

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2017
УДК 577.164.18:577.152
DOI:10.23888/PAVLOVJ2017114-20

**ВЛИЯНИЕ L-КАРНИТИНА *IN VITRO* НА АКТИВНОСТЬ
ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ
И СОСТОЯНИЕ ЛИЗОСОМАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ**

М.А. Фомина, А.М. Кудлаева, А.Н. Рябков

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
ул. Высоковольтная, 9, 390026, г. Рязань, Российская Федерация

Изучено влияние L-карнитина *in vitro* на показатели активности лизосомальных цистеиновых протеиназ и стабильность мембраны лизосом гомогенатов печени половозрелых интактных крыс-самок линии Wistar массой 280-330 г. В опытных группах выделенные лизосомы инкубировали *in vitro* в растворе L-карнитина в течение 1-го, 2-х и 4-х часов, в контрольных группах *in vitro*-инкубацию проводили в среде выделения. Активность катепсинов В, L и Н изучалась спектрофлуориметрическим методом по Barrett & Kirschke в двух фракциях – лизосомальной и внелизосомальной. В качестве основного маркера лабильности мембран использовали активность кислой фосфатазы. При *in vitro*-инкубации лизосом было обнаружено, что L-карнитин в концентрации 5 мМ увеличивает общую активность катепсина В при одночасовой инкубации на 73,2% ($p=0,008$), катепсина L при двух- и четырехчасовой инкубации – на 77,7% ($p=0,005$) и 42,3% ($p=0,013$) соответственно, а также снижает общую активность катепсина Н при одночасовой инкубации на 200,0% ($p=0,008$), при двухчасовой – на 67,9% ($p=0,05$), при четырехчасовой – на 27,1% ($p=0,02$). Кроме того, инкубация в 5 мМ растворе L-карнитина приводит к росту неседиментируемой активности и падению седиментируемой активности для катепсина L при двухчасовом, а для кислой фосфатазы – при двух- и четырехчасовом воздействии. Также 5 мМ L-карнитин при одно- и двухчасовой инкубации стабилизирует лизосомальную мембрану, тогда как увеличение времени инкубации до 4-х часов приводит к её повреждению, и повышает избирательную проницаемость лизосомальной мембраны для исследуемых катепсинов, в наибольшей степени – для катепсина Н.

Ключевые слова: В, L, Н катепсины, L-карнитин, стабильность лизосомальной мембраны.

***IN VITRO* EFFECT OF L-CARNITINE ON THE ACTIVITY
OF LYSOSOMAL CYSTEINE PROTEASES
AND THE STATE OF LYSOSOMAL MEMBRANE**

M.A. Fomina, A.M. Kudlaeva, A.N. Ryabkov

Ryazan State Medical University,
Vysokovoltnaya str., 9, 390026, Ryazan, Russian Federation

The influence of L-carnitine *in vitro* on the lysosomal cysteine proteinase activity and stability of the lysosomal membrane of the liver homogenates of intact sexually Mature female rats of Wistar line weighing 280-330 g were studied. In the experimental groups isolated lysosomes

were incubated *in vitro* in a solution of L-carnitine during 1, 2 and 4 hours, in the control groups *in vitro* incubation was carried out in a medium of isolating solution. The activity of cathepsins B, L and H was investigated by spectrofluorimetric method of Barrett & Kirschke in two fractions – lysosomal and outside of lysosomes. The activity of acid phosphatase was used as the main marker of a membrane labilization. *In vitro* incubation of lysosomes showed that carnitine at a concentration of 5 mM increases the total activity of cathepsin B in a one-hour incubation at 73,2% ($p=0,008$), cathepsin L in a two- and four-hour incubation – at 77,7% ($p=0,005$) and 42,3% ($p=0,013$) respectively, and reduces the overall activity of the cathepsin H in a one-hour incubation at 200,0% ($p=0,008$), in a two-hour – by 67,9% ($p=0,05$), in a four-hour – 27,1% ($p=0,02$). In addition, incubation in 5 mM L-carnitine solution leads to an increase of un-sedimentable activity and fall sedimentaries activity for cathepsin L in a two-hour, and for acid phosphatase – in a two – and four-hour exposure. 5 mM L-carnitine in one – and two-hour incubation stabilizes lysosomal membrane (whereas increase in incubation time up to 4 hours leads to its damage) and increases the selective permeability of the lysosomal membrane for the studied cathepsins, to the greatest extent – for cathepsin H.

Keywords: B, L, H cathepsins, L- carnitine, lysosomal membrane stability.

Лизосомальные цистеиновые протеиназы (ЛЦП) относятся к семейству папаиноподобных протеолитических ферментов, характеризуются уникальной направленностью действия и неравномерной выработкой различными тканями. В живых организмах активность тиоловых катепсинов представляет собой тонкий баланс между их экспрессией, направленностью действия, активацией проферментов, подавлением их выработки ингибиторами и дальнейшим распадом. Локализуются ЛЦП преимущественно в лизосомах и поздних эндосомах клетки, однако, могут локализоваться в ядре, цитоплазме и плазматической мембране. Тиоловые катепсины являются важными регуляторами и сигнальными молекулами в неограниченном числе биологических процессов, таких как иммунный ответ, ремоделирование костной ткани, активация предшественников многих белков, дифференцирование кератиноцитов и др. Известна роль катепсинов в развитии мышечной дистрофии, ревматоидного артрита, болезни Альцгеймера, атеросклероза [1-3]. ЛЦП принимают участие в процессах, связанных с раковой прогрессией, таких как апоптоз, метастазирование, опухолевый рост, инвазия и ангиогенез. В тканях многих опухолей показано увеличение активности и содержания цистеиновых протеиназ. Так, в клеточных культурах опухоли простаты наблюдается высокий уровень катепсинов

B, L, H и увеличение отношения катепсины/ингибиторы по сравнению с культурой нормальных клеток [4]. Активно изучается участие ЛЦП в процессах опосредуемой клеточной гибели. Так, была обнаружена ранняя утечка катепсинов B, D и L в цитозоль, где они активируют каспазы 3 и 9, запуская апоптоз. Также имеются данные о каспазозависимом пути клеточной гибели, сигналом которого служит пермеабилзация лизосомальной мембраны (ПЛМ). Наряду с достижением избирательной проницаемости лизосомальной мембраны одним из факторов выхода катепсинов в цитозоль является лабилизация мембраны [5].

В связи с этим важен поиск соединений, способных стабилизировать лизосомальную мембрану. Особый интерес представляет L-карнитин, способный в концентрации 5 mM повышать стабильность лизосомальной мембраны гепатоцитов крысы при часовой *in vitro*-инкубации [6]. На клетках Jurkat было показано, что 5 mM L-карнитин оказывает защитное действие при апоптозе, что обусловлено ингибированием синтеза церамидов и активности каспаз 3, 7 и 8 [7]. Однако, в ходе исследований, проведенных на клетках карциномы человека, было обнаружено апоптогенное действие 10 mM карнитина в сочетании с бутиратом [8]. Также было показано, что на фоне гипергомоцистеинемии L-карнитин приводит к снижению активности катепсинов L и H и

оказывает стабилизирующее влияние на лизосомальные мембраны клеток сердечной мышцы [9]. Таким образом, актуальным является изучение влияния L-карнитина на лизосомальный цистеиновый протеолиз и состояние лизосомальной мембраны.

Целью данного исследования стало изучение прямого влияния L-карнитина на лизосомальный цистеиновый протеолиз *in vitro*.

Материалы и методы

Выделение лизосом. За 12 часов до забоя половозрелых интактных крыс-самок линии Wistar массой 280-330 г лишали пищи для стандартизации условий опытов. Эвтаназия животных осуществлялась методом обескровливания под эфирным рауш-наркозом при сохраненном дыхании и сердцебиении. Печень извлекали немедленно после обескровливания, помещая орган в охлажденный 0,25 М раствор сахарозы (среда выделения). Далее печень промывали от остатков крови средой выделения, после чего готовили точные навески участков печени в пределах 740-760 мг на электронных весах (АН-220 СЕ, Япония). Полученный материал измельчали ножницами и помещали в стеклянный стакан гомогенизатора «Potter S» (Sartorius, Германия), добавляя холодный 0,25 М раствор сахарозы в соотношении 1:9 и гомогенизировали в течение 35 с тefлоновым пестиком 900 об./мин и зазоре в пределах 0,16-0,24 мм. Описанные процедуры проводили при температуре не выше 4°C. Полученные гомогенаты центрифугировали 15 мин при 3000 об./мин (центрифуга СМ-6М ЕLMI, Латвия) для осаждения не полностью разрушенных клеток и ядер. Надосадочную жидкость отбирали пипеткой в отдельные гильзы и центрифугировали 15 мин при 13000 об./мин для удаления митохондрий, а затем полученный супернатант – дополнительно при 15500 об./мин в течение 30 мин (центрифуга рефрижераторная К 24 Д, ГДР). Осадок, представляющий собой грубую фракцию лизосом, ресуспендировали в 2 мл 0,25 М сахарозы и использовали для *in vitro* исследования.

Инкубация. Полученные суспензии лизосом печени в 0,25 М сахарозе разделили на две серии по 6 проб в каждой: серию

1 (серия сравнения, 2 мл 0,25 М сахарозы) и серию 2 (1,9 мл 0,25 М сахарозы с добавлением раствора 0,1 мл карнитина с конечной концентрацией 5 мМ). Каждая серия воспроизводилась трижды; инкубация осуществлялась при температуре 37°C на водяной бане в течение 1-го, 2-х и 4-х часов. После инкубации лизосомы повторно осаждали центрифугированием при 15500 об./мин в течение 30 мин. Затем отбирали надосадочную жидкость (неседиментируемая фракция, НСФ), а осадок (седиментируемая фракция, СФ) ресуспендировали в 0,25 М сахарозе с добавлением Тритона X-100 в конечной концентрации 0,1%. Полученные аликвоты замораживали и хранили до момента исследования при температуре -20°C не более 1 месяца.

Определение активности лизосомальных цистеиновых протеиназ. Активность катепсинов В, L и Н изучалась спектрофлуориметрическим методом (System 3 Scanning Spectrofluorometr, Optical technology devices, inc. Elmstord, New York, 10523) по Barrett & Kirschke [10]. Удельную активность катепсинов выражали в нкат/г белка. Содержание белка определяли по методу Лоури коммерческим набором Научно-практического центра «Эко-сервис» (Санкт-Петербург, Россия). Описанное измерение активности ферментов осуществлялось отдельно для СФ и НСФ и обозначалось для каждого катепсина как седиментируемая активность (СА) и неседиментируемая активность (НСА) соответственно.

Оценка стабильности лизосомальной мембраны. Для оценки стабильности лизосомальной мембраны традиционно используется коэффициент лабильности (Клаб), рассчитываемый как соотношение активности лизосомального фермента во внелизосомальной (неседиментируемой) фракции к общей активности (ОА), представляющей собой сумму НСА и СА для данного фермента [11]. Поскольку для лизосомальных цистеиновых протеиназ описан механизм секреции [12], в качестве основного маркера лабильности мембран использовали активность кислой фосфатазы [13]. Активность фермента измеряли унифицированным методом по «конечной точке», исполь-

зую коммерческий набор «Витал Диагностикс СПб» (Санкт-Петербург, Россия).

Для каждой выборки определяли значение медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей. Результаты представлены в формате Me [Q₁; Q₃]. Для проверки статистической значимости отличий в контрольной и опытной группе использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Обнаружено, что прямое воздействие карнитина в конечной концентрации 5 ммоль/л приводит к отчетливым изменениям как активности ЛЦП, так и стабильности лизосомальной мембраны. Оценка стабильности лизосомальной мембраны по показателю Клаб кислой фосфатазы продемонстрировала, что одно- и двухчасовая инкубация в среде, содержащей 5 мМ L-карнитин, приводит к падению Клаб на 59,6% ($p=0,022$) и 33,4% ($p=0,005$) соответственно относительно серий сравнения, что свидетельствует о стабилизации мембраны. Данный вывод совпадает с результатами других авторов [6, 9]. При этом, увеличение времени инкубации до 4-х часов привело к возрастанию Клаб кислой фосфатазы на 33,2% ($p=0,005$), что можно трактовать как повреждение лизосомальной мембраны (табл. 1).

При исследовании воздействия карнитина на активность ЛЦП *in vitro* обнаружен рост ОА на 73,2% ($p=0,008$) катепсина В за счет роста активности в НСФ на 76,8% ($p=0,008$) в течение одного часа инкубации (табл. 2). Аналогичные изменения наблюдались в ОА катепсина L при двух- и четырехчасовой инкубации: на 77,7% ($p=0,005$) и 42,3% ($p=0,013$) соответственно. Можно предположить, что L-карнитин способствует активации катепсинов из их предшественников или высвобождению их из комплекса с ингибиторами. В литературе имеются сведения о проапоптогенном действии карнитина [8]. Одним из возможных механизмов развития данного явления может оказаться способность карнитина повышать активность катепсинов В и L, для которых описано участие в запуске опосредованной клеточной гибели [5]. При этом, при одно- и двухчасовой инкубации исследуемые

ферменты переходят во внелизосомальную фракцию не за счет повреждения мембраны, а видимо, за счет повышения её избирательной проницаемости.

В отношении катепсина Н наблюдалась другая картина: прямое воздействие 5 мМ карнитина приводило к снижению ОА: при одночасовой инкубации на 200,0% ($p=0,008$) за счет падения активности фермента в СФ на 87,0% ($p=0,008$), при двухчасовой инкубации – на 67,9% ($p=0,05$) за счет падения активности фермента в СФ на 79,0% ($p=0,005$) и при четырехчасовой инкубации – на 27,1% ($p=0,02$) за счет падения активности фермента в СФ на 95,1% ($p=0,005$) относительно соответствующих серий сравнения. Аналогичные изменения в отношении катепсина Н карнитин вызывал у крыс в *in vivo* эксперименте [9]. Также наблюдалось повышение избирательной проницаемости мембраны для данного фермента при одно- и двухчасовой инкубации.

Статистически значимое нарастание значения Клаб для всех изучаемых катепсинов при четырехчасовой инкубации может объясняться повреждением лизосомальной мембраны.

При исследовании влияния карнитина на изучаемые показатели в зависимости от продолжительности воздействия обнаружено, что основные изменения касаются распределения ферментов между вне- и внутрилизосомальной фракциями. Так, после 2-х часов инкубации в среде, содержащей 5 мМ L-карнитин, наблюдалось статистически значимое увеличение НСА катепсина L на 43,2% ($p=0,02$) и снижение СА на 71,1% ($p=0,02$) относительно 1-го часа инкубации (рис. 1), однако удлинение времени воздействия до 4-х часов не приводило к усугублению описываемых эффектов. Для кислой фосфатазы по мере увеличения времени инкубации (1, 2 и 4 часа) наблюдался рост НСА фермента и падение СА (рис. 2). Также с течением времени наблюдалось увеличение Клаб по кислой фосфатазе (табл. 1). В отношении катепсинов В и Н статистически значимых изменений активности и распределения во временном аспекте выявлено не было.

Таблица 1

Влияние 5 мМ L-карнитина на значение показателя Клаб, %

Фермент	Продолжительность инкубации					
	1 час		2 часа		4 часа	
	Сахароза	Карнитин	Сахароза	Карнитин	Сахароза	Карнитин
Катепсин В	37,26 [0; 75,64]	74,87 [70,76; 78,00]	64,09 [13,74; 78,81]	84,12 [76,18; 91,42]	10,83 [6,69; 13,25]	62,45* [45,19; 91,46]
Катепсин L	33,34 [32,98; 39,09]	37,13 [30,88; 40,20]	42,85 [14,65; 82,17]	79,38° [75,36; 83,19]	16,85 [11,6; 20,56]	55,43* [53,34; 62,10]
Катепсин Н	37,35 [22,20; 37,38]	86,24* [79,46; 97,45]	59,07 [55,16; 62,58]	68,44* [65,76; 70,42]	50,56 [38,27; 54,43]	94,75* [×] [92,45; 96,97]
Кислая фосфатаза	23,54 [16,23; 27,02]	9,52* [7,18; 12,03]	27,12 [26,35; 28,80]	18,06* [°] [16,95; 19,26]	27,62 [24,13; 30,22]	41,35* [°] [38,64; 42,71]

Примечание: * – статистически значимые ($p \leq 0,05$) отличия от групп контроля с соответствующей продолжительностью инкубации,

° – статистически значимые ($p \leq 0,05$) отличия от 1 часа инкубации,

× – статистически значимые ($p \leq 0,05$) отличия от 2-х часов инкубации.

Выводы

1. Карнитин в концентрации 5 мМ вызывает статистически значимый рост общей активности катепсинов В и L и снижение общей активности катепсина Н при *in vitro*-инкубации лизосом печени крыс.

2. Инкубация в 5 мМ растворе L-карнитина приводит к росту неседиментируемой активности и падению седиментируемой активности для катепсина L при

двухчасовом, а для кислой фосфатазы – при двух- и четырехчасовом воздействии.

3. При одно- и двухчасовой инкубации L-карнитин в концентрации 5 мМ стабилизирует лизосомальную мембрану, однако увеличение времени инкубации до 4-х часов приводит к её повреждению.

4. 5 мМ L-карнитин повышает избирательную проницаемость лизосомальной мембраны для исследуемых катепсинов, в наибольшей степени – для катепсина Н.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. Turk V., Stoka V., Vasiljeva O., Renko M., Sun T., Turk B. et al. Cysteinecathepsins: from structure, function and regulation to new frontiers // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012. Vol. 1824, №1. P. 68-88. doi: 10.1016/j.bbapap.2011.10.002.

2. Абаленихина Ю.В., Фомина М.А., Исаков С.А. Окислительная модификация белков и изменение активности катепсина L селезенки крыс в условиях моделирования дефицита синтеза оксида азота // *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. 2013. Т. 21, №1. С. 45-49.

3. Арапова А.И., Фомина М.А. Аутокаталитические эффекты лизосомальных цистеиновых протеиназ гладкой мышцы аорты крыс // *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2015. №4. С. 27-32.

4. Потеряева О.Н. Участие цистеиновых протеиназ и их ингибиторов в развитии злокачественных опухолей (обзор литературы) // *Медицина и образование в Сибири*. 2009. № 1. Available at: <http://ngmu.ru/cozo/mos/article/abauthors.php?id=327> (accessed 30 August 2016).

5. Пупышев А.Б. Пермеабиллизация лизосомных мембран как апоптогенный фактор // *Цитология*. 2011. Т. 53, №4. С. 313-324.

6. Фомина М.А., Кудлаева А.М. Изучение *in vitro*-воздействия L-карнитина на лизосомальный цистеиновый протеолиз изолированно и на фоне оксидативного стресса // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2016. №1. С. 55-59.

7. Mutomba M.C., Yuan H., Konyavko M., Adachi S., Yokoyama C.B., Esser V. et al. Regulation of the activity of caspases by L-carnitine and palmitoylcarnitine // FEBS Letters. 2000. Vol. 478, №1-2. P. 19-25.

8. Roy M.J., Dionne S., Marx G., Qureshi I., Sarma D., Levy E. et al. In vitro studies on the inhibition of colon cancer by butyrate and carnitine // Nutrition. 2009. Vol. 25, №11-12. P. 1193-1201. doi: 10.1016/j.nut.2009.04.008.

9. Ильичёва А.С., Фомина М.А. Влияние L-аргинина и карнитина на активность катепсинов L и H и проницаемость лизосомальной мембраны в сердечной мышце при выраженной гипергомоцистеинемии // Казанский медицинский журнал. 2015, №5. С. 819-824.

10. Barrett A.J., Kirschke H. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L // Methods in Enzymol. 1981. Vol. 80. P. 535-561.

11. Покровский А.А., Тутельян В.А. Лизосомы. М.: Наука, 1976. 378 с.

12. Felbor U., Dreier L., Bryant R., Ploegh H., Olsen B., Mothes W. Secreted cathepsin L generates endostatin from collagen XVIII // EMBO J. 2000. Vol. 19, №6. P. 1187-1194. doi: 10.1093/emboj/19.6.1187.

13. Terman A., Kurz T., Gustafsson B., Brunk U.T. Lysosomal Labilization // IUBMB Life. 2006. Vol. 58, №9. P. 531-539. doi: 10.1080/15216540600904885.

References

1. Turk V, Stoka V, Vasiljeva O, Renko M, Sun T, Turk B et al. Cysteinecathepsins: From structure, function and regulation to new frontiers. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012; 1824 (1): 68-88. doi: 10.1016/j.bbapap.2011.10.002.

2. Abalenihina YuV, Fomina MA, Isakov SA. Okislitel'naya modifikaciya belkov i izmenenie aktivnosti katepsina l selezenki krysa v usloviyah modelirovaniya deficita sinteza oksida azota [Oxidative modification of proteins and changes in the activity of rat spleen cathepsin l in a simulation of the synthesis of

nitric oxide deficiency]. *Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova* [I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald]. 2013; 21 (1): 45-9. (in Russian)

3. Arapova AI, Fomina MA. Autokatalicheskie ehffekty lizosomal'nyh cisteinovyh proteinaz gladkoj myshey aorty krysa [Autocatalytic effect of lysosomal cysteine proteases smooth muscle rat aorta]. *Nauka molodykh (Eruditio Juvenium)* [Science of young (Eruditio Juvenium)]. 2015; 4: 27-32. (in Russian)

4. Poteryaeva ON. Uchastie cisteinovyh proteinaziih ingibitorov v razvitii zlokachestvennyh opuholej (obzorliteratury) [The involvement of cysteine proteases and their inhibitors in the development of malignant tumours (literature review)]. *Medicina i obrazovanie v Sibiri* [Medicine and education in Siberia]. 2009; 1. Available at: <http://ngmu.ru/cozom/article/abauthors.php?id=327> (accessed 30 August 2016). (in Russian)

5. Pupyshev AB. Permeabilizaciya lizosomal'nyh membran kak apoptogennyj faktor [Permeabilization of lysosomal membranes like apoptotic factor]. *Citologiya* [Cytology]. 2011; 53 (4): 313-324. (in Russian)

6. Fomina MA, Kudlaeva AM. Izuchenie *in vitro*-vozdeystviya L-karnitina na lizosomal'nyj cisteinovyj proteoliz izolirovannoi na fone oksidativnogo stressa [In vitro studies of L-carnitine action on lysosomal cysteine proteolysis alone and in oxidative stress]. *Nauka molodykh (Eruditio Juvenium)* [Science of young (Eruditio Juvenium)]. 2016; 1: 55-59. (in Russian)

7. Mutomba MC, Yuan H, Konyavko M, Adachi S, Yokoyama CB, Esser V et al. Regulation of the activity of caspases by L-carnitine and palmitoylcarnitine. *FEBS Letters*. 2000; 478 (1-2): 19-25.

8. Roy MJ, Dionne S, Marx G, Qureshi I, Sarma D, Levy E et al. In vitro studies on the inhibition of colon cancer by butyrate and carnitine. *Nutrition*. 2009; 25 (11-12): 1193-201. doi:10.1016/j.nut.2009.04.008.

9. Il'ichyova AS, Fomina MA. Vliyanie L-arginina i karnitina na aktivnost' katepsinov L i H i pronicaemost' lizosomal'noj membrany v serdechnoj myshce pri vyrazhennoj giperhomocisteinemii [Effect of L-arginine and carnitine on cathepsins L and H activity and

lysosomal membranes permeability in myocardium in expressed hyperhomocysteinemia]. *Kazanskij medicinskij zhurnal [Kazan Medical Journal]*. 2015; 96 (5): 819-24. (in Russian)

10. Barrett AJ, Kirschke H. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L. *Methods in Enzymol.* 1981; 80: 535-61.

11. Pokrovskij AA, Tutel'yan VA. *Lizosomy [Lysosomes]*. Moscow; 1976. 378 p. (in Russian)

12. Felbor U, Dreier L, Bryant R, Ploegh H, Olsen B, Mothes W. Secreted cathepsin L generates endostatin from collagen XVIII. *EMBO J.* 2000; 19 (6): 1187-94. doi: 10.1093/emboj/19.6.1187.

13. Terman A, Kurz T, Gustafsson B, Brunk UT. Lysosomal Labilization. *IUBMB Life.* 2006; 58 (9): 531-9. doi:10.1080/15216540600904885.

Фомина М.А. – к.м.н., доцент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань.

Кудлаева А.М. – ассистент кафедры биологической химии с курсом КЛД ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань.

E-mail: anyakudlaeva@mail.ru

Рябков А.Н. – д.м.н., доцент кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань.