

**СПОСОБ ОЦЕНКИ СЕЛЕКТИВНОГО ИЗМЕНЕНИЯ
КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИИ АКТИВНОСТИ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ
ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ**

© М.А. Фомина¹, Ю.В. Абаленихина², А.М. Кудлаева¹, А.А. Терентьев²

Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова,
г. Рязань, Российская Федерация (1)

Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н.И. Пирогова, г. Москва, Российская Федерация (2)

Цель. Разработать количественный способ оценки селективного изменения компартментализации активности лизосомальных цистеиновых протеиназ.

Материалы и методы. Активность катепсинов В, L, Н определялась отдельно во внелизосомальной и лизосомальной фракции гомогенатов тканей крыс линии Wistar, спектрофлуориметрической регистрацией количества продукта расщепления специфических субстратов 7-амидо-4-метилкумарина. Активность кислой фосфатазы определяли с использованием коммерческого набора «Витал Диагностикс СПб» (Россия, СПб).

Результаты. Предложен способ оценки избирательного изменения компартментализации активности лизосомальных цистеиновых протеиназ, основанный на количественном сопоставлении долей внелизосомальной активности соответствующего катепсина и кислой фосфатазы. Результаты выражаются безразмерным коэффициентом селективной компартментализации активности ($K_{СКА}$), который может принимать 3 диапазона значений. Поскольку в условиях равномерного выхода из лизосом кислой фосфатазы и изучаемого катепси назначение отношения доли внелизосомальной активности приближено к 1, для оценки селективного изменения компартментализации активности катепсина целесообразно производить трактовку отклонения полученного значения от 1 в положительную или отрицательную сторону. Близкие к 1 значения $K_{СКА}$ предлагается в этом случае трактовать как повреждение (лабилизацию) лизосомальной мембраны, степень повреждения оценивается по степени нарастания долей внелизосомальной активности. Положительные значения $K_{СКА}$ свидетельствуют о пермеабиллизации лизосомальной мембраны с избирательным (селективным) выходом определенного катепсина во внелизосомальное пространство. Отрицательные значения $K_{СКА}$ на данном этапе представлений о лизосомальных цистеиновых протеиназах могут трактоваться как результат воздействия факторов, избирательно подавляющих активность изучаемого катепсина во внелизосомальной фракции.

Заключение. Сочетанная трактовка предложенного коэффициента селективной компартментализации активности ($K_{СКА}$) и показателя доли внелизосомальной активности для конкретной лизосомальной протеиназы дает возможность косвенно оценить избирательную проницаемость лизосомальной мембраны для индивидуального фермента, в том числе при воздействии различных агентов и/или факторов.

Ключевые слова: катепсины, селективная компартментализация, коэффициент.

METHOD OF EVALUATION OF SELECTIVE CHANGES IN COMPARTMENTALIZATION OF ACTIVITY OF LYSOSOMAL CYSTEINE PROTEINASES

© M.A. Fomina¹, Yu.V. Abalenihina¹, A.M. Kudlaeva¹, A.A. Terent'ev²

Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation (1)

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation (2)

Aim. To develop a quantitative method for evaluation of selective changes in compartmentalization of the activity of lysosomal cysteine proteinases.

Materials and methods. Activity of cathepsins B, L and H was defined separately in the cytoplasmic and lysosomal fractions of tissue homogenates of Wistar line rats by spectrofluorometrical registration of the amount of a cleavage product of a specific substrate of 7-amido-4-methylcoumarin. The activity of acid phosphatase was determined using the commercial kit «Vital Diagnostics SPb» (Russia, St. Petersburg).

Results. A method for evaluation of selective changes in compartmentalization of lysosomal cysteine proteases activity is proposed; that is based on a quantitative comparison of the shares of extra-lysosomal activity of the respective cathepsin and acid phosphatase.

Conclusion. A method for evaluation of a selective change in the compartmentalization of the activity of lysosomal cysteine proteinases is proposed based on the quantitative comparison of shares of extralysosomal activity of a respective cathepsin and of acid phosphatase. The results are presented as a non-dimensional coefficient of selective compartmentalization of the activity (K_{SCA}) which may take three ranges of values. Since in case of a uniform release of acid phosphatase and a studied cathepsin the ratio of the share of extralysosomal activity is close to 1, it is reasonable to interpret the deviation of the obtained values from 1 as positive or negative. It is proposed to interpret K_{SCA} approaching 1 as a damage to the lysosomal membrane (labilization), with evaluation of the extent of damage by the extent of rise of the shares of extralysosomal activity. Positive values of K_{SCA} indicate permeabilization of lysosomal membrane with a selective release of a certain cathepsin into the extralysosomal space. Negative values of K_{SCA} at the given stage of understanding of lysosomal cysteine proteinases can be interpreted as the result of impact of factors that selectively inhibit activity of a studied cathepsin in the extralysosomal fraction.

Keywords: *Cathepsins, selective compartmentalization, coefficient Cathepsins, a selective compartmentalization, coefficient.*

Прогрессивное расширение сведений о роли лизосомальных компонентов в различных физиологических и патологических процессах, в особенности связанных с апоптозом [1], привело к переоценке значения данных компартментов. Так, если до недавнего времени выход компонентов лизосом во внелизосомальное пространство практически однозначно трактовался как потенциально опасный для клетки признак повреждения (лабилизации)

мембран [2], все больше современных исследований посвящается феномену пермеабилзации (прижизненного изменения проницаемости) лизосомальных мембран, обеспечивающему внелизосомальные эффекты ферментов лизосом [3].

В целом, числовым выражением распределения любого лизосомального фермента между вне- и интрализосомальной фракцией может являться коэффициент лабильности лизосомальной мембра-

ны для данного фермента, рассчитываемый как отношение активности фермента во внелизосомальной фракции к общей активности [4].

Нарастание значений коэффициента лабильности для части маркерных ферментов лизосом, в частности, кислой фосфатазы, продолжает трактоваться как маркер лабильности лизосомальной мембраны.

Среди множества предлагаемых в настоящее время маркеров пермеабильности лизосомальных мембран особое внимание привлекает измерение активности лизосомальных цистеиновых протеиназ [5], малые размеры молекул которых [6] позволяют этим ферментам проникать даже через слабо дестабилизированные мембраны.

Таким образом, доля внелизосомальной активности и коэффициент лабильности лизосомальной мембраны для каждого из катепсинов может изменяться по двум причинам: изменение общей проницаемости лизосомальной мембраны (лабильность) и пермеабильность лизосомальной мембраны с изменением её проницаемости для индивидуального фермента. Возможно, именно это и является причиной ранее описанных нами рассогласований между значениями доли внелизосомальной активности лизосомальных цистеиновых протеиназ и кислой фосфатазы [7,8].

Вследствие этого возникает необходимость в новом числовом показателе, который, учитывая общее состояние лизосомальной мембраны, дает возможность оценить степень избирательного изменения её проницаемости для лизосомальных цистеиновых протеиназ.

Цель исследования

Разработка количественного способа оценки селективного изменения компартиментализации активности лизосомальных цистеиновых протеиназ с описанием вариантов трактовки получаемых результатов.

Материалы и методы

В работе использовались цитоплазматическая и лизосомальная фракция гомогенатов тканей конвенциональных половозрелых крыс-самцов линии Wistar. Содержание и выведение животных из

эксперимента осуществлялось в соответствии с протоколами, изложенными Международным Советом Медицинских Научных Обществ (CIOMS) в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985 г.) и правилами лабораторной практики – Приложение к приказу Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. №708н.

Гомогенизацию измельченных навесок тканей осуществляли в холодном 0,25 М растворе сахарозы в соотношении 1/10 в стеклянном стакане гомогенизатора «Potter S» (Sartorius, Германия) тefлоновым пестиком при зазоре в пределах 0,16–0,24 мм. Описанные процедуры проводили при температуре не выше 4°C.

Полученные гомогенаты центрифугировали 15 мин при 800 g (центрифуга CM-6M ELMi, Латвия) для осаждения не полностью разрушенных клеток и ядер. Надосадочную жидкость центрифугировали 15 мин при 14000 g для удаления митохондрий, а затем полученный супернатант – дополнительно при 20000 g в течение 30 мин (центрифуга рефрижераторная К 24 Д, ГДР). Полученный после центрифугирования при 20000 g супернатант представлял собой неседиментируемую (внелизосомальную) фракцию гомогената ткани и использовался в этом качестве для измерения изучаемых показателей. Осадок, содержащий грубую фракцию лизосом (седиментируемая фракция), дополнительно ресуспендировали в 0,25 М сахарозе с добавлением Тритона X-100 в конечной концентрации 0,1% и также использовали для исследований.

Активность лизосомальных цистеиновых протеиназ – катепсинов В, L и Н изучалась спектрофлуориметрическим методом по Barrett & Kirschke [9] с регистрацией продукта гидролиза специфических субстратов 7-амидо-4-метилкумари-на. В качестве субстратов использовались: $N\alpha$ -CBZ-Arg-Arg-7-amido-4-methylcoumarin («Sigma», США) для катепсина В; $N\alpha$ -CBZ-Phe-Arg-7-amido-4-methylcoumarin

(«Sigma», США) для катепсина L; Arg-7-amido-4-methylcoumarin («Sigma», США) для катепсина Н («Sigma», США). Активность каждого фермента определялась отдельно в неседиментируемой (внелизосомальной) и седиментируемой (лизосомальной) фракциях гомогената и обозначалась как неседиментируемая активность (НСА) и седиментируемая активность (СА) соответственно. Общая активность (ОА) каждой протеиназы рассчитывалась как сумма неседиментируемой и седиментируемой активности.

В качестве дополнительного маркера стабильности лизосомальной мембраны в седиментируемой и неседиментируемой фракциях гомогенатов определяли активность кислой фосфатазы (суммарную и тартрат-стабильную) с использованием коммерческого набора «Витал Диагностика СПб» (Россия, СПб), активность тартрат-чувствительной фракции определяли как разницу между суммарной и тартрат-стабильной активностью.

Доля внелизосомальной активности катепсина и кислой фосфатазы, традиционно обозначаемая как коэффициент лабильности ($K_{\text{лаб}}$), рассчитывалась как отношение неседиментируемой активности соответствующего фермента к его общей активности.

Результаты и их обсуждение

1. Обоснование. Предлагаемый способ оценки селективного изменения компартментализации активности лизосомальных цистеиновых протеиназ основан на сочетанном измерении долей неседиментируемой активности ($K_{\text{лаб}}$) индивидуального катепсина (Cath) и кислой фосфатазы (AP). Значение соотношения

$$\frac{K_{\text{лабAP}}}{K_{\text{лабCath}}}$$

в условиях равномерного выхода из лизосом кислой фосфатазы и изучаемого катепсина приближено к 1, поэтому для оценки селективного изменения компартментализации активности катепсина целесообразно производить трактовку отклонения полученного значения от 1 в положительную или отрицательную сторону.

2. Методика расчета предлагаемого показателя. Коэффициент селективного изменения компартментализации активности лизосомальных цистеиновых протеиназ ($K_{\text{СКА}}$) определяется формулой:

$$K_{\text{СКА}} = 1 - \frac{K_{\text{лабAP}}}{K_{\text{лабCath}}}$$

где: $K_{\text{лабCath}}$ – доля неседиментируемой активности индивидуального катепсина; $K_{\text{лабAP}}$ – доля неседиментируемой активности кислой фосфатазы; 1 – значение соотношения $\frac{K_{\text{лабAP}}}{K_{\text{лабCath}}}$ в условиях равномерного выхода из лизосом кислой фосфатазы и изучаемого катепсина, то есть при отсутствии селективного изменения компартментализации активности последнего.

3. Трактовка результатов применения предлагаемого показателя с примерами использования.

Возможны 3 диапазона значения $K_{\text{СКА}}$:

2.1. $K_{\text{СКА}} \approx 0$, если $\frac{K_{\text{лабAP}}}{K_{\text{лабCath}}} \sim 1$, т.е. $K_{\text{лабAP}} \approx K_{\text{лабCath}}$

Данное условие выполняется при

равномерном выходе во внелизосомальную фракцию конкретного катепсина и кислой фосфатазы. Ситуация может существовать в 2 вариантах:

а) выход ферментов во внелизосомальную фракцию обусловлен только частичным повреждением лизосомальных мембран в процессе приготовления гомогенатов тканей; в этом случае доля внелизосомальной активности кислой фосфатазы, как и доля внелизосомальной активности катепсина имеют низкие значения, например, для интактной печени крыс 5-7% [10] (см. пример табл. 1).

б) выход ферментов во внелизосомальную фракцию обусловлен глубоким повреждением лизосомальной мембраны. В этом случае доли внелизосомальной активности ферментов имеют высокие значения (см. пример табл. 2).

2.2. $K_{\text{СКА}} > 0$, если $\frac{K_{\text{лабAP}}}{K_{\text{лабCath}}} < 1$, т.е. $K_{\text{лабAP}} < K_{\text{лабCath}}$

Данное условие выполняется при пермеабиллизации лизосомальной мембраны, проявляющейся в селективном изме-

нении её проницаемости для индивидуального катепсина: $K_{\text{лабAP}}$ значительно ниже, чем $K_{\text{лабCath}}$, который возрастает за счет увеличения активности конкретного катепсина во внелизосомальной фракции (см. примеры табл. 3-4).

2.3. $K_{\text{СКА}} < 0$, если $\frac{K_{\text{лабAP}}}{K_{\text{лабCath}}} > 1$, т.е. $K_{\text{лабAP}} > K_{\text{лабCath}}$

Современный уровень знания о лизосомальных цистеиновых протеиназах позволяет предположить, что данное условие выполняется при воздействии факторов, избирательно снижающих активность изучаемого катепсина во внелизосомальной фракции. В этих случаях степень селективного изменения проницаемости лизосомальной мембраны оценить при помощи предлагаемого коэффициента невозможно, признаком повреждения

мембраны является нарастание $K_{\text{лабAP}}$ (см. пример табл. 5). Однако не исключено, что дальнейшие углубленные исследования таких ситуаций обнаружат причины, действительно затрудняющие выход конкретного катепсина из лизосом при наличии частичного их мембран.

Заключение

Таким образом, сочетанная трактовка предложенного коэффициента селективной компартментализации активности ($K_{\text{СКА}}$) и показателя доли внелизосомальной активности для конкретной лизосомальной протеиназы дает возможность косвенно оценить избирательную проницаемость лизосомальной мембраны для индивидуального фермента, в том числе при воздействии различных агентов и/или факторов.

Таблица 1

Расчет и трактовка показателя $K_{\text{СКА}}$ на примере ткани тимуса (введение L-аргинина 500 мг/кг 10 суток перорально)

Показатель	Значение	Анализ полученных результатов
$\text{HCA}_{\text{CathB}}$	0,65 нкат/г белка	Доли внелизосомальной активности кислой фосфатазы и катепсина В тимуса приблизительно равны: $K_{\text{лабAP}} \sim K_{\text{лабCath}}$ (0,13 ~ 0,14), поэтому $K_{\text{лабAP}} / K_{\text{лабCath}} \sim 1$ (0,92 ~ 1) $K_{\text{СКА}} \sim 0$ (0,08 ~ 0) ВЫВОД: Выход катепсина В во внелизосомальную фракцию обусловлен только частичным повреждением лизосомальных мембран в процессе приготовления гомогената ткани тимуса, о чем свидетельствует $K_{\text{СКА}} \sim 0$, а так же низкие значения долей внелизосомальной активности.
CA_{CathB}	4,15 нкат/г белка	
OA_{CathB}	4,8 нкат/г белка	
$K_{\text{лабCathB}}$	0,65/4,8 = 0,14	
HCA_{AP}	20,88 нкат/г белка	
CA_{AP}	138,68 нкат/г белка	
OA_{AP}	159,56 нкат/г белка	
$K_{\text{лабAP}}$	20,88/159,56 = 0,13	
$K_{\text{СКА}}$	$K_{\text{лабAP}} / K_{\text{лабCath}} = 0,13/0,14 = 0,92$ $K_{\text{СКА}} = 1 - 0,92 = 0,08$	

Таблица 2

Расчет и трактовка показателя $K_{\text{СКА}}$ на примере инкубации суспензии лизосом печени в 0,25 М сахарозе с добавлением перекиси водорода в конечной концентрации 5 мМ (240 мин, $t=37^{\circ}\text{C}$)

Показатель	Значение	Анализ полученных результатов
$\text{HCA}_{\text{CathB}}$	0,38 нкат/г белка	Доли внелизосомальной активности кислой фосфатазы и катепсина В приблизительно равны: $K_{\text{лабAP}} \sim K_{\text{лабCath}}$ (0,26 ~ 0,29), поэтому $K_{\text{лабAP}} / K_{\text{лабCath}} \sim 1$ (0,90 ~ 1) $K_{\text{СКА}} \sim 0$ (0,10 ~ 0) ВЫВОД: Выход катепсина В во внелизосомальную фракцию обусловлен глубоким повреждением лизосомальной мембраны, о чем свидетельствует $K_{\text{СКА}} \sim 0$ и высокие значения долей внелизосомальной активности ферментов.
CA_{CathB}	0,93 нкат/г белка	
OA_{CathB}	1,31 нкат/г белка	
$K_{\text{лабCathB}}$	0,38/1,31 = 0,29	
HCA_{AP}	92,74 нкат/г белка	
CA_{AP}	258,25 нкат/г белка	
OA_{AP}	350,99 нкат/г белка	
$K_{\text{лабAP}}$	92,74/350,99 = 0,26	
$K_{\text{СКА}}$	$K_{\text{лабAP}} / K_{\text{лабCath}} = 0,26/0,29 = 0,90$ $K_{\text{СКА}} = 1 - 0,90 = 0,10$	

Таблица 3

**Расчет и трактовка показателя $K_{СКА}$ на примере ткани селезенки
(L -name 25 мг/кг, 7 суток внутривенно)**

Показатель	Значение	Анализ полученных результатов
$HCA_{Cath\ H}$	4,47 нкат/г белка	$K_{лаб\ AP} < K_{лаб\ Cath}$ (0,18 < 0,36) $K_{лаб\ AP} / K_{лаб\ Cath} < 1$ (0,50 < 1) $K_{СКА} > 0$ (0,50 > 0) ВЫВОД: Выход катепсина Н во внелизосомальную фракцию является селективным и обусловлен пермеабиллизацией лизосомальной мембраны, о чем свидетельствует $K_{СКА} > 0$, как числовое выражение большей степени повышения значения доли внелизосомальной активности катепсина Н относительно доли внелизосомальной активности кислой фосфатазы.
$CA_{Cath\ H}$	7,99 нкат/г белка	
$OA_{Cath\ H}$	12,46 нкат/г белка	
$K_{лаб\ Cath\ H}$	4,47/12,46 = 0,36	
HCA_{AP}	31,88 нкат/г белка	
CA_{AP}	175,65 нкат/г белка	
OA_{AP}	207,53 нкат/г белка	
$K_{лаб\ AP}$	31,88/207,53 = 0,18	
$K_{СКА}$	$K_{лаб\ AP} / K_{лаб\ Cath} = 0,18/0,36 = 0,50$ $K_{СКА} = 1 - 0,50 = 0,50$	

Таблица 4

**Расчет и трактовка показателя $K_{СКА}$ на примере инкубации суспензии
лизосом печени в 0,25 м сахарозе с добавлением перекиси водорода
в конечной концентрации 5 мМ (120 мин, $t=37^{\circ}C$)**

Показатель	Значение	Анализ полученных результатов
$HCA_{Cath\ L}$	1,98 нкат/г белка	$K_{лаб\ AP} < K_{лаб\ Cath}$ (0,17 < 0,56) $K_{лаб\ AP} / K_{лаб\ Cath} < 1$ (0,30 < 1) $K_{СКА} > 0$ (0,70 > 0) ВЫВОД: Выход катепсина L во внелизосомальную фракцию является селективным и обусловлен пермеабиллизацией лизосомальной мембраны, о чем свидетельствует $K_{СКА} > 0$, как числовое выражение большей степени повышения значения доли внелизосомальной активности катепсина L относительно доли внелизосомальной активности кислой фосфатазы.
$CA_{Cath\ L}$	1,54 нкат/г белка	
$OA_{Cath\ L}$	3,52 нкат/г белка	
$K_{лаб\ Cath\ L}$	1,98/3,52 = 0,56	
HCA_{AP}	33,24 нкат/г белка	
CA_{AP}	163,79 нкат/г белка	
OA_{AP}	197,03 нкат/г белка	
$K_{лаб\ AP}$	33,24/197,03 = 0,17	
$K_{СКА}$	$K_{лаб\ AP} / K_{лаб\ Cath} = 0,17/0,56 = 0,30$ $K_{СКА} = 1 - 0,30 = 0,70$	

Таблица 5

**Расчет и трактовка показателя $K_{СКА}$ на примере инкубации суспензии лизосом печени
в 0,25 м сахарозе с добавлением раствора сангвинарина в конечной концентрации
5,4 мкМ (120 мин, $t=37^{\circ}C$)**

Показатель	Значение	Анализ полученных результатов
$HCA_{Cath\ L}$	0,31 нкат/г белка	$K_{лаб\ AP} > K_{лаб\ Cath}$ (0,42 > 0,15) $K_{лаб\ AP} / K_{лаб\ Cath} > 1$ (2,67 > 1) $K_{СКА} < 0$ (-1,67 < 0) ВЫВОД: возможной причиной выявленных изменений является избирательное подавление активности катепсина L во внелизосомальной фракции. Степень селективного изменения проницаемости лизосомальной мембраны для катепсина L оценить при помощи предлагаемого коэффициента невозможно, высокое значение $K_{лаб\ AP}$ является признаком повреждения лизосомальной мембраны.
$CA_{Cath\ L}$	1,75 нкат/г белка	
$OA_{Cath\ L}$	2,06 нкат/г белка	
$K_{лаб\ Cath\ L}$	0,31/2,06 = 0,15	
HCA_{AP}	126,57 нкат/г белка	
CA_{AP}	173,88 нкат/г белка	
OA_{AP}	300,45 нкат/г белка	
$K_{лаб\ AP}$	126,57/300,45 = 0,42	
$K_{СКА}$	$K_{лаб\ AP} / K_{лаб\ Cath} = 0,42/0,15 = 2,67$ $K_{СКА} = 1 - 2,67 = -1,67$	

Дополнительная информация**Конфликт интересов:** отсутствует.

Исследование выполнено в соответствии с планом научной работы ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования, написа-

ние текста – Ф.М.А.

Получение и обработка экспериментальных данных, участие в написании текста – А.Ю.В.

Получение экспериментальных данных – К.А.М.

Научное консультирование, редактирование материала – Т.А.А.

Литература

1. Repnik U., Stoka V., Turk V., et al. Lysosomes and lysosomal cathepsins in cell death // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012. Vol. 1824. P. 22-33.
2. Terman A., Kurz T., Gustafsson B., et al. Lysosomal Labilization // *IUBMB Life*. 2006. Vol. 58, №9. P. 531-539.
3. Пупышев А.Б. Пермеабилзация лизосомальных мембран как апоптогенный фактор // *Цитология*. 2011. Т. 53, №4. С. 313-324.
4. Покровский А.А., Тутельян В.А. Лизосомы. М.: Издательство Наука, 1976.
5. Repnik U., Česen M.H., Turk B. Measuring Cysteine Cathepsin Activity to Detect Lysosomal Membrane Permeabilization // *Cold Spring Harb Protoc*. 2016. (5). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27140915>
6. Turk V., Stoka V., Vasiljeva O., et al. Cysteine cathepsins: From structure, function and regulation to new frontiers // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012. Vol. 1824. P. 68-88.
7. Абаленихина Ю.В. Окислительная модификация белков и лизосомальный цистеиновый протеолиз иммунокомпетентных органов крыс в условиях модулирования синтеза оксида азота: дис. ... канд. биол. наук. Рязань, 2014.
8. Фомина М.А., Кудлаева А.М., Рябков А.Н. Влияние L-карнитина in vitro на активность лизосомальных цистеиновых протеиназ и состояние лизосомальной мембраны // *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2017. №1. С. 14-20.
9. Barrett AJ, Kirschke H. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L. // *Methods in Enzymol*. 1981. Vol. 80. P. 535-561.
10. Панин Л.Е., Маянская Н.Н. Лизосомы: роль в адаптации и восстановлении. Новосибирск: Издательство Наука СО, 1987.

References

1. Repnik U, Stoka V, Turk V, et al. Lysosomes and lysosomal cathepsins in cell death. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012; 1824:22-33. doi:10.1016/j.bbapap.2011.08.016
2. Terman A, Kurz T, Gustafsson B, et al. Lysosomal Labilization. *IUBMB Life*. 2006; 58(9):531-9. doi: 10.1080/15216540600904885
3. Pupyshev AB. Permeabilizatsiya lizosomal'nykh membrane kak apoptogennyy faktor. *Citologiya*. 2011;53(4):313-24. (In Russ).
4. Pokrovskij AA, Tutel'yan VA. *Lizosomy*. Moscow: Izdatel'stvo Nauka; 1976. (In Russ).
5. Repnik U, Česen MH, Turk B Measuring Cysteine Cathepsin Activity to Detect Lysosomal Membrane Permeabilization. *Cold Spring Harb Protoc*. 2016;(5). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27140915> doi: 10.1101/pdb.prot087114.
6. Turk V, Stoka V, Vasiljeva O, et al. Cysteine cathepsins: From structure, function and regulation to new frontiers. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012;1824:68-88. doi:10.1016/j.bbapap.2011.10.002.
7. AbalenihiinaYuV. *Okislitel'naya modifikaciya belkov i lizosomal'nyj cisteinovyj proteoliz immunokompetentnyh organov krys v usloviyah modulirovaniya sinteza oksida azota* [dissertation]. Ryazan'; 2014. (In Russ).
8. Fomina MA, Kudlaeva AM, Ryabkov AN. Vliyanie L-karnitina in vitro na aktivnost' *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2017;1:14-20.
9. Barrett AJ, Kirschke H. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L. *Methods in Enzymol*. 1981;80:535-61.
10. Panin LE, Mayanskaya NN. *Lizosomy: rol v adaptatsii i vosstanovlenii*. Novosibirsk: Izdatel'stvo Nauka SO; 1987. (In Russ).

Информация об авторах [Authors Info]

Фомина Мария Алексеевна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань, Российская Федерация (автор, ответственный за переписку); e-mail: marya.fom@yandex.ru

Maria A. Fomina – PhD, associate professor, associate professor of the Department of Biological Chemistry with course of clinico-laboratory diagnostics of the Faculty of Additional Professional Education of RyazSMU, Ryazan, Russian Federation; e-mail: marya.fom@yandex.ru
SPIN: 1480-4281; ORCID ID: 0000-0001-5550-0625

Абаленихина Юлия Владимировна – кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань, Российская Федерация.

Yulia V. Abalenikhina – PhD, Senior Teacher of the Department of Biological Chemistry with course of clinico-laboratory diagnostics of the Faculty of Additional Professional Education of RyazSMU, Ryazan, Russian Federation.
SPIN: 4496-9027; ORCID ID: 0000-0003-0427-0967

Кудлаева Анна Михайловна – ассистент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Российская Федерация.

Anna M. Kudlaeva – Assistant of the Department of Biological Chemistry with course of clinico-laboratory diagnostics of the Faculty of Additional Professional Education of RyazSMU, Ryazan, Russian Federation.
SPIN: 3416-3961; ORCID ID: 0000-0002-4004-9058

Терентьев Александр Александрович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии лечебного факультета ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Российская Федерация.

Aleksandr A. Terent'ev – PhD, DSc, Professor, a corresponding member of the RAS, Professor of the Department of Biochemistry and Molecular Biology of General Medicine Faculty of Pirogov Russian National Research Medical Academy of Health Ministry of Russia, Moscow, Russian Federation.
SPIN: 1141-6524; ORCID ID: 0000-0003-2453-8377

Цитировать: Фомина М.А., Абаленихина Ю.В., Кудлаева А.М., Терентьев А.А. Способ оценки селективного изменения компартментализации активности лизосомальных цистеиновых протеиназ // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2018. Т. 6, №2. С. 277-284.

To cite this article: Fomina MA, Abalenihina YuV, Kudlaeva AM, Terent'ev AA. Method of evaluation of selective changes in compartmentalization of activity of lysosomal cysteine proteinases. *Science of the young (Eruditio Juvenium)*. 2018;6(2):277-84.

Поступила / Received: 20.05.2018
Принята в печать / Accepted: 01.06.2018