активности  $\gamma$ -субъединицы. На этом белковом субстрате не удалось достичь проявления протеолиза при обработке  $\alpha$ -субъединицы стрептокиназой, ионами  $Fe^{2+}$ ,  $H_2O_2$ , системами генерирования  $O_2$ -радикала — факторами, вызывающими активацию зимогенов ряда протеиназ. Эти факты пока не дают основания считать, что  $\alpha$ -субъединица — зимоген протеиназы.

При pH 7,6 NGF,  $\alpha$ -,  $\beta$ - или  $\gamma$ -субъединицы подавляют восстановление нитротетразолиевого синего в системах генерирования  $O_2$ -радикала — NADH(или аскорбат)-феназинметосульфат соответственно на 39%, 58–62%; 27–29% и 41–52%.

Полученные материалы раскрывают новые свойства молекулы NGF, ее  $\beta$ -субъединицы, являющейся носителем нейроростовой активности.

*Область применения:* энзимология, биология клетки, экспериментальная нейробиология, нейрофармакология, нейротрансплантология.

*Рекомендации по использованию:* на основе полученных оригинальных данных в перспективе возможна разработка биохимических приемов тестирования и стандартизации препаратов NGF, раскрытие молекулярных механизмов биологического действия  $\beta$ -субъединицы, а также обоснование подходов и дальнейшая разработка NGF-миметических средств для целей нейрофармакологии и трансплантации нервной ткани.

*Предложения по сотрудничеству:* совместные исследования механизмов биологического действия NGF с научными коллективами биохимиков, фармакологов, физиологов клетки (в РБ, странах СНГ и с зарубежными центрами), а также в области разработки NGF-миметических средств с химиками-биоорганиками, нейрофармакологами и клиницистами.

### New functional properties of nerve growth factor molecule and its subunits

*V.N. Nikandrov, N.S. Pyzhova, V.S. Lukashevich,  
I.B. Lukashevich, A.V. Agurkov, A.G. Davydovsky,  
G.A. Shpak*

The plasminogen-activating ability of  $\beta$ -subunit of nerve growth factor (NGF) is described. This ability of NGF, its  $\gamma$ - and  $\beta$ -subunits is inhibited by superoxide radical scavenger — nitrotetrazolium blue. The differences in the sensitivity of NGF,  $\gamma$ - and  $\beta$ -subunit are demonstrated. The plasminogen-activating ability of  $\beta$ -subunit is inhibited by  $\rho$ -chloromercuribenzoate and chelate agents.  $\alpha$ -subunit inhibits the plasminogen-activating ability of  $\beta$ -subunit (but not  $\gamma$ -),

and it does not show any proteolytic activity after the treatment with streptokinase,  $H_2O_2$ ,  $Fe^{2+}$  or with systems generating the superoxide radical. NGF and its subunits demonstrate  $O_2$ -converging activity. The data obtained reveal new properties of NGF molecule.