

ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ КЛЕТОК МОЗГА К ПАТОЛОГИЧЕСКИМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ: ВОВЛЕЧЕННОСТЬ ПРОТЕАЗ

Обзор

© 2015 А.А. Яковлев, Н.В. Гуляева*

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,
117485 Москва; электронная почта: nata_gul@yahoo.com

Поступила в редакцию 03.10.14
После доработки 21.10.14

Преко́ндиционирование (ПК) является одной из действенных стратегий снижения тяжести повреждения клеток, в частности, клеток нервной ткани. Несмотря на то, что механизмы ПК изучены недостаточно, участие протеаз в ПК очевидно, хотя подробно эта область до сих пор не исследована. В статье предложено несколько механизмов потенциального вовлечения протеаз в ПК. В основном рассмотрены имеющиеся данные, касающиеся протеаз семейств каспаз и катепсинов, а также протеазных рецепторов. Приведены свидетельства того, что именно эти белки участвуют в реализации ПК клеток мозга. Предложена гипотеза о том, что секретлируемый катепсин В вовлечен в реализацию эффектов ПК через активацию рецептора PAR2.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: преко́ндиционирование, мозг, протеазы, каспазы, катепсин, протеазные (PAR) рецепторы.

Преко́ндиционирование является одним из ключевых механизмов эндогенной защиты организма от повреждающих воздействий. Феномен ПК заключается в следующем: воздействие на ткань организма патогенного фактора ниже порога повреждения защищает эту ткань от последующего воздействия того же или иного патогенного фактора высокой интенсивности, способного вызвать повреждение. Иными словами, ПК оптимальной продолжительности и интенсивности существенно повышает резистентность ткани. ПК является частным случаем гормезиса, т.е. стимулирующего действия умеренных доз стрессоров. К преко́ндиционирующим стимулам относятся, в частности, химические вещества, ишемия, гипоксия, гипертермия. При ишемическом преко́ндиционировании (ИПК), которое изучено в наиболее значительной степени, кратковременная ишемия способствует возникновению временной устойчивости к более тяжелой ишемии, причем не только в данном органе, но также и в других тканях и органах организма. ПК одного органа вызывает ус-

тойчивость другого органа в целом ряде моделей на животных [1–4]. Возможность ишемического преко́ндиционирования была продемонстрирована на многих видах лабораторных животных, на многих органах и тканях, а также в моделях *in vitro*. На возможности удаленного ПК основана, например, выработка устойчивости головного мозга к ишемии после кратковременной ишемии конечности [5]. Обсуждается возможность ПК при операциях на крупных артериях и операциях после кровоизлияний в мозг в клинике [6]. Опубликован ряд обзорных работ, подробно раскрывающих некоторые аспекты ПК. Так, молекулярные механизмы подробно описывает Обренович [7], клиническое значение преко́ндиционирования рассматривает Дирнагл с соавт. [5].

Первые работы по ИП мозга были проведены на грызунах с использованием модели глобальной ишемии [8]. Животные, перенесшие двухминутную глобальную ишемию мозга, демонстрировали значительное уменьшение гибели клеток в поле CA1 гиппокампа после пятиминутной ишемии через 1–2 дня после ПК. Более того, 2 двухминутных эпизода глобальной ишемии с интервалом в один день через 2 дня после второго эпизода практически полностью предотвращали гибель нейронов в результате

Принятые сокращения: преко́ндиционирование – ПК; ишемическое преко́ндиционирование – ИПК; аутофагия – АФ.

* Адресат для корреспонденции.

пятиминутной ишемии. Защитное действие ИПК в дальнейшем было продемонстрировано на модели фокальной ишемии на мышцах, более клинически релевантной модели инсульта человека [9]. Для детального изучения механизмов ИПК были разработаны модели *in vitro* с использованием клеточных культур. Клетки первичной культуры коры больших полушарий после кратковременного эпизода кислородно-глюкозного голодания становятся более устойчивы к последующим более тяжелым воздействиям [10]. Кислородно-глюкозная депривация стала общепринятой моделью для исследования эффектов ИПК на клетках [10–13]. На этой модели были исследованы многие молекулярные механизмы ПК [11, 13, 14].

ИПК активирует внутриклеточные защитные механизмы и запускает экспрессию многих протекторных генов [5]. ИПК приводит к улучшению функционирования эндотелия сосудов мозга [15–17]. В частности, увеличивается кровоснабжение мозга и ускоряется восстановление кровоснабжения в постишемический период. Эти эффекты, как полагают, опосредованы системой оксида азота [18]; в сосудах мозга повышается иммунореактивность синтазы оксида азота [19], а ингибирование этого фермента или нокаут его гена устраняют эффект ИПК [20, 21]. Прекондиционирование с помощью повторяющихся эпизодов умеренной гипобарической гипоксии также вызывает защиту от более тяжелого повреждения [22] за счет значительного увеличения экспрессии транскрипционных факторов, фосфорилированного CREB и NF-κB в коре больших полушарий экспериментальных животных, тогда как тяжелое гипобарическое повреждение вызывает снижение экспрессии этих белков [22]. Гипобарическое гипоксическое ПК также вызывает повышение экспрессии антиоксидантного фермента Mn-SOD [23].

Ишемия вызывает высвобождение некоторых провоспалительных цитокинов, что приводит к повреждению нейронов [24]. ИПК вызывает уменьшение воспаления за счет снижения экспрессии провоспалительных факторов [25, 26]. Ишемическая гибель клеток мозга опосредована глутаматной эксайтотоксичностью, а снижение уровня глутамата является мощным нейропротекторным фактором [27]. ИПК уменьшает глутаматную эксайтотоксичность за счет снижения выброса глутамата из депо, стимулирования внутриклеточного транспорта глутамата и увеличения экспрессии глиального транспортера глутамата [13, 28, 29]. Высокий уровень ГАМК подавляет эксайтотоксичность и является нейропротекторным фактором [30]. ИПК вызывает повышение уровня ГАМК во время ише-

мии за счет активации ключевого фермента синтеза ГАМК, глутаматдекарбоксилазы [31]. Не менее важным является оптимизация энергетического метаболизма клетки в результате ИПК: происходит усиление гликолиза, усиление функционирования дыхательной цепи, стабилизация мембран митохондрий [32, 33]. ИПК также вызывает сдвиг равновесия аденилаткиназной реакции в сторону генерации АТФ, который активно расходуется при ишемии [34].

В последние годы начаты исследования роли протеолитических систем в ИПК. Речь идет в основном о протеасомальной/убиквитиновой и лизосомальной/аутофагической системах, двух основных системах протеолиза в клетках млекопитающих. Известно, что при ишемии в клетках гиппокампа образуются белковые агрегаты [35, 36], а активация убиквитин/протеасомной системы и экспрессия шаперонов предотвращают образование агрегатов [37, 38]. ИПК вызывает значительное снижение агрегации белка после ишемии [39]. При этом снижается количество убиквитинового конъюгата белка и стабилизируется внутриклеточный пул свободного убиквитина.

В клетках мозга после ишемии активируются процессы аутофагии, хотя роль аутофагии в выживании нейронов до сих пор точно не установлена [40]. Активация аутофагии вызывает разрушение внутриклеточных компонентов и смерть клеток, однако аутофагия, происходящая на базовом уровне, способствует выживанию клеток, так как устраняет поврежденные белки и органеллы и одновременно обеспечивает клетку питательными веществами [41]. В модели ИПК на культуре клеток *in vitro* было показано, что ингибирование аутофагии снижает нейропротекцию, вызванную ПК [42].

Каспаза-3 является основным ферментом млекопитающих, отвечающим за подавляющее большинство протеолитических событий при апоптозе [43], в частности, в нервной ткани [44, 45]. Ишемическое повреждение или травма мозга вызывают активацию каспазы-3 и последующую гибель нейронов [46, 47]. Мутация гена каспазы-3 приводит к смерти животного в эмбриогенезе или раннем постнатальном онтогенезе, причем наиболее сильно патология развития таких мутантов выражена именно в головном мозге [48]. Однако каспаза-3 может иметь и не связанные с гибелью клеток функции. Так, на модели ишемической толерантности *in vivo* было показано, что в ПК нервной ткани происходит активация каспазы-3 без каких-либо признаков апоптоза, а в нейрональной культуре ингибитор каспазы-3 блокирует вызванную кратковременной ишемией защиту от NMDA [14].

Последний пример показывает, что среди многообразия функций такого фермента, как каспаза-3, может быть и антиапоптотическая функция, в частности, участие в ИПК.

Показано, что каспаза-3 активирует антиапоптотическую киназу Akt [49]. Протеинкиназа Akt (PKB), является эффектором фосфатидилинозитол-3-киназы и принимает участие в выживании клеток различных типов во многих, если не во всех типах тканей. В клетках нокаутных по гену каспазы-3 мышей в ответ на различные повреждающие стимулы существенно снижается уровень активной формы Akt, что в некоторых случаях приводит к гибели клеток и организма в целом [49]. Интересно, что мыши с мутацией RasGAP в сайте расщепления каспазой-3 демонстрируют похожие дефекты в активации Akt, а повреждающие факторы вызывают более выраженную гибель клеток в тканях таких мышей. С белком RasGAP также связан один из сценариев выживания клеток после активации каспазы-3 [50]. При активации каспазы-3 происходит частичное расщепление RasGAP и один из образовавшихся фрагментов запускает активацию Akt и предотвращает дальнейшую активацию каспазы-3.

Остается недостаточно изученной регуляция активности каспазы-3 в ситуациях, не связанных с гибелью. Предполагают, что в клетке конститутивно экспрессируются или индуцируются вместе с активацией каспаз антиапоптотические молекулы, например, представители семейства белков-ингибиторов апоптоза [51]. Возможно, каспазы сами могут запускать антиапоптотические сценарии, как в случае ПК на модели экзайтотоксической толерантности [14] и при активации белка RasGAP [50].

Несколько исследований посвящены изучению регуляции активности каспаз и тому, как каспазы могут регулировать различные внутриклеточные события. Показано, что, хотя все каспазы являются растворимыми белками, каспазная активность может быть ассоциирована с мембранной фракцией [52, 53]. Активность ферментов семейства каспаз невыясненным пока образом зависит от *N*-концевого фрагмента, отщепляемого от каспаз при активации [54, 55]. Это означает, что при рассмотрении функций каспаз в клетке, в том числе антиапоптотических функций в нервных клетках при ИПК, необходимо рассматривать не только протеолитическую активность ферментов, но и сигнальные механизмы, запускаемые концевыми фрагментами каспаз.

Одним из вариантов инактивации каспаз является полиубиквитинилирование [56], причем каспазы сами активируют свой ингибитор; та-

ким образом, в этой ситуации имеет место отрицательная обратная связь. Каспаза-3 может быть активирована в результате Ca^{2+} зависимого процесса [57], при этом активация проходит по неизвестному механизму, а активированный фермент обладает меньшей, чем при апоптозе, активностью. Предполагают, что регуляция активности каспаз осуществляется путем изменения доступности субстратов, различного процессинга субстратов, активности антиапоптотических факторов, посттрансляционных изменений каспазы-3 или ее субстратов, якорных белков, связывающих каспазу и/или ее субстраты в определенных внутриклеточных компартментах. Следует, однако, отметить, что до сих пор большинство из этих предположений не получили экспериментального подтверждения.

Можно предположить и некоторые дополнительные варианты регуляции каспазной активности. Это альтернативный сплайсинг, временный/индуцибельный, или конститутивный. Так, показано, что в апоптотических клетках каспаза-3 представлена несколькими вариантами [58], причем эти варианты различаются в разных типах клеток, но, какие это изоформы, выяснено не было. Показано, что клетка может экспрессировать разные формы каспазы-8, причем некоторые изоформы фермента имеют антиапоптотическую функцию [59]. Возможно, каспаза-3 может иметь функции, не связанные с ее каталитической активностью. Такой особенностью обладает, например, катепсин D, каталитически неактивная форма которого может запускать апоптоз [60].

Аутофагический путь программируемой гибели клеток сопровождается процессом аутофагии (АФ) – восполнения пула внутриклеточных аминокислот за счет расщепления цитоплазматических белков в лизосомах [41]. Считается, что в физиологических условиях АФ может запускаться при нехватке в клетке питательных веществ. Основными эффекторами этого пути являются кислые лизосомальные протеиназы катепсины [61]. АФ является средством защиты организма против развития патологических состояний, в том числе инфекций, канцерогенеза, нейродегенерации, старения и сердечно-сосудистых патологий [41, 62]. Катепсины вообще и, при АФ в частности, рассматриваются как ферменты катаболизма, обеспечивающие неспецифическое расщепление белков в клетке. Однако имеются основания считать, что функции катепсинов значительно шире.

Одним из путей воздействия протеолитических ферментов на клетки является активация т.н. протеазных рецепторов, PARs (protease activated receptors) – уникального класса сопряжен-

ных с G-белками рецепторов, представленных в различных типах тканей и клеток [63]. Уникален в первую очередь механизм их активации, вначале изученный на примере PAR1 [64] и, как выяснилось, общий для всех четырех известных в настоящее время представителей семейства, PAR1-4 [65]. Активирующая протеаза связывается с внеклеточной частью рецептора и отщепляет от него N-концевой фрагмент; при этом новый N-конец рецептора работает как аутолиганд, взаимодействуя с участком второй экстраклеточной петли рецептора. Это приводит к конформационным изменениям и активации рецептора. PAR рецепторы отличаются по средству к различным протеолитическим ферментам, которые способны активировать конкретные рецепторы. Например, тромбин является активатором PAR1, PAR3 и PAR4, а трипсин активирует PAR2 и PAR4 в различных типах клеток [63].

Функции PAR рецепторов в центральной нервной системе являются предметом интенсивных исследований [66]. Показано, что при кислородной и глюкозной депривации срезов гиппокампа повышается нейрональная экспрессия рецепторов PAR1-3, причем наибольшие изменения при такой депривации претерпевает рецептор PAR2 [67]. Можно заключить, что PAR рецепторы играют определенную роль в нейрональном сигналинге при неблагоприятных условиях, например, кислородной и глюкозной депривации. Тем не менее роль протеазных рецепторов при прекондиционировании не исследована.

Нами была предпринята попытка охарактеризовать экспрессию рецепторов семейства PAR в нейронах в условиях депривации ростовых факторов [68]. С одной стороны, депривация ростовых факторов сама по себе является неблагоприятным воздействием на клетки, с другой, депривация является ПК к последующим более тяжелым воздействиям, например, глутаматной токсичности. Таким образом, модель депривации ростовых факторов на культуре нейронов является патогенетической и позволяет изучать механизмы повреждения и выработки устойчивости нейронов к неблагоприятным условиям, чем выгодно отличается от многих других моделей патологии в культуре клеток.

В эксперименте на первичных культурах мозжечка показано наличие экспрессии мРНК всех 4-х типов протеазных рецепторов, с преимущественной экспрессией рецептора PAR1 как в нейроно-глиальных, так и глиальных культурах. Сравнение сестринских культур показало, что уровень транскрипта *PAR2* в глиальных культурах был на порядок выше, чем в нейроно-

глиальных. Депривация ростовых факторов приводила к специфическому повышению уровня мРНК трипсинового рецептора, PAR2. Можно предположить, что данное воздействие является мощным стимулирующим фактором, запускающим в клетке адаптивные сигнальные каскады, и регуляция уровня данного рецептора является одной из составляющих этого процесса. Более того, если через сутки после депривации ростовых факторов индуцировать в нейронах глутаматную токсичность, то предварительное депривированные нейроны выживают значительно лучше. Возможно, более чем четырехкратное увеличение экспрессии PAR2 непосредственно связано с большей выживаемостью нейронов в ситуации острой глутаматной токсичности. Ранее нами было показано, что при депривации ростовых факторов нейроны секретуют катепсин В [69], потенциальный агонист PAR2 рецепторов.

Важно отметить, что повышение экспрессии PAR2 имеет место при ишемическом повреждении мозга [67, 70], в частности, уровень PAR2 существенно возрастает в пенумбре у мышей после окклюзии средней мозговой артерии [70]. При этом повреждения при ишемии у мышей, нокаутных по гену *PAR2*, более выражены, чем у животных дикого типа, что свидетельствует о потенциальной протекторной роли *PAR2* в условиях ишемии. Можно предположить, что описанное нами *in vitro* повышение экспрессии *PAR2* в клеточной культуре при депривации ростовых факторов (которую можно рассматривать как модель важного компонента ишемического воздействия на клетки мозга) является проявлением защитного механизма, необходимого для реализации ИПК. Положительная регуляция *PAR2* в указанных условиях вызывает особый интерес в связи с тем, что до сих пор нет однозначных данных о том, какой фермент является его эндогенным активатором в мозге, несмотря на то, что функциональная значимость PAR рецепторов, особенно 1 и 2 типов, как в норме, так и при патологических состояниях не вызывает сомнений.

Можно предположить, что PAR рецепторы регулируются широким спектром различных протеаз. Субстратная специфичность сериновых протеаз, плазмина, тромбина, трипсина, калликреинов, tPA в значительной степени перекрывается [71]. В силу этого можно предположить, что многие экстраклеточные сериновые протеазы способны в той или иной степени активировать или ингибировать протеазные рецепторы. Однако в мозге далеко не все протеазы оказываются во внеклеточном пространстве в достаточных для этого концентрациях. Возмож-

но, что такое существенное перекрытие по субстратам протеаз в головном мозге может иметь значение для функционирования нейронов в ситуациях, когда при отсутствии определенной протеазы другие ферменты могут компенсировать ее активность. Интересно, что субстратная специфичность тромбина пересекается с субстратной специфичностью протеаз других семейств и даже других классов, в том числе цистеиновых протеаз катепсинов [71]: расщепление полипептидной цепочки после остатка аргинина выполняют и тромбин, и трипсин, и катепсины. Недавно с помощью нескольких экспериментальных подходов было продемонстрировано, что протеазы имеют намного больше потенциальных субстратов, чем было принято считать ранее [72], при этом у катепсинов и трипсина есть общие субстраты. Существующие методы предсказания потенциальных субстратов протеаз [73] указывают, что в экстраклеточной части протеазных рецепторов PAR всех типов высоковероятно находятся сайты расщепления катепсинами и каспазами, широко распространенными классами протеаз [74].

Ранее нами было показано, что нейрональные клетки в культуре секретируют катепсин В во внеклеточную среду [75]. Этот процесс является энергезависимым и активируется при попадании клетки в неблагоприятные условия. Именно в таких условиях изменяется экспрессия рецепторов PAR2, но не PAR1 [68]. Кроме того, при определенных условиях катепсин В может расщеплять субстрат, содержащий консенсусную последовательность каспазы-3 [76], а внеклеточная часть PAR рецепторов может являться субстратом каспаз [74]. Таким образом, катепсин В секретирруется во внеклеточную среду, при этом изменяется профиль экспрессии протеазных рецепторов, на внеклеточной части которых расположены сайты узнавания данной протеазы. Все изложенное позволяет нам предположить, что катепсин В может взаимодействовать с одним или несколькими типами PAR, являясь неизвестным до сих пор регуляторным звеном в функционировании протеазных рецепторов мозга. Катепсин В (и это не характерно для лизосомальных ферментов) сохраняет значительную активность при нейтральном pH [77, 78]. Более того, катепсин В вне клетки присутствует в разных конформационных состояниях, отличающихся стабильностью, активностью и аффинностью к различным ингибиторам, при этом активировать и ингибировать разные формы фермента могут ионы двухвалентных металлов [77]. Активность катепсина В обнаружена в различных клеточных компартментах, причем локализация фермента зависит от функцио-

нального состояния клетки [78]. Катепсин В может существовать и в связанной с плазматической мембраной форме [79], и в комплексе с белками внеклеточного матрикса [80]. Очевидно, что этот фермент может существовать и в клетке, и вне ее, выполняя, скорее всего, различные функции. Идентифицировать субстраты или ингибиторы катепсина в разных функциональных состояниях сложно, так как биологические партнеры катепсина В в различных физиологических ситуациях практически не изучены.

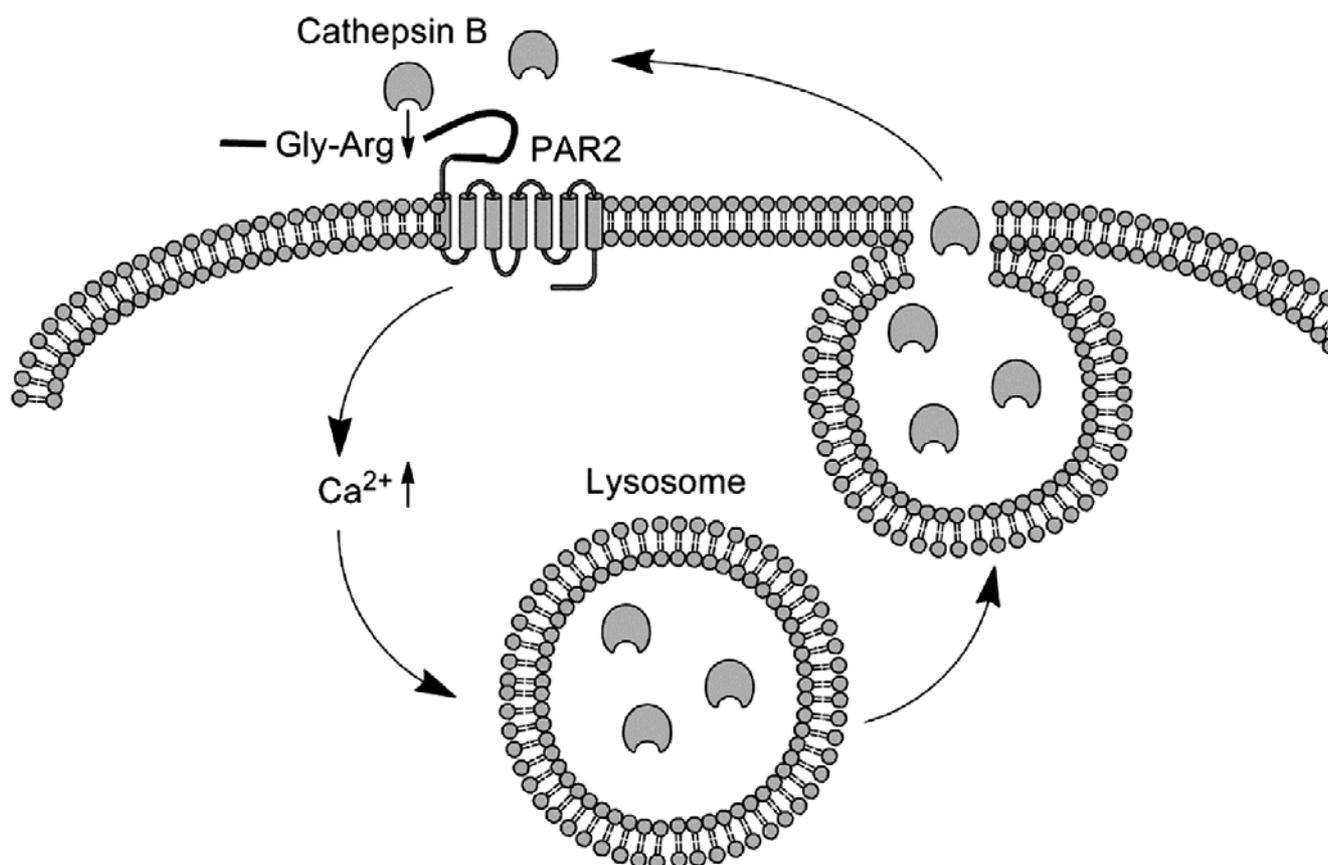
Большой интерес вызывает специфичность катепсина В. Показано, что эта протеаза катализирует разрыв пептидной цепи по двум различным механизмам, эндопротеолитическому и экзопротеолитическому [81, 82]. Эти каталитические механизмы имеют различные оптимумы pH [83, 84], что уже само по себе предполагает различие субстратов катепсина в разных внутриклеточных компартментах. В кислых клеточных компартментах, в первую очередь в лизосомах, где pH составляет 4,5–5,5, катепсин В обладает в основном пептидил-дипептидазной и карбоксипептидазной активностью [83–85], тогда как оптимум эндопептидазной активности этого фермента находится в области pH 7,4 [86, 87]. Столь необычное сочетание позволяет предположить, что катепсин В может принимать участие в различных физиологических процессах, таких как деградация белка в лизосомах и перестройка белков внеклеточного матрикса. Важным фактором регуляции активности катепсина В является число реагирующих с этим ферментом ингибиторов протеаз, эффективно взаимодействующих с катепсином при различных значениях pH [88]. Многообразие биохимических свойств катепсина позволяет предполагать, что он может быть вовлечен во многие клеточные процессы, механизмы которых, равно как и регуляторы этого фермента, выявлены далеко не полностью. Нам не удалось идентифицировать субстраты секретиремого катепсина В [75]; регуляторы активности этого фермента также предстоит идентифицировать. Можно предположить, что кроме потенциальной мишени внеклеточного катепсина В, рецептора PAR2, могут существовать и другие физиологически значимые субстраты секретиремого катепсина, в частности, содержащие консенсусную последовательность, характерную для субстратов каспазы-3.

В экспериментах по изучению секреции протеаз во внеклеточную среду мы показали, что неблагоприятные условия различной природы (депривация трофических факторов и глутаматная токсичность) вызывают секрецию катепсина В, а депривация трофических факторов

(ПК) за сутки до введения в среду глутамата в эксайтотоксической концентрации снижает секрецию катепсина В [69]. Исходя из этого можно предположить, что секреция катепсина В является неспецифической реакцией клеток на неблагоприятные условия. Депривация ростовых факторов повышает активность катепсина В в культуральной жидкости, а ПК ее снижает. Поскольку прекондиционирование повышает устойчивость клеток к неблагоприятным условиям среды, можно предположить, что секреция катепсина В является попыткой клетки адаптироваться к неблагоприятным условиям среды, а после реализации ПК механизмы адаптации уже запущены и в секреции фермента нет необходимости. Вероятными мишенями катепсина В могут быть молекулы внеклеточного матрикса, перестройка которого начинается в условиях голодания клеток, а также нейрональные рецепторы PAR2, активация которых повышает устойчивость клеток к неблагоприятным условиям среды [89]. Катепсин В, как правило, не рассматривают в качестве фермента, в щелочных условиях расщепляющего пептидную связь после остатка

аргинина, так как считается, что в этих условиях фермент необратимо денатурирует [90]. Однако нами было показано, что при слабощелочных значениях pH катепсин В сохраняет заметную активность по отношению к этой пептидной связи [69], а теоретический анализ специфичности катепсина В выявляет сайты расщепления катепсином В именно на PAR2 [74]. По нашим данным эта протеаза не только переживает слабощелочную среду экстраклеточной жидкости, но и секретируется клеткой в описанных нами условиях.

Обнаруженная секреция катепсина В может являться частью более общего механизма реакции клетки на стресс, экзоцитоза лизосом. В неблагоприятных для клетки условиях одним и тем же транскрипционным фактором TFEB запускается внутриклеточная аутофагия и секреция лизосом [91]. В процессе экзоцитоза лизосомы могут сливаться с плазматической мембраной и высвобождать содержимое во внеклеточное пространство. Процесс является Ca^{2+} -зависимым и происходит в несекреторных клетках [92, 93]. Известно, что экзоцитоз лизосом спо-



Гипотетическая схема участия катепсина В в прекондиционировании (подробности в тексте)

способствует восстановлению плазматической мембраны клеток [94], освобождает клетку от накопившихся токсических продуктов [91], регулирует секрецию β -амилоида [95], принимает участие в миграции клеток [96], регулирует миелинизацию аксонов [97]. Таким образом, запускаясь синхронно с АФ, экзоцитоз лизосом принимает участие в важных для функционирования клетки процессах. Поскольку аутофагия запускается при ИПК [98], можно предположить, что при индукции ИПК на культуре нейронов происходит и экзоцитоз лизосом [69].

Предположение о том, что катепсин В активирует рецепторы PAR2 может быть непосредственно связано с экзоцитозом лизосом. Действительно, физиологическое значение активации PAR2 при ПК связано с вызываемым этой активацией повышением уровня внутриклеточного Ca^{2+} [63]. Повышение уровня Ca^{2+} в свою очередь вызывает экзоцитоз лизосом и регулирует систему по принципу положительной обратной связи. С этой точки зрения протекторный эффект повышения экспрессии PAR2 в околошлещемической области коры у мышей после окклюзии средней мозговой артерии [70] и повышение экспрессии PAR2 после депривации ростовых факторов [68] говорят о тесной связи индукции ПК на нейронах, секреции катепсина В и активации рецепторов PAR2.

К настоящему времени не установлен внутриклеточный механизм, ответственный за перераспределение, секрецию и мембранную локализацию катепсинов. Идентификация молекулярных партнеров катепсинов внутри и вне клетки позволит установить новые механизмы связывания и регуляции ферментов. Некоторые партнеры катепсина уже установлены, например, легкая цепь аннексина связывает прока-

тепсин В с кавеолами [99]. Другой партнер катепсина В, внеклеточный гепарансульфат, не только связывает и поддерживает в активном состоянии секретированный катепсин, но и предохраняет его от щелочной инактивации [100]. Однако, при несомненно достигнутых успехах по выявлению роли катепсинов в клеточном сигналинге, пока не идентифицированы многие белки-партнеры, регуляторы и субстраты катепсина В.

Протеазные рецепторы мозга играют важную роль в пластичности нейронов, как в норме, так и при патологии. Механизмы и регуляция участия этих рецепторов в жизнедеятельности клеток до конца не выяснены, при этом особняком стоит вопрос об активирующих эти рецепторы ферментах. Хорошо известны некоторые протеазы – активаторы PAR, тромбин и трипсин. О многих известно очень мало, а некоторые, по-видимому, пока неизвестны. Мы сформулировали гипотезу об участии катепсина В в активации PAR рецепторов. Гипотетическая схема участия катепсина В в прекондиционировании представлена на рисунке. По-видимому, катепсин В вместе с рецептором PAR2 принимают участие на этапе поддержания устойчивости клеток к последующему воздействию. Если это так, то индукция ПК в клетках сопровождается секрецией катепсина В, последующей активацией рецептора PAR2 и повышением уровня внутриклеточного Ca^{2+} . Последнее вызывает в клетке множество событий: от активации протеинкиназ до слияния органелл с плазматической мембраной.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант 14-04-01858-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dave, K.R., Saul, I., Prado, R., Busto, R., and Perez-Pinzon, M.A. (2006) Remote organ ischemic preconditioning protect brain from ischemic damage following asphyxial cardiac arrest, *Neurosci. Lett.*, **404**, 170–175.
2. Hahn, C.D., Manlhiot, C., Schmidt, M.R., Nielsen, T.T., and Redington, A.N. (2011) Remote ischemic preconditioning: a novel therapy for acute stroke? *Stroke*, **42**, 2960–2962.
3. Malhotra, S., Naggar, I., Stewart, M., and Rosenbaum, D.M. (2011) Neurogenic pathway mediated remote preconditioning protects the brain from transient focal ischemic injury, *Brain Res.*, **1386**, 184–190.
4. Hu, S., Dong, H., Zhang, H., Wang, S., Hou, L., and Chen, S. (2012) Noninvasive limb remote ischemic preconditioning contributes neuroprotective effects via activation of adenosine A1 receptor and redox status after transient focal cerebral ischemia in rats, *Brain Res.*, **1459**, 81–90.
5. Dirnagl, U., Becker, K., and Meisel, A. (2009) Preconditioning and tolerance against cerebral ischaemia: from experimental strategies to clinical use, *Lancet Neurol.*, **8**, 398–412.
6. Koch, S. (2010) Preconditioning the human brain: practical considerations for proving cerebral protection, *Transl. Stroke Res.*, **1**, 161–169.
7. Obrenovitch, T.P. (2008) Molecular physiology of preconditioning-induced brain tolerance to ischemia, *Physiol. Rev.*, **88**, 211–247.
8. Kitagawa, K., Matsumoto, M., Tagaya, M., Hata, R., Ueda, H., Niinobe, M., Handa, N., Fukunaga, R., Kimura, K., Mikoshiba, K., and Kamada, T. (1990) «Ischemic tolerance» phenomenon found in the brain, *Brain Res.*, **528**, 21–24.
9. Stagliano, N.E., Perez-Pinzon, M.A., Moskowitz, M.A., and Huang, P.L. (1999) Focal ischemic preconditioning induces

- rapid tolerance to middle cerebral artery occlusion in mice, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **19**, 757–761.
10. Bruer, U., Weih, M.K., Isaev, N.K., Meisel, A., Ruscher, K., Bergk, A., Trendelenburg, G., Wiegand, F., Victorov, I.V., and Dirnagl, U. (1997) Induction of tolerance in rat cortical neurons: hypoxic preconditioning, *FEBS Lett.*, **414**, 117–121.
 11. Grabb, M.C., and Choi, D.W. (1999) Ischemic tolerance in murine cortical cell culture: Critical role for NMDA receptors, *J. Neurosci.*, **19**, 1657–1662.
 12. Sakaki, T., Yamada, K., Otsuki, H., Yuguchi, T., Kohmura, E., and Hayakawa, T. (1995) Brief exposure to hypoxia induces bFGF mRNA and protein and protects rat cortical neurons from prolonged hypoxic stress, *Neurosci. Res.*, **23**, 289–296.
 13. Romera, C., Hurtado, O., Botella, S.H., Lizasoain, I., Cardenas, A., and Fernandez-Tome, P. (2004) *In vitro* ischemic tolerance involves upregulation of glutamate transport partly mediated by the TACE/ADAM17-tumor necrosis factor- α pathway, *J. Neurosci.*, **24**, 1350–1357.
 14. McLaughlin, B., Hartnett, K.A., Erhardt, J.A., Legos, J.J., White, R.F., Barone, F.C., and Aizenman, E. (2003) Caspase 3 activation is essential for neuroprotection in preconditioning, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 715–720.
 15. Hoyte, L.C., Papadakis, M., Barber, P.A., and Buchan, A.M. (2006) Improved regional cerebral blood flow is important for the protection seen in a mouse model of late phase ischemic preconditioning, *Brain Res.*, **1121**, 231–237.
 16. Vlasov, T.D., Korzhevskii, D.E., and Polyakova, E.A. (2005) Ischemic preconditioning of the rat brain as a method of endothelial protection from ischemic/reperfusion injury, *Neurosci. Behav. Physiol.*, **35**, 567–572.
 17. Nakamura, H., Katsumata, T., Nishiyama, Y., Otori, T., Katsura, K., and Katayama, Y. (2006) Effect of ischemic preconditioning on cerebral blood flow after subsequent lethal ischemia in gerbils, *Life Sci.*, **78**, 1713–1719.
 18. Hashiguchi, A., Yano, S., Morioka, M., Hamada, J., Ushio, Y., and Takeuchi, Y. (2004) Up-regulation of endothelial nitric oxide synthase via phosphatidylinositol 3-kinase pathway contributes to ischemic tolerance in the CA1 subfield of gerbil hippocampus, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **24**, 271–279.
 19. Cho, S., Park, E.M., Zhou, P., Frys, K., Ross, M.E., and Iadecola, C. (2005) Obligatory role of inducible nitric oxide synthase in ischemic preconditioning, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **25**, 493–501.
 20. Atochin, D.N., Clark, J., Demchenko, I.T., Moskowitz, M.A., and Huang, P.L. (2003) Rapid cerebral ischemic preconditioning in mice deficient in endothelial and neuronal nitric oxide synthases, *Stroke*, **34**, 1299–1303.
 21. Tokuno, S., Chen, F., Pernow, J., Jiang, J., and Valen, G. (2002) Effects of spontaneous or induced brain ischemia on vessel reactivity: the role of inducible nitric oxide synthase, *Life Sci.*, **71**, 679–692.
 22. Rybnikova, E., Gluschenko, T., Tulkova, E., Churilova, A., Jaroshevich, O., Baranova, K., and Samoilov, M. (2008) Preconditioning induces prolonged expression of transcription factors pCREB and NF- κ B in the neocortex of rats before and following severe hypobaric hypoxia, *J. Neurochem.*, **106**, 1450–1458.
 23. Stroeve, S.A., Tjulakova, E.I., Tugoy, I.A., Gluschenko, T.S., Samoilov, M.O., and Peltto-Huikko, M. (2007) Effects of preconditioning by mild hypobaric hypoxia on the expression of manganese superoxide dismutase in the rat hippocampus, *Neurochem. J.*, **1**, 312–317.
 24. del Zoppo, G.J., Becker, K.J., and Hallenbeck, J.M. (2001) Inflammation after stroke: is it harmful? *Arch. Neurol.*, **58**, 669–672.
 25. Bowen, K.K., Naylor, M., and Vemuganti, R. (2006) Prevention of inflammation is a mechanism of preconditioning-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia, *Neurochem. Int.*, **49**, 127–135.
 26. Carr-White, G., Koh, T., DeSouza, A., Haxby, E., Kemp, M., and Hooper, J. (2004) Chronic stable ischaemia protects against myocyte damage during beating heart coronary surgery, *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, **25**, 772–778.
 27. Hazell, A.S. (2007) Excitotoxic mechanisms in stroke: an update of concepts and treatment strategies, *Neurochem. Int.*, **50**, 941–953.
 28. Liu, Y.X., Zhang, M., Liu, L.Z., Cui, X., Hu, Y.Y., and Li, W.B. (2012) The role of glutamate transporter-1a in the induction of brain ischemic tolerance in rats, *Glia*, **60**, 112–124.
 29. Zhang, M., Li, W.B., Geng, J.X., Li, Q.J., Sun, X.C., and Xian, X.H. (2007) The upregulation of glial glutamate transporter-1 participates in the induction of brain ischemic tolerance in rats, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **27**, 1352–1368.
 30. Rochelle, D., and Schwartz-Bloom, R.S. (2001) Gamma-aminobutyric acid a neurotransmission and cerebral ischemia, *J. Neurochem.*, **77**, 353–371.
 31. Dave, K.R., Lange-Asschenfeldt, C., Raval, A.P., Prado, R., Busto, R., and Saul, I. (2005) Ischemic preconditioning ameliorates excitotoxicity by shifting glutamate/gamma-aminobutyric acid release and biosynthesis, *J. Neurosci. Res.*, **82**, 665–673.
 32. Dave, K.R., DeFazio, R.A., Raval, A.P., Torraco, A., Saul, I., and Barrientos, A. (2008) Ischemic preconditioning targets the respiration of synaptic mitochondria via protein kinase C epsilon, *J. Neurosci.*, **28**, 4172–4182.
 33. Dave, K.R., Saul, I., Busto, R., Ginsberg, M.D., Sick, T.J., and Perez-Pinzon, M.A. (2001) Ischemic preconditioning preserves mitochondrial function after global cerebral ischemia in rat hippocampus, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **21**, 1401–1410.
 34. Waldenstrom, A., Haney, M., Biber, B., Kaviani-pour, M., Moritz, T., and Strandén, P. (2010) Ischaemic preconditioning is related to decreasing levels of extracellular adenosine that may be metabolically useful in the at-risk myocardium: an experimental study in the pig, *Acta Physiol. (Oxford)*, **199**, 1–9.
 35. Yoneda, T., Benedetti, C., Urano, F., Clark, S.G., Harding, H.P., and Ron, D. (2004) Compartment-specific perturbation of protein handling activates genes encoding mitochondrial chaperones, *J. Cell Sci.*, **117**, 4055–4066.
 36. DeGracia, D.J., and Hu, B.R. (2007) Irreversible translation arrest in the reperfused brain, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **27**, 875–893.
 37. Ghaemmaghami, S., Huh, W.K., Bower, K., Howson, R.W., Belle, A., and Dephoure, N. (2003) Global analysis of protein expression in yeast, *Nature*, **425**, 737–741.
 38. Hebert, D.N., and Molinari, M. (2007) In and out of the ER: protein folding, quality control, degradation, and related human diseases, *Physiol. Rev.*, **8**, 1377–1408.
 39. Liu, C., Chen, S., Kamme, F., and Hu, B.R. (2005) Ischemic preconditioning prevents protein aggregation after transient cerebral ischemia, *Neuroscience*, **134**, 69–80.
 40. Balduini, W., Carloni, S., and Buonocore, G. (2009) Autophagy in hypoxia-ischemia induced brain injury: Evidence and speculations, *Autophagy*, **5**, 221–223.
 41. Shintani, T., and Klionsky, D.J. (2004) Autophagy in health and disease: a double-edged sword, *Science*, **306**, 990–995.
 42. Park, H.K., Chu, K., Jung, K.H., Lee, S.T., Bahn, J.J., and Kim, M. (2009) Autophagy is involved in the ischemic preconditioning, *Neurosci. Lett.*, **451**, 16–19.

43. McStay, G.P., Salvesen, G.S., and Green, D.R. (2008) Overlapping cleavage motif selectivity of caspases: implications for analysis of apoptotic pathways, *Cell Death Differ.*, **15**, 322–331.
44. Salvesen, G.S. (2002) Caspases and apoptosis, *Essays Biochem.*, **38**, 9–19.
45. Troy, C.M., and Salvesen, G.S. (2002) Caspases on the brain, *J. Neurosci. Res.*, **69**, 145–150.
46. Namura, S., Zhu, J., Fink, K., Endres, M., Srinivasan, A., Tomaselli, K.J., Yuan, J., and Moskowitz, M.A. (1998) Activation and cleavage of caspase-3 in apoptosis induced by experimental cerebral ischemia, *J. Neurosci.*, **18**, 3659–3668.
47. Clark, R.S., Kochanek, P.M., Chen, M., Watkins, S.C., Marion, D.W., Chen, J., Hamilton, R.L., Loeffert, J.E., and Graham, S.H. (1999) Increases in Bcl-2 and cleavage of caspase-1 and caspase-3 in human brain after head injury, *FASEB J.*, **13**, 813–821.
48. Kuida, K., Zheng, T.S., Na, S., Kuan, C., Yang, D., Karasuyama, H., Rakic, P., and Flavell, R.A. (1996) Decreased apoptosis in the brain and premature lethality in CPP32-deficient mice, *Nature*, **384**, 368–372.
49. Khalil, H., Peltzer, N., Walicki, J., Yang, J.Y., Dubuis, G., Gardiol, N., Held, W., Bigliardi, P., Marsland, B., Liaudet, L., and Widmann, C. (2012) Caspase-3 protects stressed organs against cell death, *Mol. Cell Biol.*, **32**, 4523–4533.
50. Yang, J.Y., Michod, D., Walicki, J., Murphy, B.M., Kasibhatla, S., Martin, S.J., and Widmann, C. (2004) Partial cleavage of RasGAP by caspases is required for cell survival in mild stress conditions, *Mol. Cell Biol.*, **24**, 10425–10436.
51. Launay, S., Hermine, O., Fontenay, M., Kroemer, G., Solary, E., and Garrido, C. (2005) Vital functions for lethal caspases, *Oncogene*, **24**, 5137–5148.
52. Cowan, K.N., Leung, W.C., Mar, C., Bhattacharjee, R., Zhu, Y., and Rabinovitch, M. (2005) Caspases from apoptotic myocytes degrade extracellular matrix: a novel remodeling paradigm, *FASEB J.*, **19**, 1848–1850.
53. Krebs, J.F., Srinivasan, A., Wong, A.M., Tomaselli, K.J., Fritz, L.C., and Wu, J.C. (2000) Heavy membrane-associated caspase 3: identification, isolation, and characterization, *Biochemistry*, **39**, 16056–16063.
54. Denault, J.B., and Salvesen, G.S. (2003) Human caspase-7 activity and regulation by its N-terminal peptide, *J. Biol. Chem.*, **278**, 34042–34050.
55. Pelletier, M., Cartron, P.F., Delaval, F., Meflah, K., Vallette, F.M., and Oliver, L. (2004) Caspase 3 activation is controlled by a sequence located in the N-terminus of its large subunit, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **316**, 93–99.
56. Ditzel, M., Broemer, M., Tenev, T., Bolduc, C., Lee, T.V., Rigbolt, K.T., Elliott, R., Zvelebil, M., Blagoev, B., Bergmann, A., and Meier, P. (2008) Inactivation of effector caspases through nondegradative polyubiquitylation, *Mol. Cell*, **32**, 540–553.
57. Pelletier, M., Oliver, L., Meflah, K., and Vallette, F.M. (2005) Caspase-3 can be pseudo-activated by a Ca²⁺-dependent proteolysis at a non-canonical site, *FEBS Lett.*, **579**, 2364–2368.
58. Faleiro, L., Kobayashi, R., Fearnhead, H., and Lazebnik, Y. (1997) Multiple species of CPP32 and Mch2 are the major active caspases present in apoptotic cells, *EMBO J.*, **16**, 2271–2281.
59. Miller, M.A., Karacay, B., Zhu, X., O'Dorisio, M.S., and Sandler, A.D. (2006) Caspase 8L, a novel inhibitory isoform of caspase 8, is associated with undifferentiated neuroblastoma, *Apoptosis*, **11**, 15–24.
60. Beaujouin, M., Baghdiguian, S., Glondu-Lassis, M., Berchem, G., and Liaudet-Coopman, E. (2006) Overexpression of both catalytically active and inactive cathepsin D by cancer cells enhances apoptosis-dependent chemosensitivity, *Oncogene*, **25**, 1967–1973.
61. Levine, B., and Kroemer, G. (2008) Autophagy in the pathogenesis of disease, *Cell*, **132**, 27–42.
62. Пархитыко А.А., Фаворова О.О., Хенске Э.П. (2013) Аутофагия: механизмы, регуляция и роль в развитии опухолей, *Биохимия*, **78**, 466–480.
63. Ossovskaya, V.S., and Bunnnett, N.W. (2004) Protease-activated receptors: contribution to physiology and disease, *Physiol. Rev.*, **84**, 579–621.
64. Vu, T.K., Hung, D.T., Wheaton, V.I., and Coughlin, S.R. (1991) Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation, *Cell*, **64**, 1057–1068.
65. Bohm, S.K., Khitin, L.M., Grady, E.F., Aponte, G., Payan, D.G., and Bunnnett, N.W. (1996) Mechanisms of desensitization and resensitization of proteinase-activated receptor-2, *J. Biol. Chem.*, **271**, 22003–22016.
66. Luo, W., Wang, Y., and Reiser, G. (2007) Protease-activated receptors in the brain: receptor expression, activation, and functions in neurodegeneration and neuroprotection, *Brain Res. Rev.*, **56**, 331–345.
67. Striggow, F., Riek-Burchardt, M., Kiesel, A., Schmidt, W., Henrich-Noack, P., Breder, J., Krug, M., Reymann, K.G., and Reiser, G. (2001) Four different types of protease-activated receptors are widely expressed in the brain and are up-regulated in hippocampus by severe ischemia, *Eur. J. Neurosci.*, **14**, 595–608.
68. Давыдова О.Н., Яковлев А.А., Лыжин А.А., Хаспекоев Л.Г., Гуляева Н.В. (2010) Депривация ростовых факторов приводит к специфическому повышению экспрессии мРНК рецептора PAR-2 в первичных клеточных культурах мозжечка, *Нейрохимия*, **27**, 309–314.
69. Yakovlev, A.A., Kvichansky, A.A., Lyzhin, A.A., Khaspekoy, L.G., and Gulyaeva, N.V. (2013) Glutamate treatment and preconditioning differently affect cathepsin B release and intracellular proteases in primary cultures of cerebellar granular cells, *Neurochem. J.*, **30**, 117–127.
70. Jin, G., Hayashi, T., Kawagoe, J., Takizawa, T., Nagata, T., Nagano, I., Syoji, M., and Abe, K. (2005) Deficiency of PAR-2 gene increases acute focal ischemic brain injury, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **25**, 302–313.
71. База данных MEROPS, <http://merops.sanger.ac.uk/>
72. Schilling, O., and Overall, C.M. (2008) Proteome-derived, database-searchable peptide libraries for identifying protease cleavage sites, *Nature Biotechnol.*, **26**, 685–694.
73. Verspurten, J., Gevaert, K., Declercq, W., and Vandenaabeele, P. (2009) SitePredicting the cleavage of proteinase substrates, *Trends Biochem. Sci.*, **34**, 319–323.
74. <http://www.dnbr.ugent.be/prx/bioit2-public/SitePrediction/index.php>
75. Онуфриев М.В., Яковлев А.А., Лыжин А.А., Степаничев М.Ю., Хаспекоев Л.Г., Гуляева Н.В. (2009) Секретируемая каспаза-3-подобная активность при кислых значениях pH принадлежит катепсину В: исследование на первичных клеточных культурах мозга, *Биохимия*, **74**, 346–354.
76. Яковлев А.А., Гороховатский А.Ю., Онуфриев М.В., Белецкий И.П., Гуляева Н.В. (2008) Катепсин мозга способен расщеплять субстрат каспазы, *Биохимия*, **73**, 408–413.
77. Mort, J.S., and Recklies, A.D. (1986) Interrelationship of active and latent secreted human cathepsin B precursors, *Biochem. J.*, **233**, 57–63.
78. Pietras, R.J., and Roberts, J.A. (1981) Cathepsin B-like enzymes. Subcellular distribution and properties in neoplastic and control cells from human ectocervix, *J. Biol. Chem.*, **256**, 8536–8544.

79. Sloane, B.F., Moin, K., Sameni, M., Tait, L.R., Rozhin, J., and Ziegler, G. (1994) Membrane association of cathepsin B can be induced by transfection of human breast epithelial cells with c-Ha-ras oncogene, *J. Cell Sci.*, **107**, 373–384.
80. Guinec, N., Dalet-Fumeron, V., and Pagano, M. (1992) Quantitative study of the binding of cysteine proteinases to basement membranes, *FEBS Lett.*, **308**, 305–308.
81. Barrett, A.J., and Kirschke, H. (1981) Cathepsin B, Cathepsin H, and cathepsin L, *Methods Enzymol.*, **80**, 535–561.
82. Rowan, A.D., Feng, R., Konishi, Y., and Mort, J.S. (1993) Demonstration by electrospray mass spectrometry that the peptidyl dipeptidase activity of cathepsin B is capable of rat cathepsin B C-terminal processing, *Biochem. J.*, **294**, 923–927.
83. Pohl, J., Davinic, S., Blaha, I., Strop, P., and Kostka, V. (1987) Chromophoric and fluorophoric peptide substrates cleaved through the dipeptidyl carboxypeptidase activity of cathepsin B, *Anal. Biochem.*, **165**, 96–101.
84. Polgar, L., and Csoma, C. (1987) Dissociation of ionizing groups in the binding cleft inversely controls the endo- and exopeptidase activities of cathepsin B, *J. Biol. Chem.*, **262**, 14448–14453.
85. Takahashi, T., Dehdarani, A.H., Yonezawa, S., and Tang, J. (1986) Porcine spleen cathepsin B is an exopeptidase, *J. Biol. Chem.*, **261**, 9375–9381.
86. Khouri, H.E., Plouffe, C., Hasnain, S., Hirama, T., Storer, A.C., and Menard, R. (1991) A model to explain the pH-dependent specificity of cathepsin B-catalysed hydrolyses, *Biochem. J.*, **275**, 751–757.
87. Willenbrock, F., and Brocklehurst, K. (1985) A general framework of cysteine-proteinase mechanism deduced from studies on enzymes with structurally different analogous catalytic-site residues Asp-158 and -161 (papain and actinidin), Gly-196 (cathepsin B) and Asn-165 (cathepsin H). Kinetic studies up to pH 8 of the hydrolysis of N-alpha-benzyloxycarbonyl-L-arginyl-L-arginine 2-naphthylamide catalysed by cathepsin B and of L-arginine 2-naphthylamide catalysed by cathepsin H, *Biochem. J.*, **227**, 521–528.
88. Turk, B., Bieth, J.G., Bjork, I., Dolenc, I., Turk, D., Cimerman, N., Kos, J., Colic, A., Stoka, V., and Turk, V. (1995) Regulation of the activity of lysosomal cysteine proteinases by pH-induced inactivation and/or endogenous protein inhibitors, cystatins, *Biol. Chem. Hoppe Seyler*, **376**, 225–230.
89. Afkhami-Goli, A., Noorbakhsh, F., Keller, A.J., Vergnolle, N., Westaway, D., Jhamandas, J.H., Andrade-Gordon, P., Hollenberg, M.D., Arab, H., Dyck, R.H., and Power, C. (2007) Proteinase-activated receptor-2 exerts protective and pathogenic cell type-specific effects in Alzheimer's disease, *J. Immunol.*, **179**, 5493–5503.
90. Khan, M.Y., Agarwal, S.K., and Ahmad, S. (1992) Structure-activity relationship in buffalo spleen cathepsin B, *J. Biochem.*, **111**, 732–735.
91. Medina, D.L., Fraldi, A., Bouche, V., Annunziata, F., Mansueto, G., Spampinato, C., Puri, C., Pignata, A., Martina, J.A., Sardiello, M., Palmieri, M., Polishchuk, R., Puertollano, R., and Ballabio, A. (2011) Transcriptional activation of lysosomal exocytosis promotes cellular clearance, *Dev. Cell*, **21**, 421–430.
92. Jaiswal, J.K., Andrews, N.W., and Simon, S.M. (2002) Membrane proximal lysosomes are the major vesicles responsible for calcium-dependent exocytosis in nonsecretory cells, *Cell Biol.*, **159**, 625–635.
93. Li, D., Ropert, N., Koulakoff, A., Giaume, C., and Oheim, M. (2008) Lysosomes are the major vesicular compartment undergoing Ca²⁺-regulated exocytosis from cortical astrocytes, *J. Neurosci.*, **28**, 7648–7658.
94. Reddy, A., Caler, E.V., and Andrews, N.W. (2001) Plasma membrane repair is mediated by Ca²⁺-regulated exocytosis of lysosomes, *Cell*, **106**, 157–169.
95. Annunziata, I., Patterson, A., Helton, D., Hu, H., Moshiah, S., Gomero, E., Nixon, R., and d'Azzo, A. (2013) Lysosomal NEU1 deficiency affects amyloid precursor protein levels and amyloid-β secretion via deregulated lysosomal exocytosis, *Nature Commun.*, **4**, 2734.
96. Dou, Y., Wu, H.J., Li, H.Q., Qin, S., Wang, Y.E., Li, J., Lou, H.F., Chen, Z., Li, X.M., Luo, Q.M., and Duan, S. (2012) Microglial migration mediated by ATP-induced ATP release from lysosomes, *Cell Res.*, **22**, 1022–1033.
97. Chen, G., Zhang, Z., Wei, Z., Cheng, Q., Li, X., Li, W., Duan, S., and Gu, X. (2012) Lysosomal exocytosis in Schwann cells contributes to axon remyelination, *Glia*, **60**, 295–305.
98. Papadakis, M., Hadley, G., Xilouri, M., Hoyte, L.C., Nagel, S., McMenamin, M.M., Tsaknakis, G., Watt, S.M., Drakesmith, C.W., Chen, R., Wood, M.J., Zhao, Z., Kessler, B., Vekrellis, K., and Buchan, A.M. (2013) Tsc1 (hamartin) confers neuroprotection against ischemia by inducing autophagy, *Nature Med.*, **19**, 351–357.
99. Cavallo-Medved, D., Dosescu, J., Linebaugh, B.E., Sameni, M., Rudy, D., and Sloane, B.F. (2003) Mutant K-ras regulates cathepsin B localization on the surface of human colorectal carcinoma cells, *Neoplasia*, **5**, 507–519.
100. Almeida, P.C., Nantes, I.L., Chagas, J.R., Rizzi, C.C., Faljoni-Alario, A., Carmona, E., Juliano, L., Nader, H.B., and Tersariol, I.L. (2001) Cathepsin B activity regulation. Heparin-like glycosaminoglycans protect human cathepsin B from alkaline pH-induced inactivation, *J. Biol. Chem.*, **276**, 944–951.

POSSIBLE ROLE OF PROTEASES IN PRECONDITIONING OF BRAIN CELLS TO PATHOLOGICAL CONDITIONS

A. A. Yakovlev, N. V. Gulyaeva*

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow 117485, Russia; E-mail: nata_gul@yahoo.com

Received October 3, 2014

Revision received October 21, 2014

Preconditioning is one of the most effective strategies to reduce the severity of brain damage. Preconditioning mechanisms are well studied, and it has been shown that proteases are involved in preconditioning, but the role of proteases has not been investigated in detail. We propose several mechanisms recruiting proteases in preconditioning. Our attention is focused on the caspase and cathepsins families of proteases, as well as protease receptors. We present evidence that these proteins are involved in the preconditioning of brain cells.

Key words: preconditioning, brain, protease, caspase, cathepsin, protease receptors