

Ю.Г. Клысь
Н.В. Зайцева
А.И. Кизим
С.В. Веревка

ГУ «Институт
отоларингологии
им. А.И. Коломийченко
АМН Украины»

Институт биохимии
им. А.В. Палладина
НАН Украины, Киев, Украина

Ключевые слова: протеазы, плазминоген, активаторно-ингибиторный баланс, ангиостатин, опухолевый рост.

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ПЛАЗМИНОГЕНА ПРИ РАЗВИТИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Резюме. Приведены данные о структуре молекулы плазминогена (Плг), специфичности и субдоменном расположении его участков межмолекулярного взаимодействия, отличиях комплекса свойств интактного Плг и его протеолитических производных, свидетельствующие о весомой функциональной роли последних. Отмечается противоречивый характер их воздействия на протекание онкологического процесса. С одной стороны, кринггосодержащие фрагменты оказываются эффективными блокаторами участков функционально необоснованной активации Плг, способствуя тем самым восстановлению нарушенного активаторно-ингибиторного баланса, с другой, — лишение кринггосодержащих структур протеолитической части фермента предохраняет от ингибирования α_2 -антиплазмином при сохранении гидролитической и активаторной активности, усугубляя тем самым упомянутый дисбаланс.

В ряду молекулярных трансформаций, определяющих регуляцию множества физиологических процессов, особое место занимают активационные превращения, ведущие к образованию активных белковых форм. Как известно, большинство белков синтезируется в организме в виде неактивных предшественников — проформ, проферментов, профакторов и т.д. Один из основных путей их превращения в активные формы опосредован конформационными изменениями, вызванными ферментативным расщеплением строго определенных, так называемых активационных, связей. В качестве ферментов-активаторов обычно выступают сериновые протеиназы (П) трипсинового ряда, обладающие повышенным сродством к соответствующим участкам подлежащего активации белка [1, 2]. С другой стороны, чрезмерное активационное и гидролитическое действие П ограничивается белковыми ингибиторами (И), формирующими с ферментами устойчивые инактивированные комплексы [3]. Проактивированные ферменты зачастую сами оказываются активаторами других белков, формируя тем самым сложные и многокомпонентные активационные каскады, регулирующие многие важнейшие пути метаболизма [4]. Понятно, что нарушение активаторно-ингибиторного баланса (АИБ) любого из компонентов подобных каскадов неизбежно скажется на функционировании сопряженных систем и всего организма в целом, составляя молекулярную основу множества патологий [5–7]. В частности, активаторно-ингибиторный дисбаланс составляет неотъемлемую черту онкологических заболеваний. В процессах роста раковой опухоли, инвазии и метастазирования участвуют все 5 классов внеклеточных и внутриклеточных протеолитических

ферментов — аспарагиновые, цистеиновые, сериновые, треониновые и металлопротеиназы [8–10]. Одно из следствий подобного рода «протеолитической вспышки» состоит в формировании структурно уязвимых белков, подвергшихся дополнительному, функционально необоснованному протеолизу. Особого внимания при этом заслуживают протеолитические производные плазминогена (Плг) — профермента ключевого компонента фибринолитической системы крови плазмина (Пл) (К.Ф.3.4.21.7). Среди многочисленных П, задействованных в патогенезе онкологических заболеваний, Плг и Пл занимают особое место [8, 10–12]. Обусловлено оно, по всей видимости, уникальным комплексом адгезивных, протеолитических и активаторных свойств этих молекул при высокой степени защищенности сорбированного фермента от инактивации циркулирующими в кровотоке И.

Как известно, Плг представляет собой одноцепочечный гликопротеид с молекулярной массой около 92 кДа, содержащий 790 аминокислот и до 2% углеводов. Активация Плг в Пл опосредована расщеплением пептидной связи $\text{Arg}_{561}\text{-Val}_{562}$ [13]. При этом образуются тяжелая (60 кДа) и легкая (26 кДа) цепи Пл, соединенные двумя дисульфидными связями $\text{Cys}_{545}\text{-Cys}_{665}$ и $\text{Cys}_{557}\text{-Cys}_{565}$. Легкая цепь формирует активный центр фермента и имеет ярко выраженную гомологию с трипсином, химотрипсином, эластазой, фактором Ха и соответствующей цепью протромбина [15–17]. Тяжелая цепь состоит из преактивационного пептида и пяти высокомолекулярных трехпетлевых («складчатых») структур. Каждая из этих структур, обычно именуемых кринглами, содержит около 80 аминокислотных остатков, стабилизированных тремя дисульфидными связями [18].

Кринглы составляют достаточно стандартный доменный мотив многих регуляторных белков. Помимо Плг, крингловые структуры присутствуют в молекулах многих белков системы свертывания крови и фибринолиза — протромбине, факторе XII, тканевом активаторе Плг, урокиназе. Выявлены они и в факторе роста гепатоцитов, структура же аполипопротеина состоит из многократного их повторения [4]. Уникальные свойства Плг в значительной мере обусловлены расположенными в крингловых структурах участками связывания, обеспечивающими направленность действия активного центра фермента на строго определенные, функционально обусловленные пептидные связи расщепляемых белков. В частности, ферментативное расщепление Плг фибринового сгустка носит выраженный блочный характер, обусловленный участком комплекса связывающих участков фермента, последовательно направляющих активный центр на строго определенные пептидные связи фибрина [19, 20]. Именно поэтому Пл, существенно уступая трипсину в отношении гидролиза низкомолекулярных субстратов, многократно более эффективен как фибринолитик [59]. По той же причине полученные *in vitro* протеолитически деградированные производные Пл, не уступая интактому ферменту в отношении гидролиза низкомолекулярных субстратов, в качестве фибринолитиков малоэффективны [21–24].

Среди размещенных в крингловых структурах участков межмолекулярного взаимодействия наиболее подробно и систематично изучены лизинсвязывающие участки, играющие ключевую роль во взаимодействии Плг и Пл не только с фибрином, но и с α_2 -антиплазмином и клеточными рецепторами [25–27]. Лизинсвязывающими участками (ЛСУ) называют структурные группы, способные эффективно связывать ω -аминокарбоновые кислоты (с расстоянием между амино- и карбоксильными составляющими порядка 0,7 нм) [28, 29]. Они эффективно взаимодействуют с заряженными дипольными парами типа лизил-карбоксил или аргинил-карбоксил, причем составляющие подобную пару лиганды не обязательно должны принадлежать одной С-концевой молекуле лизина или аргинина. Расположены ЛСУ в крингловых структурах тяжелой цепи Плг (Пл) [30]. Ключевая активационная стадия фибринолитического процесса — связывание как Плг, так и тканевого активатора Плг (К.Ф.3.4.21.68) с фибриновой сетью — также опосредована лизинсвязывающими участками [4, 19].

Необходимо отметить, что в отношении определения специфичности связывающих участков Плг в специальной литературе до недавнего времени царила редкостная путаница, вызванная способностью Плг и Пл эффективно связывать разнообразные низкомолекулярные лиганды — бензамидин, алифатические кислоты, аминокислотные группы [31–33]. Лишь в отношении бензамидинсвязывающих участков было изначально установлено отли-

чие как от «гидрофобного кармана» активного центра Пл, так и от лизинсвязывающих участков [33]. Комплексное применение методов протеолитической фрагментации Плг, аффинной хроматографии и дифференциальной сканирующей калориметрии при исследовании связывающих свойств и отдельных структурных доменов позволили внести ясность в локализацию и лигандную специфичность связывающих участков Плг (Пл) [34–37]. Помимо дипольных лизинсвязывающих участков, в Плг содержатся участки связывания аргинильных остатков, не требующие наличия в лиганде свободной карбоксильной группы. Два из них, локализованные в крингле 5 и легкой цепи Пл, идентифицированы как ранее известные бензамидинсвязывающие участки, третий же, находящийся во фрагменте К1–3, с бензамидином не взаимодействует [38].

Вследствие мультидоменной структуры Плг ограниченный протеолиз эластазой, пепсином, химотрипсином и Пл позволяет выделять отдельные домены молекулы, производя своего рода блочную разборку [39–41]. При характерных для онкологических заболеваний нарушениях АИБ протеолитических ферментативных систем [8–10] блочная фрагментация Плг также приводит к формированию ряда деградированных производных. Выявление последних представляется перспективным для выявления онкологического процесса на ранних, доклинических, стадиях, оценки эффективности терапии и распознавания рецидива [42], однако не меньшего внимания заслуживает рассмотрение их роли в молекулярных дисфункциях, опосредующих развитие онкологического процесса в целом.

Среди циркулирующих в кровотоке продуктов протеолитической деградации Плг в первую очередь следует упомянуть об ангиостатине (Аст), вернее сказать — группе кринглсодержащих фрагментов Плг, объединенных под этим названием. Открыт Аст сравнительно недавно — в 1994 г. — вследствие поисков причин интенсивной неоваскуляризации и роста метастазов после хирургического удаления первичной опухоли. Угнетение пролиферации клеток мочой и плазмой мышей с опухолями обусловило предположение о существовании соответствующего И, продуцируемого самой опухолью. Им оказался белок с молекулярной массой 38 кДа, впоследствии идентифицированный по аминокислотной последовательности как фрагмент К1–4 Плг [43]. Поскольку процесс формирования Аст в условиях *in vivo* зависит от исследуемой модели опухоли и задействованных в процессе протеолитических ферментов, образуются формы, отличающиеся между собой как по молекулярной массе, так и по антиангиогенному действию [44]. Описаны варианты К1–3, К2–3, К1–4, К1–4.85, К1–5 и отдельные кринглы Плг [45]. Однозначно признается, что функциональная активность Аст напрямую зависит от сохранения крингловых структур и содержащихся в них участков межмолекулярного

взаимодействия [46, 47]. Иными словами, антиангиогенное действие Аст определяется его способностью эффективно конкурировать со значительными количествами циркулирующих в кровотоке Плг и тканевого активатора Плг за участки специфической сорбции, уменьшая тем самым функционально необоснованную активацию Плг. Закономерно возникает вопрос — каким образом небольшая примесь кринглсодержащих форм ангиостатина оказывается способной к столь эффективной конкуренции, делая Аст одним из наиболее перспективных антиметастатиков [48]. Изложенные данные о расположении и специфичности связывающих участков Плг позволяют объяснить эту способность максимальной открытостью и функциональной эффективностью соответствующих связывающих участков белка. Как известно, циркулирующий в кровотоке Глу₁-Плг представляет собой закрытую спиралеобразную структуру, стабилизированную комплексом внутримолекулярных взаимодействий. При отщеплении N-концевого пептида наблюдается переход из закрытой спиралеобразной α -конформации к характерной для частично автолизированной Лиз₇₇-формы Плг более открытой β . Структура же Пл (так называемая γ -конформация) — еще более открыта [49]. Основная роль в стабилизации конформационных форм Плг принадлежит внутримолекулярным взаимодействиям, опосредованным связывающими участками крингловых структур. Присутствие лигандов, блокирующих те или иные связывающие участки, приводит к аналогичным конформационным изменениям. Так, структура Глу₁-Плг в присутствии 6-аминогексановой кислоты трансформируется в подобную Лиз₇₇-форме β -конформацию, в присутствии же как 6-аминогексановой кислоты, так и бензамидина образуется характерная для Пл γ -конформация [49]. Понятно, что раскрытость крингловых структур и расположенных в них связывающих участков у всех форм Аст существенно выше, чем у нативного Плг. Тем самым обеспечивается эффективная конкуренция Аст с циркулирующими в кровотоке Плг и тканевым активатором Плг за потенциальные участки сорбции, предупреждая тем самым физиологически необоснованную активацию и способствуя восстановлению нарушенного АИБ.

Выраженное антиметастатическое действие разнообразных форм кринглсодержащих Аст обусловило неослабевающий интерес к исследованию их структуры, путей формирования и возможности разработки на их основе эффективных терапевтических средств. Однако не меньшего внимания заслуживает и лишенная кринглов протеолитическая часть, формируемая в ходе неконтролируемого протеолитического расщепления Плг. Отсутствие направляющего действия расположенных в крингловых структурах связывающих участков превращает ферментативную часть Пл в низкоселективную трипсинподобную П. Подобное производное сохра-

няет гидролитическое и активаторное действие при существенно уменьшенных возможностях их ограничения циркулирующими в кровотоке И. Как известно, высвобождаемый в кровотоке по мере лизиса фибринового сгустка Пл в ходе двухстадийной реакции необратимо ингибируется α_2 -антиплазмином. Первая, быстрая, стадия этого процесса опосредована лизинсвязывающими участками [26, 27], при их же отсутствии или насыщении соответствующими лигандами α_2 -антиплазмин оказывается практически неэффективным [27, 50]. Поэтому появление лишенной крингловых структур ферментной формы не может не сказаться самым негативным образом на поддержании АИБ.

Суммируя изложенный материал, следует признать двойственную роль протеолитически деградированных производных Плг в онкологическом процессе. С одной стороны, кринглсодержащие фрагменты оказываются эффективными блокаторами участков функционально необоснованной активации Плг, способствуя тем самым восстановлению нарушенного АИБ, с другой же — лишение крингловых структур протеолитической части фермента предохраняет ее от ингибирования α_2 -антиплазмином при сохранении гидролитической и активаторной активности, усугубляя тем самым упомянутый дисбаланс. Следует также отметить, что существование частично деградированных форм не является чем-то необычным и, по всей видимости, составляет функционально важную стадию процессинга многих белков. В частности, существует обильная литература, посвященная роли фрагментов фибриногена/фибрина, образующихся в ходе фибринолитического процесса и существенно влияющих на ход как свертывания крови, так и фибринолиза [51–55]. Для многих пептидгидролаз также известно несколько структурных изоформ, отличающихся друг от друга участками расщепления первичной последовательности и, как следствие, целым комплексом физико-химических и ферментативных свойств. Так, одна из простейших классобразующих сериновых П — трипсин (К.Ф. 3.4.21.4), помимо основной одноцепочечной β -формы [56], формирует ряд автолитически деградированных производных с дополнительными расщеплениями в полипептидной цепи, каталитические свойства и субстратная специфичность которых существенно отличаются от нативного β -трипсина [57–59]. Для химотрипсина также известно несколько степеней деградации, отличающихся как местом и числом расщеплений прошитой дисульфидными связями молекулы, так и ферментативными свойствами производных форм [60]. Подобное разнообразие характерно и для других П серинового ряда, в том числе и для ключевых ферментов системы гемостаза — тромбина (К.Ф. 3.4.21.5) и Пл (К.Ф. 3.4.21.7).

Существенные различия в активности, проявляемые изоформами этих ферментов в отношении нативных белковых субстратов и получивших широкое распространение в лабораторно-диагностической практике синтетических хромогенных субстратов,

существенно снижает информационную значимость соответствующих методов, делая проведенную с их помощью оценку состояния систем свертывания крови и фибринолиза малодостоверной. Так, амидолитическая активность подвергшихся аутолитическому расщеплению β - и γ -форм тромбина в отношении низкомолекулярных субстратов мало отличается от активности α -тромбина, а в отношении к фибриногену их активность на два порядка ниже [24]. Ферментативно деградированные формы Пл по своему действию на низкомолекулярные субстраты даже превосходят нативный Пл, однако значительно уступают в отношении фибринолитического действия [21–23]. С другой стороны, различия ферментативных свойств нативной и деградированных форм П могут быть выявлены при комплексном применении субстратов разных видов, что создает новые методические подходы в диагностике обусловленных (или сопровождающихся) нарушением АИБ патологий [42]. По всей видимости, формирование подвергшихся ограниченному протеолизу частично деградированных производных составляет неотъемлемую часть процессинга многих функционально важных белков. Недооценка значения подобных производных едва ли допустима, поскольку учитывать их роль необходимо как для понимания соответствующих физиологических и патофизиологических процессов, так и для создания новых методических подходов к диагностике и терапии самого широкого спектра заболеваний [42, 61].

ЛИТЕРАТУРА

- Активация. В кн: Химия протеолиза / Под ред: *ВК Антонова* / Москва: Наука, 1991: 265–6.
- Протеиназы в образовании активных форм ферментов и гормонов В кн: Протеолиз в норме и при патологии / Под ред: *КН Веремеенко, ОП Голобородько, АИ Кизима* / Киев: Здоров'я, 1988: 6–16.
- Мосолю ВВ.** Природные ингибиторы протеолитических ферментов. Усп биол хим 1982; **22**: 100–18.
- Волков ГЛ, Платонова ТН, Савчук АН и др.** Современные представления о системе гемостаза. Киев: Наукова думка, 2005: 296 с.
- Протеиназы, их активаторы и ингибиторы в патогенезе и лечении некоторых заболеваний. В кн: Протеолиз в норме и при патологии / Под ред: *КН Веремеенко, ОП Голобородько, АИ Кизима* / Киев: Здоров'я, 1988: 128–35.
- Сыновец АС, Левицкий АП.** Ингибиторы протеолитических ферментов в медицине. Киев: Здоров'я, 1985: 72 с.
- Roche M, Pattabiraman TN.** Further studies on proteinases and alpha 2-macroglobulin activity in diabetic plasma. Indian J Biochem Biophys 1992; **29**: 189–91.
- Веремеенко КН, Заболотный ДИ, Кизим АИ.** Роль протеолиза в инвазии и метастазировании злокачественных опухолей. Журн АМН України 2002; **8**: 217–37.
- Ходосова ИА.** Ферменты опухолевых клеток. Ленинград: Наука, 1988. 176 с.
- McIntyre JO, Matrisian LM.** Molecular imaging of proteolytic activity in cancer. J Cell Biochem 2003; **90**: 1087–97.
- Berger D.** Plasmin/plasminogen system in colorectal cancer. World J Surg 2002; **26**: 767–71.
- Lijnen HR.** Patophysiology of the plasminogen/plasmin system. Int J Clin Lab Res 1996; **26**: 1–6.
- Robbins K, Summaria L, Shah R.** The peptide chains of human plasmin. Mechanism of activation of human plasminogen to plasmin. J Biol Chem 1967; **242**: 2333–42.
- Petersen TE, Martzen MR, Ichinose A, et al.** Characterization of the gene for human plasminogen, a key proenzyme in fibrinolytic system. J Biol Chem 1990; **265**: 6104–11.
- Magnusson S, Petersen T, Sottrup-Jensen L, et al.** Complete primary structure of prothrombin: isolation, structure and reactivity of ten carboxylated glutamic acid residues and regulation of prothrombin activation by thrombin. In: Cold Spring Harbor. NY, 1975: 123–49.
- Shotton P, Hartley B.** Amino-acid sequence of porcine pancreatic elastase and its homologs with other serine proteases. Nature 1970; **225**: 802–6.
- Wallen P, Wiman B.** Characterization of human plasminogen. II. Separation and partial characterization of different molecular forms of plasminogen. Biochim Biophys Acta 1972; **257**: 122–34.
- Claeus H, Sottrup-Jensen L, Zaidel M, et al.** Multiple gene duplication in the evolution of plasminogen. Five regions of sequence homology with the two internally homologous structures in prothrombin. FEBS Lett 1976; **61**: 20–4.
- Гриненко ТВ.** Регуляція фібринолізу некаталітичними ділянками плазміногену/плазміну. [Автореф дис... д-ра біол наук]. Київ, 2007. 42 с.
- Cesarman-Maus G, Hajjar K.** Molecular mechanisms of fibrinolysis. Br J Haematol 2005; **129**: 307–21.
- Андріанов СИ, Макогоненко ЕМ, Кудинов СА.** Роль кринглов К4 и К5 тяжелой цепи плазмина в разрушении структуры фибринового сгустка. Укр биохим журн 1992; **64**: 31–8.
- Андріанов СИ, Макогоненко ЕМ, Кудинов СА.** Особенности гидролиза полимерного фибрина плазмином, миниплазмином, микроплазмином и трипсином. Укр биохим журн 1992; **64**: 14–20.
- Золотарева ЭН, Гриненко ТВ, Скоморовская ЕВ и др.** Влияние аргинина на гидролиз фибриногена плазмином и миниплазмином. Укр биохим журн 1992; **64**: 3–9.
- Elion J, Boissel J-P, Le Bonniec B, et al.** Proteolytic derivatives of thrombin. Ann NY Acad Sci 1986; **485**: 16–26.
- Miles LA, Dahlberg CM, Plescia J, et al.** Role of cell-surface lysines in plasminogen binding to cells: identification of α -Enolase as a candidate plasminogen receptor. Biochemistry 1991; **30**: 1682–91.
- Wiman B, Collen D.** Molecular mechanism of physiological fibrinolysis. Nature 1978; **272**: 549–50.
- Wiman B, Collen D.** On the kinetic of reaction between human antiplasmin and plasmin. Eur J Biochem 1978; **84**: 573–8.
- Okamoto S, Oshiba S, Mihara H, Okamoto U.** Synthetic inhibitors of fibrinolysis: *in vitro* and *in vivo* mode of action. Ann NY Acad Sci 1968; **146**: 414–29.
- Violand B, Byrne R, Castellino F.** The effect of α, ω -amino acids on human plasminogen. J Biol Chem 1978; **253**: 5395–401.
- Wiman B.** Primary structure of the β -chain of human plasminogen. Eur J Biochem 1977; **76**: 129–37.
- Christensen U.** The AH-site of plasminogen and two C-terminal fragments. Biochem J 1984; **223**: 413–21.
- Higazi A, Aziza R, Samara A, Mayer M.** Regulation of fibrinolysis by non-esterified fatty acids. Biochem J 1994; **300**: 251–5.
- Holleman W, Anders W, Weiss L.** The relationship between the lysine and p-aminobenzamidine-binding sites of human plasminogen. Thromb Res 1975; **7**: 683–93.
- Андріанов СИ.** Изучение роли крингловых структур молекулы плазминогена в процессе протеолитического разрушения фибринового сгустка. [Автореф дисс ... канд биол наук]. Киев, 1992. 17 с.
- Вережка СВ.** Изучение лигандной специфичности лизил- и аргинилсвязывающих участков плазминогена человека. [Автореф дисс ... канд биол наук]. Киев, 1988. 19 с.
- Лежен ТИ.** Изучение взаимодействия плазминогена и его фрагментов с продуктами деградации фибриногена. [Автореф дисс ... канд биол наук]. Киев, 1987. 17 с.

37. **Мауца ЮВ.** Локализация и структурная характеристика лизинсвязывающих участков молекулы плазминогена. [Автореф дисс ... канд биол наук]. Киев, 1989. 17 с.
38. **Verevka SV, Kudinov SA, Grinenko TV.** Arginyl-binding Sites of Human Plasminogen. *Thromb Res* 1986; **41**: 689–98.
39. **Новохатний ВВ, Мауца ЮВ.** Плазминоген: структура и физико-химические свойства. Биохимия животных и человека 1989; **13**: 36–45.
40. **Lerch PG, Rickli EE.** Studies on the chemical nature of lysine-binding sites and on their localization in human plasminogen. *Biochem Biophys Acta* 1980; **10**: 3254–63.
41. **Sottrup-Jensen L, Claeyss H, Zajdel M, et al.** The primary structure of human plasminogen: isolation of two lysine-binding fragments and one «mini-plasminogen» (M.W. 38000) by elastase catalyzed specific limited proteolysis. In: *Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis*. Eds: *VF Davidson, RH Rowan, MM Samama, DC Desnoyers*. Raven Press, New-York, 1978, 3: 191–209.
42. **Клысь ЮГ, Зайцева НВ, Кизим АИ, Веревка СВ.** Протеолитические производные плазминогена и их возможное диагностическое значение при онкологических процессах. *Лаб діагност* 2008; **2** (44): 52–8.
43. **O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, et al.** Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by Lewis lung carcinoma. *Cell* 1994; **79**: 315–28.
44. **Doll JA, Soff A.** Angiostatin. *Cancer Treat Res* 2005; **126**: 175–204.
45. **Perri S, Martineau D, Francois M, et al.** Plasminogen kringle 5 blocks tumor progression by antiangiogenic and proinflammatory pathways. *Mol Cancer Ther* 2007; **6**: 441–9.
46. **Cao Y, Cao R, Veitonmaki N.** Kringle structures and antiangiogenesis. *Curr Med Chem Anti-Canc Agents* 2002; **2**: 667–81.
47. **MacDonald NJ, Murad AC, Fogler WE, et al.** The tumor-suppressing activity of angiostatin protein residues withing kringles 1 to 3. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; **264**: 469–77.
48. **Soff GA.** Angiostatin and angiostatin-related proteins. *Cancer Metastas Rev* 2000; **19**: 97–107.
49. **Marshall JM, Brown AJ, Ponting CP.** Conformational studies of human plasminogen and plasminogen fragments: evidence for a novel third conformation of plasminogen. *Biochemistry* 1994; **33**: 3599–606.
50. **Wiman B, Voman L, Collen D.** On the kinetics of the reaction between human antiplasmin and a low-molecular-weight form of plasmin. *Eur J Biochem* 1978; **87**: 143–6.
51. **Медведь ЛВ, Лукинова НИ, Литвинович СВ, Платонова ТН, Гусак НП.** Структурная организация «сверхактивной» фракции D-фрагмента молекулы фибриногена. *ДАН УССР, Сер Б* 1987; **5**: 70–4.
52. **Litvinovich S, Platonova T, Lukinova N, et al.** Preparation and characterization of the fibrinogen DD fragment with increased anticlotting activity. *Blood Coagulation and Fibrinolysis. An Int J Haemostasis Thrombosis* 1993; **4**: 832.
53. **Platonova T, Lukinova N.** Inhibitory effect of D and DD fragments on fibrin polymerization. *Укр біохім журн* 1996; **68**: 17.
54. **Чернишенко ТМ, Платонова ТМ, Сломінський ОЮ.** Активация проферментів системи зсідання крові за присутності високомолекулярного фрагмента Е фібріну. *Укр біохім журн* 2002; **74**: 62.
55. **Лежен ТИ, Кудинов СА.** Изучение влияния фрагментов Е и Д на плазминовый гидролиз фибринового сгустка. *Биохимия* 1986; **51**: 967–9.
56. **Walsh KA.** Trypsinogens and Trypsins of Various Species. *Meth Enzymol* 1970; **19**: 41–63.
57. **Maroux S, Desnuelle P.** On Some Autolyzed Derivatives of Bovine Trypsin. *Biochim Biophys Acta* 1969; **181**: 59–72.
58. **Schroeder D, Shaw E.** Chromatography of Trypsin and its Derivatives. *J Biol Chem* 1968; **243**: 2943–9.
59. **Smith RL, Shaw E.** Pseudotrypsin. *J Biol Chem* 1968; **244**: 4704–12.
60. **Miller D, Horbett T, Teller D.** Reevaluation of the activation of bovine chymotrypsin. *Biochemistry* 1971; **10**: 4641–8.
61. **Веревка СВ.** К вопросу о молекулярных механизмах системной энзимотерапии. *Укр біохім журн* 2002; **74** (3): 126–32.

PROTEOLYTIC DERIVATIVES OF PLASMINOGEN AS A FACTOR IN MALIGNANCY DEVELOPMENT

Y.G. Klyś, N.V. Zajtseva, A.I. Kizim, S.V. Verevka

Summary. *The structure of plasminogen (Plg) molecule, its specificity and sub-domain arrangement of its molecular interaction sites is described. The differences in the set of characteristics of an intact Plg as compared to its proteolytic derivatives suggest an important role of the latter. Their impact on the course of oncologic process is shown to be contradictory. On the one hand, cringle-containing fragments are efficient in blocking the sites of functionally meaningless Plg activation thus fostering the restoration of the offset activation-inhibition balance; on the other hand, cringle structures being deprived of the enzyme's proteolytic portion prevent α_2 -antiplasmin-mediated inhibition while hydrolytic and activation activities are preserved further aggravating the above mentioned imbalance.*

Key Words: proteases, plasminogen, activation-inhibition balance, angiostatin, tumor growth.

Адрес для переписки:

Веревка С.В.
03057, Киев, ул. Зоологическая, 3
ГУ «Институт отоларингологии
им. А.И. Колумийченко АМН Украины»
E-mail: verevka@biochem.kiev.ua