

## ОБЗОРЫ

УДК 577.151.6

©Коллектив авторов

### ОКСИДАЗЫ L-АМИНОКИСЛОТ: СВОЙСТВА И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

*Е.В. Лукашева<sup>1\*</sup>, А.А. Ефремова<sup>1</sup>, Е.М. Трещалина<sup>2</sup>, А.Ю. Аринбасарова<sup>3</sup>,  
А.Г. Меденцев<sup>3</sup>, Т.Т. Березов<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Российский Университет Дружбы Народов, медицинский факультет, кафедра биохимии, ул. Миклухо-Маклая, 6, 117198 Москва; факс: (095)434-04-12;  
эл. почта: elena.lash@yandex.ru

<sup>2</sup>РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;  
эл. почта: treshalina@nm.ru

<sup>3</sup>Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, 142290 Пущино, Московская обл., пр. Науки, 5; факс: (495)956-33-70;  
эл. почта: aarin@ibpm.pushchino.ru

За последние 10–15 лет оксидазы L-аминокислот (LAAO) стали предметом интенсивного изучения в силу их разнообразного действия на различные биологические объекты. В обзоре суммирована информация об источниках, строении, физико-химических и каталитических свойствах LAAO. Приведены данные о бактериостатических, бактерицидных, противогрибковых, противопротозойных, противовирусных, антипролиферативных и противоопухолевых эффектах этих ферментов, а также о неоднозначном о влиянии на агрегацию тромбоцитов. Особое внимание уделено анализу данных литературы, посвященных выяснению молекулярных механизмов действия LAAO.

Основой проявляемых LAAO уникальных свойств является, вероятно, снижение под их действием уровня пула аминокислот (в том числе и незаменимых), а также образование пероксида водорода, влияние которого на клетки опосредовано через АФК и развитие ряда биологических механизмов апоптоза и некроза. Наличие углеводных компонентов в молекулах LAAO способствует их связыванию с поверхностью клеток и созданию высоких локальных концентраций пероксида водорода. Широкий спектр биологических эффектов LAAO *in vivo* разнообразен и опосредован, как правило, их функциональным значением, например, в головном мозге мышей катализируемая LAAO реакция является единственным путём превращения L-лизина, в молоке мышей LAAO выполняет бактерицидную функцию, а в лейкоцитах LAAO принимают участие в реализации их системного противомикробного действия. Протекторный эффект можно также отнести и к оксидазам из других многочисленных источников: микроскопических грибов, ядов змей и морских организмов.

**Ключевые слова:** оксидазы L-аминокислот (LAAO), L-лизин-альфа-оксидаза, цитотоксичность, противоопухолевые свойства, противовирусные свойства, апоптоз.

**ВВЕДЕНИЕ.** До 90-х годов прошлого столетия научные исследования оксидаз L-аминокислот (LAAO) были, в основном, посвящены их ферментативным и физико-химическим свойствам [1-4]. В последние десятилетия интерес к LAAO существенно возрос. Разработаны лабораторные методы выделения и очистки LAAO из многочисленных источников разной природы, изучена первичная структура, а также пространственная структура ряда оксидаз [5-8]. Получено много интересных данных о биологических эффектах оксидаз L-аминокислот [9-16].

\* - адресат для переписки

## ОКСИДАЗЫ L-АМИНОКИСЛОТ: СВОЙСТВА И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ

В настоящем обзоре при обобщении современной информации об LAAO особое внимание было уделено возможным молекулярным механизмам действия LAAO на биологические системы, а также выяснению связи биологического действия LAAO с типом катализируемой реакции и особенностями структуры молекул ферментов.

### 1. КАТАЛИЗИРУЕМАЯ РЕАКЦИЯ И ИСТОЧНИКИ LAAO.

Оксидазы L-аминокислот (Е.С. 1.4.3.2) катализируют окислительное дезаминирование L-аминокислот с образованием пероксида водорода и соответствующей α-иминокислоты. Иминокислота далее неферментативно гидролизуется до α-кетокислоты и иона аммония (рисунок). LAAO - это флавин-содержащие ферменты, характерной особенностью которых является высокая стереоспецифичность по отношению к L-изомерам аминокислот.

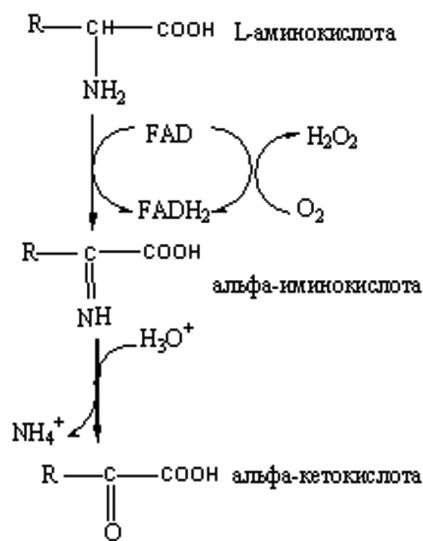


Рисунок.

Схема реакции, катализируемой оксидазами L-аминокислот.

LAAO широко представлены в природе: они обнаружены у многих видов змей [17–21], насекомых [22], некоторых видов бактерий [23–29], грибов [30–33], водорослей [34, 35], моллюсков и рыб [36–41]. У млекопитающих LAAO выделены из печени, почек, мозга [42, 43], секрета молочных желёз (у мышей) [44], и из полиморфноядерных лейкоцитов [45]. В зависимости от источника LAAO различаются по своим физико-химическим и биохимическим свойствам: молекулярной массе, степени гликозилирования молекулы, субстратной специфичности и по тому, каким образом осуществляется регуляция их синтеза в организме. Существенные отличия аминокислотных последовательностей в молекулах LAAO из различных источников свидетельствуют о том, что в ходе эволюции от предполагаемого белка-предшественника эти ферменты подверглись значительным изменениям [21].

### 2. СТРОЕНИЕ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОКСИДАЗ L-АМИНОКИСЛОТ.

Чаще всего LAAO по строению являются димерными гликопротеинами, состоящими из двух идентичных субъединиц, каждая из которых прочно, но не ковалентно связана с молекулой кофермента [21]. LAAO из различных источников содержат FAD в качестве кофермента, за исключением нескольких LAAO, которые, как сообщают авторы, содержат FMN [19, 46]. На спектре оптического поглощения LAAO имеются максимумы при 380 и 465 нм, характерные для FAD-зависимых ферментов [3].

В литературе имеются немногочисленные сообщения о проявлении ферментативной активности LAAO, выделенных из яда змей в мономерной форме: LAAO щитомордника (*Agkistrodon halys blomhoffii*) [47], хабу (*Trimeresurus*

*flavoviridis*) [48], гадюки Рассела (*Daboia russelli russelli*) [49]. Интересно отметить, что LAAO, обнаруженные в тканях и чернилах у морских зайцев (моллюсков), имеют также мономерное строение [39, 50, 51]. Однако большинство LAAO функционально активны в димерной форме [21].

Молекулярная масса большинства полученных в чистом виде ферментов, определённая с помощью метода гель-фильтрации, составляет около 100–150 кДа, масса субъединиц 50–70 кДа при анализе методом электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия [21]. Изоэлектрическая точка LAAO лежит в достаточно широком диапазоне – от pH 4,35 (*Trichoderma viride*) до pH 8,12 (*Naja naja kaouthia*) [20, 30].

Имеются данные о пространственной структуре фермента crLAAO из яда щитомордника малайского (*Calloselasma rhodostoma*), полученные методом рентгеновской кристаллографии высокого разрешения [5, 52]. Согласно этим данным, LAAO представляет компактный глобулярный белок, состоящий, в основном, из  $\alpha$ - и  $\beta$ -структур с доминирующей конформацией  $\alpha$ -спиралей. Исследования структуры фермента подтвердили, что функционально LAAO из этого источника является димером. Каждая субъединица включает три части: FAD-связывающий домен, субстрат-связывающий домен и домен с доминированием  $\alpha$ -спиралей. Конформация фермента такова, что активный центр “спрятан” внутри молекулы: он расположен в основании длинного канала протяженностью около 25 Å вглубь от поверхности молекулы белка [52].

A. Faust с соавторами в 2007 году представили данные о кристаллической структуре LAAO из грамположительной аэробной неспорообразующей бактерии *Rhodococcus opacus*, получившей название goLAAO [8]. Фермент, в противоположность crLAAO (LAAO из *Calloselasma rhodostoma*), не содержит канала, ориентирующего субстрат к активному центру, чем, по-видимому, объясняется его более широкая субстратная специфичность по сравнению с crLAAO [23].

Значительное сходство в строении LAAO из различных источников чаще всего обнаруживалось в FAD-связывающем домене. Сходные структурные особенности были выявлены также с оксидазами D-аминокислот (DAAO), выделенными из почки свиньи и из дрожжей *Rhodotorula gracilis*, а также с моноаминоксидазой (MAO), полиаминоксидазой (ПАО) и белками семейства GR<sub>2</sub> (семейство флавин-зависимых оксидоредуктаз), что свидетельствует о возможной эволюционной связи этих ферментов. Стоит отметить, что в отличие от оксидаз L-аминокислот, DAAO, ПАО и MAO не содержат в своей структуре спирального домена. Спиральные же домены crLAAO и goLAAO заметно отличаются, что отражается в образовании димерной структуры. Кроме того, структурные различия DAAO от LAAO могут быть объяснены часто встречающимися углеводными компонентами в их молекулах.

### 3. СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ.

Значительные отличия выявлены в субстратной специфичности выделенных из различных источников LAAO. Исследования активности ферментов преимущественно проводилось методом, сопряженным с использованием пероксидазы. Субстратами для большинства ферментов, выделенных из яда змей, являются гидрофобные и ароматические L-аминокислоты, такие как L-лейцин, L-фенилаланин, L-изолейцин [6, 21, 53, 54]. LAAO королевской кобры (*Ophiophagus hannah*) в дополнение к гидрофобным аминокислотам активна также по отношению к L-лизину и L-орнитину [55, 56]. LAAO лейкоцитов человека (H4i1) проявляла высокую активность в отношении гидрофобных аминокислот и, в частности, она активно окисляла ароматические L-аминокислоты: фенилаланин, тирозин и триптофан [57].

Бактериальная LAAO, полученная от *Rhodococcus opacus*, катализирует превращение практически всех L-аминокислот, входящих в состав белков, за исключением L-глицина, L-пролина и L-треонина [23]. Такая широкая субстратная специфичность, как уже указывалось выше, объясняется строением активного центра фермента.

## ОКСИДАЗЫ L-АМИНОКИСЛОТ: СВОЙСТВА И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ

В противоположность бактериальной LAAO, активность преимущественно по отношению только к L-лизину проявляют ферменты, выделенные из рыб и других морских организмов: *Sebastes schlegelii* – SSAP [37], *Aplysia californica* – Escapin [40], *Aplysia punctata* – APIT [39], *Chub mackerel* – AIP [58], *Myoxocephalus polyacanthocephalus* – MPLAO3 [7], а также из различных штаммов грибов рода *Trichoderma* (L-лизин- $\alpha$ -оксидазы) [30, 59].

### 4. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОКСИДАЗ L-АМИНОКИСЛОТ.

За последние 10–15 лет LAAO стали предметом интенсивного изучения в силу их широкого многообразного биологического действия на различные биообъекты. В частности, были обнаружены бактериостатические, бактерицидные, противогрибковые, противопротозойные, противовирусные, антипролиферативные и противоопухолевые свойства этих ферментов, а также неоднозначное влияние на агрегацию тромбоцитов.

4.1. Антибактериальные, противовирусные и антипротозойные свойства LAAO. Антибактериальные свойства впервые были показаны у LAAO из яда гремучника ромбического *Crotalus adamanteus* [60]. Позднее у LAAO был обнаружен широкий спектр антибактериальной активности, а также противовирусные и антипротозойные свойства (таблица).

Таблица. Антибактериальные, противовирусные и антипротозойные свойства оксидаз L-аминокислот из различных источников.

| №   | Источник LAAO  | Вид, в отношении которого LAAO проявляет активность  | Ссылка   |
|-----|--|--|----------|
| 1.  | Яд куфии <i>Trimeresurus jerdoni</i>   | <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>   | [16]     |
| 2.  | Яд ботрикса полудунного <i>Bothrops alternatus</i>                                     | <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>  | [61]     |
| 3.  | Яд гюрзы <i>Vipera lebetina</i>  | <i>Bacillus subtilis</i> , <i>E. coli</i>  | [62]     |
| 4.  | Яд каскавеллы <i>Crotalus durissus cascavella</i>                                      | <i>S. mutans</i> , <i>Xanthomonas axonopodis pv passiflorae</i>  | [63]     |
| 5.  | Слизь с поверхности тела гигантской африканской улитки <i>Achatina fulica</i> Ferussac | <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i>   | [38, 64] |
| 6.  | Чернила морского зайца <i>Aplysia californica</i>                                      | <i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Vibrio harveyi</i>  | [50]     |
| 7.  | Слизь морского окуна <i>Sebastes schlegelii</i>  | <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Aeromonas salmonicida</i> , <i>Photobacterium damselae</i> subsp. <i>Piscicida</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | [37]     |
| 8.  | Слизь камбала звездчатой <i>Platichthys stellatus</i>                                  | <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , в т.ч. метициллин-устойчивые  | [65]     |
| 9.  | <i>Trichoderma harzianum</i> Rifai   | ВИЧ, вирусы генитального и простого герпеса  | [66–68]  |
| 10. | Яд китайской зелёной древесной куфии <i>Trimeresurus stegneri</i>                      | ВИЧ  | [69]     |
| 11. | Яд жарараки <i>Bothrops jararaca</i>   | Вирус Денге  | [14]     |
| 12. | Яд <i>Bothrops pirajai</i>   | Промастиготы различных видов <i>Leishmania</i>   | [70]     |
| 13. | Яд <i>Bothrops moojeni</i>   | <i>Trypanosoma cruzi</i>   | [71]     |



#### 4.2. Антипролиферативные и противоопухолевые свойства ЛААО.

Цитотоксический эффект ЛААО был продемонстрирован на различных моделях опухолей животных и человека: саркоме S180, раке молочной железы SKBR-3, асцитной опухоли Эрлиха EAT [70], Т-лимфобластной лейкемии Jurkat [70, 72] и C8166 [69], промиелоцитарном лейкозе человека HL-60 [19, 73], карциноме шейки матки HeLa [10, 74, 75], глиоме [76], карциноме яичников человека A2780 [73], Т-клеточном лейкозе мышей EL-4 [11], хроническом миелолейкозе человека K562 [10].

Суммируя изложенное выше, можно сказать, что широкий спектр различных видов фармакологической активности оксидаз L-аминокислот несомненно демонстрирует большие перспективы использования этих ферментов в качестве лекарственных средств, и, особенно, в онкологии.

### 5. ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ОКСИДАЗ L-АМИНОКИСЛОТ.

5.1. Механизмы биологического действия, связанные с образованием активных форм кислорода (АФК). В многочисленных исследованиях было показано, что биологическое действие оксидаз L-аминокислот связано с образованием пероксида водорода в катализируемой ими реакции (рисунок) [7, 30, 37–41, 51, 73, 77]. В присутствии каталазы, известного фермента, разрушающего пероксид водорода, было показано уменьшение, либо полное исчезновение цитостатического действия ЛААО. Так, эффект TSV-ЛААО на опухолевые клетки C8166 уменьшался в 16 раз в присутствии каталазы, но не исчезал полностью [69]. Цитотоксическое влияние L-лизин- $\alpha$ -оксидазы из *Trichoderma viride* Y-244 также снижалось при добавлении в среду каталазы [78]. На примере фермента AchaScin было показано, что антибактериальная активность ЛААО также связана с появлением пероксида водорода и устраняется добавлением в среду каталазы [38].

Пероксид водорода, являясь активной формой кислорода, способен вызывать в зависимости от концентрации повреждение ДНК и гибель клетки, как путём некроза, так и путем апоптоза [79]. Эти механизмы гибели клеток сопровождаются набором характерных биохимических и цитологических изменений, которые и были исследованы в последующих работах. В роли генетических индукторов апоптоза, срабатывающих в ответ на рецепторный сигнал, могут выступать гены Fas/APO-1-семейства: *c-myc*, *max*, *p53*, *ced-3* и др. Продукт гена *Fas* – клеточный рецептор CD95, мишень белка Fas-лиганда – “сигнала смерти”. Подавление экспрессии некоторых генов, например, семейства *Bcl-2*, также вызывает апоптоз. К настоящему времени детальное изучение механизмов, с помощью которых продукты этих генов запускают или сдерживают апоптоз, не закончено. Однако уже выяснено, что они могут усиливать образование активных кислородных радикалов, как белок APO-1, гомологичный рецептору фактора некроза опухолей (ФНО), регулировать перенос кальция в цитоплазму (как продукт гена *Bcl-2*), увеличивать активность нейтральных протеаз цитозоля (как продукт гена *ced-3*) или связываться с ДНК (как димер белков *myc-max*) [80].

При действии пероксида водорода на клетки образуются и другие активные формы кислорода (АФК), что приводит к изменению трансмембранного потенциала митохондрий. В условиях умеренного повреждения клетки в отсутствие гипоксии происходит восстановление трансмембранного потенциала митохондрий, но если антиоксидантные системы клетки не компенсируют сдвига редокс-потенциала, процесс прогрессирует. При отсутствии выраженного энергетического дефицита и сохранности генетического аппарата гибель клетки реализуется путём апоптоза, но глубокая гипоксия и выраженные повреждения ДНК инициируют некробиоз. При развитии апоптоза АФК изменяют условия взаимодействия кальция с кальмодулином и способствуют нарастанию цитоплазматической и внутриядерной активности кальция (а при блокаде гена *Bcl-2* – и росту его внутриклеточной концентрации).

В 1996 г. Suhr и Kim [81] продемонстрировали, что компонентом змеиного яда, вызывающим апоптоз, являются именно оксидазы L-аминокислот. Позднее были получены и другие сведения о способности LAAO вызывать апоптоз, например, клеток лимфолейкоза мышей, Т-лимфобластной лейкемии человека [81, 82], а также клеток промиелоцитарной лейкемии человека и почки человека [73]. ОНАР-1 (LAAO из *Trimeresurus flavoviridis*) способна индуцировать апоптоз в клетках глиом крыс C6 и человека RBR17T, U251 [76]. Антиоксиданты – каталаза и восстановленная форма глутатиона – ингибировали проапоптотический эффект ОНАР-1. Было показано, что в присутствии ОНАР-1 увеличивалась экспрессия белка p53 (медиатора апоптоза, связанного с действием стресса, в том числе вызванного пероксидом водорода). На основании этих данных авторы сделали вывод о способности LAAO, образуя пероксид водорода, вызывать апоптоз через экспрессию белка p53 в клетках глиомы.

В 2007 г. L. Zhang и L. Cui показали, что под действием АСТХ-6 (LAAO из яда *Agkistrodon acutus*) в клетках рака лёгких линии A549 увеличивается количество АФК, причём каталаза ингибировала, как образование АФК, так и запуск апоптоза [83]. Авторы также продемонстрировали, что АСТХ-6 индуцирует апоптоз за счёт индукции экспрессии белков Fas и FasL, а также c-Jun/JNK, которые играют важную роль не только в запуске запрограммированной гибели, но и участвуют в регуляции процессов дифференцировки и пролиферации клетки. Так, Fas, или APO-1 (поверхностный белок, рецептор ФНО) индуцирует гибель клеток путём связывания с Fas-лигандом (FasL). C-Jun оказывает существенное влияние на пролиферацию, дифференцировку и апоптоз клеток, а c-Jun-NH<sub>2</sub> – терминальная протеинкиназа (JNK), также известная, как стресс-активируемая протеинкиназа, регулирует эти процессы путем фосфорилирования c-Jun. Кроме того, продемонстрированное авторами участие каспаз 8 и 9 в индуцированном АСТХ-6 апоптозе говорит о вовлечённости в эти события и митохондриального пути. Повышение активности каспазы-3 и каспазы-9 (митохондриальный путь) наблюдалось также при действии выделенной из *Bothrops atrox* LAAO на клетки HL-60 [13].

Таким образом, результаты опытов, полученные на различных биологических системах с использованием LAAO из разных источников, свидетельствуют о том, что механизмы апоптоза, вызванные АФК (в частности - пероксидом водорода) действительно важны и, возможно, вовлечены в проявление биологической активности рассматриваемой группы ферментов.

5.2. Биологическое действие LAAO, связанное с молекулярными механизмами, не включающими действие АФК. За последнее время накопилось много данных о биологических эффектах LAAO, которые невозможно объяснить только действием пероксида водорода. Например, добавление каталазы приводило к значительному, но не полному уменьшению цитотоксичности LAAO из *Achantina fulica* на клетки HeLa [74], однако одновременное добавление пероксида водорода и каталазы не влияло на выживаемость клеток.

При сравнительном исследовании цитотоксического действия LAAO из яда *Agkistrodon halys* и экзогенно добавленного пероксида водорода обнаружено [82], что механизм индукции апоптоза этими агентами различен, что указывает на включение механизмов апоптоза, не связанных с образованием АФК.

Результаты, свидетельствующие, что механизм биологического действия LAAO опосредован не только действием пероксида водорода, были получены и при изучении *in vitro* анти-ВИЧ свойств TSV-LAAO из яда куфии *Trimeresurus stejnegeri* [69]. Так, в случае замены анти-ВИЧ фермента пероксидом водорода активность отсутствовала, более того, наблюдалось даже незначительное увеличение экспрессии вируса.

При инкубации LAAO из яда щитомордника малайского *Calloselasma rhodostoma* с клетками Т-лимфобластной лейкемии Jurkat в последних наблюдались изменения, характерные для некротической гибели: нарушение целостности

митохондрий с падением мембранного потенциала и нарушение метаболизма клетки, приводящее в итоге к лизису [72]. Внесение каталазы не устраняло полностью цитотоксические эффекты LAAO, но тип деструкции клетки носил признаки апоптоза, что подтверждалось не только характерными морфологическими изменениями в клетке, но также защитным действием известного ингибитора каспаз zVAD-fmk и экспрессией гена *Bcl-2*. В той же работе было показано, что инкубирование DAAO (ферментов, катализирующих аналогичную реакцию превращения D-изомеров аминокислот) с клетками Jurkat также снижало выживаемость клеток, вызывая некротическую гибель. Но добавление каталазы при этом полностью устраняло цитотоксический эффект DAAO. Полученные данные подтверждают присутствие у LAAO дополнительного механизма цитотоксического действия, не связанного с выделением пероксида водорода.

5.3. *Механизмы биологического действия LAAO, связанные с истощением запасов свободных аминокислот.* Механизм апоптотического действия LAAO, связанный с истощением запасов свободных аминокислот, был продемонстрирован следующим образом [74]. Клетки HeLa, предварительно инкубированные с Achacin (LAAO из *Achantina fulica*) в течение 48 часов и отмытые от фермента, погибали путём апоптоза, а клетки, инкубированные в среде, обеднённой предпочтительным субстратом Achacin (Арг, Лей, Лиз, Мет, Фен и Трп) погибали при морфологических изменениях, характерных для индуцированного Achacin апоптоза.

AIP был способен индуцировать апоптоз в клетках HL-60 даже в присутствии антиоксидантов, хотя и более медленно [58]. Кроме того, клеточные линии HP100-1 (сублиния HL-60, резистентная к  $H_2O_2$ ), также подвергались апоптозу, что доказывает связь индукции апоптоза с отсутствием в среде свободных аминокислот. Добавление в среду L-лизина, лучшего субстрата AIP, приводило к полному ингибированию апоптоза. Эти результаты подтверждают мнение о том, что истощение запасов аминокислот может инициировать развитие апоптоза.

На принципе исключения из среды свободной аминокислоты основано действие широко известного фермента L-аспарагиназы, широко используемого в химиотерапии некоторых видов лейкозов. L-Аспарагиназа относится к классу гидролаз и преимущественно катализирует гидролиз L-аспарагина.

Однако и механизм, связанный с истощением запасов свободных аминокислот, не объясняет результаты всех экспериментов, где наблюдалось апоптотическое действие LAAO. Внесение свободных аминокислот не предотвращало гибель клеток в среде, предварительно инкубированной с LAAO из *Calloselasma rhodostoma* [72]. Ингибирование апоптоза в эксперименте могло быть достигнуто лишь добавлением фетальной телячьей сыворотки, что свидетельствует о неизвестных пока факторах цитотоксичности LAAO.

С использованием радиоактивных изотопов *in vitro* было показано, что L-лизин- $\alpha$ -оксидаза подавляет синтез ДНК, РНК и белка в клетках мышиного лимфоаденоза Фишера

L-5178Y [84], а также карциномы яичников CaOv и лимфомы Беркитта человека [85, 86]. Методом проточной цитофлуориметрии на клетках лимфомы Беркитта изучено действие L-лизин- $\alpha$ -оксидазы на фазы клеточного цикла и показано, что фермент блокирует переход клеток из фазы S в  $G_2/M$  фазу [87].

5.4. *Механизм токсичности LAAO, связанный с взаимодействием фермента с поверхностью клетки.* В ряде работ было обнаружено связывание LAAO с поверхностью клеток, обусловленное наличием в структуре ферментов углеводных остатков, что позволяет создавать высокие локальные концентрации пероксида водорода за счёт ферментативной реакции [5, 52, 88]. Выдвинуты предположения [72], что LAAO не только связывается с поверхностью клеток линии Jurkat, но интернационализируется, выполняет свою каталитическую функцию внутри клеток и позже протеолитически расщепляется. Этот путь осуществляется благодаря углеводной части фермента, поскольку дегликозилированные препараты LAAO не способны прикрепляться к клетке и интернационализироваться.

Аналогичный механизм поглощения клеткой можно увидеть у бактериальных токсинов белковой природы *Vibrio cholerae* и *Corynebacterium diphtheriae* [89–91].

Суммируя все выше изложенные факты о различных путях реализации биологического действия LAAO на клетку, можно сказать, что эти ферменты, несомненно, опосредуют свое действие через образование АФК, выделяющихся в ходе реакции. Кроме того, их действие связано как со свойством прикрепляться к поверхности клетки и создавать локально высокие концентрации пероксида водорода, так и со способностью удалять из среды культивирования эссенциальные, т.е. необходимые для поддержания жизни клетки вещества.

#### **6. ВЛИЯНИЕ LAAO НА ТРОМБОЦИТЫ.**

Описывая биологические свойства LAAO, нельзя не упомянуть противоречивые сообщения об их влиянии на тромбоциты. Для LAAO яда змеи *Echis colorata* еще в 1982 г. была показана способность ингибировать агрегацию тромбоцитов [92], при этом добавление каталазы в среду полностью исключало этот эффект, что доказывало ключевую роль продукции пероксида для его реализации. Аналогичные данные получены для LAAO из *Echis colorata*, которая ингибировала агрегацию тромбоцитов, индуцированную ADP [92]. В то же время, LAAO из яда других змей замедляла агрегацию тромбоцитов, индуцированную агонистами [47, 55, 93].

В ряде других работ показано полностью противоположное действие на тромбоциты: LAAO из *Eristocophis macmahoni*, *Bothrops alternatus* и *Trimeresurus jerdonii* индуцировали агрегацию тромбоцитов человека через образование пероксида водорода [16, 61, 94]. При этом добавление каталазы полностью устраняло этот эффект [95]. При наличии системы креатинфосфокиназа/креатинфосфат, превращающей ADP в АТФ, ингибирования агрегации тромбоцитов не наблюдалось, тогда как добавление ингибиторов циклооксигеназы - индометацина, аспирина, а также арахидоновой кислоты, полностью снимало эффект агрегации тромбоцитов под действием LAAO. Мепакрин, ингибитор активации эндогенной фосфолипазы А2, также полностью устранял производимый LAAO эффект, что указывает на необходимость активации фосфолипазы А2 для процесса агрегации тромбоцитов. ЭДТА, связывающий ионы кальция, а, кроме того, верапамил – блокатор кальциевых каналов, также ингибировали действие LAAO, направленное на усиление агрегации тромбоцитов. Простагландин Е1, активирующий аденилатциклазу, и нитропруссид, активирующий гуанилатциклазу, полностью ингибировали агрегационный эффект LAAO. Такое действие обусловлено увеличением содержания сАМР и сGMP и нарушением движения ионов кальция, необходимых для синтеза тромбоксана А2. Суммируя изложенное, можно сказать, что пероксид водорода, выделяемый в ходе ферментативной реакции LAAO, индуцирует агрегацию тромбоцитов через активацию циклооксигеназы и, как следствие, тромбоксана А2.

#### **7. ДЕЙСТВИЕ LAAO НА ОТДЕЛЬНЫЕ ОРГАНЫ, СПОСОБНОСТЬ ФЕРМЕНТА ВЫЗЫВАТЬ ГЕМОЛИЗ И ОТЕК.**

Исследователи ещё далеки от выяснения полной картины биологического действия LAAO, в литературе появляются все новые сведения об этих ферментах. Так, показано, что LAAO из *Agkistrodon blomhoffii ussurensis* (ABU-LAAO) индуцировала высвобождение провоспалительных цитокинов – ИЛ-6, ИЛ-12 и ИЛ-2 из высокоочищенных моноцитов периферической крови, а также дозозависимо вызывала высвобождение ИЛ-6 и ИЛ-2 из Т-клеток [9]. Кроме того, обнаружено, что ABU-LAAO при внутривенном введении мышам вызывает тяжелый интерстициальный отек и геморрагии в легких и сердечной мышце, а также дегенерацию и некроз гепатоцитов.

Изучение действия LAAO из яда *Bothrops insularis* на почки показало, что фермент, повреждая клетки эндотелия сосудов почек и почечные канальцы, вызывал снижение скорости кровотока и гломерулярной фильтрации с увеличением реабсорбции натрия и хлора [96].



BF-LAAO оказывала токсическое действие на миоциты мышей, вызывая патологические изменения в икроножной мышце: фиброз, отёк, воспаление и даже рабдомиолиз [97]. Внутримышечное введение фермента дозозависимо вызывало повышение активности сывороточной креатинкиназы. В период от 6 до 16 ч после внутрибрюшинного введения LAAO наблюдалось заметное повышение числа нейтрофилов, лимфоцитов, макрофагов и тучных клеток. Способность вызывать у мышей отек конечностей и гемолиз показана и для LAAO из других источников [94]. Кровоточивость – также достаточно известный эффект, производимый LAAO, в основе патогенеза которого, как полагают, лежит способность фермента повреждать клетки сосудистого эндотелия, вызывая в них апоптоз. Причиной описанных осложнений под действием LAAO из ядов змей, обнаруженных в ряде работ [94, 97], скорее всего, является недостаточная очистка ферментов, а также использование высоких токсических доз. Как говорил ещё в 16 веке предтеча современной фармакологии Парацельс: **“Всё есть яд, и ничто не лишено ядовитости; одна лишь доза делает яд незаметным”** (в популярном изложении: *“Всё — яд, всё — лекарство; то и другое определяет доза”*).

### 8. ФУНКЦИИ LAAO В ЖИВЫХ ОРГАНИЗМАХ.

Рассматривая свойства LAAO, необходимо отметить, что широкий спектр биологического действия ферментов, несомненно, связан с выполняемыми ими функциями в организме. При исследовании обмена L-лизина в мозге мышей было показано, что единственным путем превращения этой аминокислоты является окислительное дезаминирование  $\alpha$ -аминогруппы и последующее образование  $\Delta^1$ -пиперидин-2-карбоксилата, что указывает на протекание катаболизма L-лизина в мозге через пипеколиновый путь, ключевую роль в котором играет LAAO [42].

LAAO, обнаруженная в составе молока мышей [44], обладала сильным антибактериальным действием, что может быть причиной предотвращения мастита. LAAO, найденная в составе лейкоцитов [45], образуя пероксид водорода, непосредственно участвует в выполнении лейкоцитами защитных функций.

LAAO, входящие в состав яда змей, чернил морских зайцев и слизи африканской гигантской улитки, играют роль протекторов в защите организмов от внешних агрессивных воздействий, в том числе, инфицирования. Протекторное действие описано у AIP-LAAO из японской скумбрии *Chub mackerel*, которая начинала экспрессироваться в организме рыбы только после инфицирования личинками нематоды *Anisakis simplex* [58]. Фермент был локализован в капсулах, расположенных вокруг личинки, препятствуя таким образом проникновению последней в ткани хозяина.

LAAO грибов, в частности, рода *Trichoderma*, очевидно также выполняет защитные функции: продуцируя в окружающую среду этот белок вместе с другими внеклеточными ферментами, гриб подавляет рост и развитие других микроорганизмов [98].

Функции бактериальных LAAO не так ясны, но существует предположение, что продуцируемые ими кето-кислоты способны участвовать в связывании ионов железа, подавляя таким образом процессы жизнедеятельности чужеродных клеток [23].

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** LAAO - класс ферментов, широко распространенных в природе у многочисленных организмов от бактерий и грибов до млекопитающих и человека, которые трансформируют L-альфа-аминокислоты в кетокислоты с образованием пероксида водорода. К настоящему времени получены данные о различных путях реализации биологического действия на клетку LAAO: они наделены способностью удалять из среды культивирования эссенциальные, т.е. необходимые для поддержания жизни клетки аминокислоты, имеют свойство прикрепляться к поверхности клетки и создавать локально высокие концентрации пероксида водорода, который опосредует своё действие на клетку через АФК и развитие ряда биологических механизмов апоптоза и некроза. LAAO

представляют большой интерес для исследователей, поскольку способны проявлять бактериостатический, бактерицидный, противогрибковый, противопротозойный, противовирусный, антипролиферативный и противоопухолевый эффекты. Обнаруженный широкий спектр биологического действия оксидаз L-аминокислот открывает перспективы их практического применения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Wellner D., Meister A. (1960) J. Biol. Chem., **235**, 2013-2018.
2. Curti B., Massey V., Zmudka M. (1968) J. Biol. Chem., **243**, 2306-2314.
3. Massey V., Curti B. (1967) J. Biol. Chem., **242**, 1259-1264.
4. Porter D.J., Bright H.J. (1980) J. Biol. Chem., **255**, 2969-2975.
5. Pawelek P.D., Cheah J., Coulombe R., Macheroux P., Ghisla S., Vrielink A. (2000) EMBO J., **19**(16), 4204-4215.
6. Macheroux P., Seth O., Bollschweiler C., Schwarz M., Kurfurst M., Au L.C., Ghisla S. (2001) Eur. J. Biochem., **268**, 1679-1686.
7. Nagashima Y., Tsukamoto C., Kitani Y., Ishizaki S., Nagai H., Yanagimoto T. (2009) Comp Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol., **154**(1), 55-61.
8. Faust A., Niefind K., Hummel W., Schomburg D. (2007) J. Mol. Biol., **367**(1), 234-248.
9. Wei X.L., Wei J.F., Li T., Qiao L.Y., Liu Y.L., Huang T., He S.H. (2007) Toxicon., **50**(8), 1126-1139.
10. Samel M., Vija H., Rönholm G., Siigur J., Kalkkinen N., Siigur E. (2006) Biochim. Biophys. Acta, **1764**(4), 707-714.
11. Iijima R., Kisugi J., Yamazaki M. (2003) Dev. Comp. Immunol., **27**(6-7), 505-512.
12. da Silva R.J., da Silva M.G., Vilela L.C., Fecchio D. (2002) Mediators Inflamm., **11**(2), 99-104.
13. Alves R.M., Antonucci G.A., Paiva H.H., Cintra A.C., Franco J.J., Mendonça-Franqueiro E.P., Dorta D.J., Giglio J.R., Rosa J.C., Fuly A.L., Dias-Baruffi M., Soares A.M., Sampaio S.V. (2008) Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol., **151**(4), 542-550.
14. Sant'Ana C.D., Menaldo D.L., Costa T.R., Godoy H., Muller V.D., Aquino V.H., Albuquerque S., Sampaio S.V., Monteiro M.C., Stábeli R.G., Soares A.M. (2008) Biochem. Pharmacol., **76**(2), 279-288.
15. de Vieira Santos M.M., Sant'Ana C.D., Giglio J.R., da Silva R.J., Sampaio S.V., Soares A.M., Fecchio D. (2008) Basic Clin. Pharmacol. Toxicol., **102**(6), 533-542.
16. Lu Q.M., Wei Q., Jin Y., Wei J.F., Wang W.Y., Xiong Y.L. (2002) J. Nat. Toxins., **11**(4), 345-352.
17. Ahn M.Y., Lee B.M., Kim Y.S. (1997) Int. J. Biochem. Cell Biol., **29**, 911-919.
18. Ponnudurai G., Chung M.C., Tan N.H. (1994) Arch. Biochem. Biophys., **313**, 373-378.
19. Souza D.H., Eugenio L.M., Fletcher J.E., Jiang M.S., Garratt R.C., Oliva G. et al. (1999) Arch. Biochem. Biophys., **368**, 285-290.
20. Tan N.H., Swaminathan S. (1992) Int. J. Biochem., **24**, 967-973.
21. Du X.-Y., Clementson K.J. (2002) Toxicon., **40**(6), 659-665.
22. Ahn M.Y., Ryu K.S., Lee Y.W., Kim Y. (2000) Arch. Pharm. Res., **23**, 477-481.
23. Geueke B., Hummel W. (2002) Enzyme Microbiol. Technology., **31**, 77-87.
24. Brearley G.M., Price C.P., Atkinson T., Hammond P.M. (1994) Appl. Microbiol. Biotechnol., **41**, 670-676.
25. Braun M., Kim J.M., Schmid R.D. (1992) Appl. Microbiol. Biotechnol., **37**, 594-598.
26. Böhmer A., Möller A., Passarge M., Liebs P., Honeck H., Müller H.G. (1989) Eur. J. Biochem., **182**, 327-332.
27. Bockholt R., Masepohl B., Kruff V., Wittmann-Liebold B., Pistorius E.K. (1995) Biochim. Biophys. Acta, **1264**, 289-293.

28. *Duerre J.A., Chakrabarty S.* (1975) *J. Bacteriol.*, **121**, 656–663.
29. *Mai-Prochnow A., Lucas-Elio P., Egan S., Thomas T., Webb J.S., Sanchez-Amat A., Kjelleberg S.* (2008) *J. Bacteriol.*, **190**(15), 5493–5501.
30. *Kusakabe H., Kodama K., Kuninaka A., Yoshino H., Misono H., Soda K.* (1980) *J. Biol. Chem.*, **255**, 976–981.
31. *Niedermann D.M., Lerch K.* (1990) *J. Biol. Chem.*, **265**(28), 17246–17251.
32. *Nuutinen J.T., Timonen S.* (2008) *Mycological Research*, **112**(12), 1453–1464.
33. *Singh S., Gogoi B.K., Bezbaruah R.L.* (2009) *Can. J. Microbiol.*, **55**(9), 1096–1102.
34. *Piedras P., Pineda M., Munoz J., Cardenas J.* (1992) *Planta*, **188**, 13–18.
35. *Ito K., Hori K., Miyazawa K.* (1987) *Hydrobiologica*, **151/152**, 563–569.
36. *Jung S.K., Mai A., Iwamoto M., Arizono N., Fujimoto D., Sakamaki K., Yonehara S.* (2000) *J. Immunol.*, **165**, 1491–1497.
37. *Kitani Y., Kikuchi N., Zhang G.-H., Ishizaki S., Shimakura K., Shiomi K., Nagashima Y.* (2008) *Comp. Biochem. Physiol. B.*, **149**, 394–400.
38. *Ehara T., Kitajima S., Kanzawa N., Tamiya T., Tsuchiya T.* (2002) *FEBS Lett.*, **531**(3), 509–512.
39. *Butzke D., Hurwitz R., Thiede B., Goedert S., Rudel T.* (2005) *Toxicon.*, **46**(5), 479–489.
40. *Ko K.C., Wang B., Tai P.C., Derby C.D.* (2008) *Antimicrob. Agents Chemother.*, **52**(12), 4455–4462.
41. *Takamatsu N., Shiba T., Muramoto K., Kamiya H.* (1995) *FEBS Lett.*, **377**(3), 373–376.
42. *Murthy S.N., Janardanasarma M.K.* (1999) *Mol. Cell Biochem.*, **197**(1–2), 13–23.
43. *Nakano M., Danowski T.S.* (1966) *J. Biol. Chem.*, **241**(9), 2075–2083.
44. *Sun Y., Nonobe E., Kobayashi Y., Kuraishi T., Aoki F., Yamamoto K., Sakai S.* (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**(21), 19080–19086.
45. *Eckstein M.R., Baehner R.L., Nathan D.G.* (1971) *J. Clin. Invest.*, **50**(9), 1985–1991.
46. *Ueda M., Chang C.C., Ohno M.* (1988) *Toxicon.*, **26**(8), 695–706.
47. *Takatsuka H., Sakurai Y., Yoshioka A., Kokubo T., Usami Y., Suzuki M., Matsui T., Titani K., Yagi H., Matsumoto M., Fujimura Y.* (2001) *Biochim. Biophys. Acta*, **1544**, 267–277.
48. *Abe Y., Shimoyama Y., Munakata H., Ito J., Nagata N., Ohtsuki K.* (1998) *Biol. Pharm. Bull.*, **21**, 924–927.
49. *Mandal S., Bhattacharyya D.* (2008) *FEBS J.*, **275**(9), 2078–2095.
50. *Yang H., Johnson P.M., Ko K.C., Kamio M., Germann M.W., Derby C.D., Tai P.C.* (2005) *J. Exp. Biol.*, **208**(18), 3609–3622.
51. *Iijima R., Kisugi J., Yamazaki M.* (2003) *Dev. Comp. Immunol.*, **27**(4), 305–311.
52. *Moustafa I.M., Foster S., Lyubimov A.Y., Vrieland A.* (2006) *J. Mol. Biol.*, **364**, 991–1002.
53. *Tonismag K., Same M., Trummal K., Ronnholm G., Siigur J., Kalkkinen N., Siigur E.* (2006) *Toxicon.*, **48**, 227–237.
54. *Pessatti M., Fontana J.D., Furtado M.F., Guimaraes M.F., Zanette L.R., Costa W.T., Baron M.* (1995) *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **51–52**, 197–210.
55. *Jin Y., Lee W.H., Zeng L., Zhang Y.* (2007) *Toxicon.*, **50**(4), 479–489.
56. *Tan N.H., Saifuddin M.N.* (1989) *Biochem. Int.*, **19**, 937–944.
57. *Mason J.M., Naidu M.D., Barcia M., Porti D., Chavan S.S., Chu C.C.* (2004) *J. Immunol.*, **173**(7), 4561–4567.
58. *Murakawa M., Jung S.K., Iijima K., Yonehara S.* (2001) *Cell Death Differ.*, **8**(3), 298–307.
59. *Berezov T.T., Lukasheva E.V.* (1988) *Biochem. Internat.*, **17**, 529–534.
60. *Skarnes R.C.* (1970) *Nature*, **225**, 1072–1073.
61. *Stábeli R.G., Sant'Ana C.D., Ribeiro P.H., Costa T.R., Ticli F.K., Pires M.G., Nomizo A., Albuquerque S., Malta-Neto N.R., Marins M., Sampaio S.V., Soares A.M.* (2007) *Int. J. Biol. Macromol.*, **41**(2), 132–140.

62. Tonismägi K., Samel M., Trummel K., Runnholm G., Siigur J., Kalkkinen N., Siigur E. (2006) *Toxicon.*, **48**(2), 227-237.
63. Toyama M.H., Toyama Dde O., Passero L.F., Laurenti M.D., Corbett C.E., Tomokane T.Y., Fonseca F.V., Antunes E., Joazeiro P.P., Beriam L.O., Martins M.A., Monteiro H.S., Fonteles M.C. (2006) *Toxicon.*, **47**(1), 47-57.
64. Otsuka-Fuchino H., Watanabe Y., Hirakawa C., Tamiya T., Matsumoto J.J., Tsuchiya T. (1992) *Comp. Biochem. Physiol. C.*, **101**(3), 607-613.
65. Kasai K., Ishikawa T., Komata T., Fukuchi K., Chiba M., Nozaka H., Nakamura T., Sato T., Miura T. (2010) *FEBS J.*, **277**(2), 453-465.
66. Смирнова И.П., Диордица С.В., Алексеев С.Б., Зайцев И.З. (1998) *Вопр. мед. химии*, **44**(4), 384-387.
67. Смирнова И.П., Алексеев С.Б., Диордица С.В., Веса В.С., Зайцев И.З. (1999) *Бюлл. эксперим. биол. мед.*, **128**(12), 654-656.
68. Березов Т.Т., Смирнова И.П., Алексеев С.Б., Степанова Л.Г., Зверев В.В., Гольцов В.А., Анджанпаридзе О.Г., Веса В.С. (1994) РФ Патент No. 2022011.
69. Zhang Y.J., Wang J.H., Lee W.H., Wang Q., Liu H., Zheng Y.T., Zhang Y. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **309**(3), 598-604.
70. Izidoro L.F., Ribeiro M.C., Souza G.R., Sant'Ana C.D., Hamaguchi A., Homsí-Brandeburgo M.I., Goulart L.R., Beleboni R.O., Nomizo A., Sampaio S.V., Soares A.M., Rodrigues V.M. (2006) *Bioorg. Med. Chem.*, **14**(20), 7034-7043.
71. França S.C., Kashima S., Roberto P.G., Marins M., Ticli F.K., Pereira J.O., Astolfi-Filho S., Stábeli R.G., Magro A.J., Fontes M.R., Sampaio S.V., Soares A.M. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **355**(2), 302-306.
72. Ande S.R., Kommoju P.R., Draxl S., Murkovic M., Macheroux P., Ghisla S., Ferrando-May E. (2006) *Apoptosis*, **11**(8), 1439-1451.
73. Torii S., Naito M., Tsuruo T. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**(14), 9539-9542.
74. Kanzawa N., Shintani S., Ohta K., Kitajima S., Ehara T., Kobayashi H., Kizaki H., Tsuchiya T. (2004) *Arch. Biochem. Biophys.*, **422**(1), 103-109.
75. Zhang L., Wei L.J. (2007) *Life Sci.*, **80**(13), 1189-1197.
76. Sun L.K., Yoshii Y., Hyodo A., Tsurushima H., Saito A., Harakuni T., Li Y.P., Kariya K., Nozaki M., Morine N. (2003) *Toxicol In Vitro.*, **17**(2), 169-177.
77. Ciscotto P., Machado de Avila R.A., Coelho E.A., Oliveira J., Diniz C.G., Farias L.M., de Carvalho M.A., Maria W.S., Sanchez E.F., Borges A., Chávez-Olórtegui C. (2009) *Toxicon.*, **53**(3), 330-341.
78. Kusakabe H., Kodama K., Kuninaka A., Yoshino H., Soda K. (1980) *Agric. Biol. Chem.*, **44**(2), 387-392.
79. López-Lázaro M. (2007) *Cancer Lett.*, **252**(1), 1-8.
80. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. (2008) *Общая патофизиология (с основами иммунопатологии)*. ЭЛБИ, СПб.
81. Suhr S.M., Kim D.S. (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **224**(1), 134-139.
82. Suhr S.M., Kim D.S. (1999) *J. Biochem.*, **125**(2), 305-309.
83. Zhang L., Cui L. (2007) *Toxicol. In Vitro.*, **21**(6), 1095-1103.
84. Kusakabe H., Kodama K., Kuninaka A., Yoshino H., Soda K. (1980) *Agr. Biol. Chem.*, **44**(2), 387-392.
85. Хадуев С.Х., Жукова О.С., Добрынин Я.В., Сода К., Березов Т.Т. (1986) *Бюлл. экспер. биол. мед.*, **5**, 603-604.
86. Хадуев С.Х., Жукова О.С., Добрынин Я.В., Сода К., Березов Т.Т. (1987) *Бюлл. экспер. биол. мед.*, **4**, 458-460.
87. Жукова О.С., Хадуев С.Х., Добрынин Я.В., Смирнова И.П., Лукашева Е.В., Березов Т.Т. (1985) *Экспер. онкол.*, **7**(6), 42-43.
88. Geyer A., Fitzpatrick T.B., Pawelek P.D., Kitzing K., Vrielink A., Ghisla S., Macheroux P. (2001) *Eur. J. Biochem.*, **268**, 4044-4053.
89. Middlebrook J.L., Dorland R.B., Leppla S.H. (1979) *Exp. Cell Res.*, **121**, 95-101.
90. Morris R.E., Gerstein A.S., Bonventre P.F., Saelinger C.B. (1985) *Infect. Immun.*, **50**, 721-727.



91. Keen J.H., Maxfield F.R., Hardegree M.C., Habig W.H. (1982) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **79**, 2912–2916.
92. Nathan I., Dvilansky A., Yirmiyahu T., Aharon M., Livne A. (1982) Thromb Haemost., **48**, 277–282.
93. Sakurai Y., Takatsuka H., Yoshioka A., Matsui T., Suzuki M., Titani K., Fujimura Y. (2001) Toxicon., **39**, 1827–1833.
94. Ali S.A., Stoeva S., Abbasi A., Alam J.M., Kayed R., Faigle M., Neumeister B., Voelter W. (2000) Arch. Biochem. Biophys., **384**, 216–226.
95. Li Z.Y., Yu T.F., Lian E.C. (1994) Toxicon., **32**, 1349–1358.
96. Stábeli R.G., Marcussi S., Carlos G.B., Pietro R.C., Selistre-de-Araújo H.S., Giglio J.R., Oliveira E.B., Soares A.M. (2004) Bioorg. Med. Chem., **12**(11), 2881–2886.
97. Wei J.F., Yang H.W., Wei X.L., Qiao L.Y., Wang W.Y., He S.H. (2009) Toxicon., **54**(3), 262–271.
98. Yang H.H., Yang S.L., Peng K.C., Lo C.T., Liu S.Y. (2009) Mycol Res., **113**(9), 924–932.

Поступила: 20. 04. 2011.

#### L-AMINO ACID OXIDASES: PROPERTIES AND MOLECULAR MECHANISMS OF ACTION

*E.V. Lukasheva<sup>1</sup>, A.A. Efremova<sup>1</sup>, H.M. Treshalina<sup>2</sup>, A.Ju. Arinbasarova<sup>3</sup>,  
A.G. Medentzev<sup>3</sup>, T.T. Berezov<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, Russian Peoples' Friendship University, Miklucho-Maklaya Street, 8, Moscow, 117198 Russia; fax: 095-945-434-04-12; e-mail: elena.lash@yandex.ru

<sup>2</sup>Blokhin's Cancer Research Center of RAMS, Kashirskoye sh., 24, Moscow, 115478 Russia; e-mail: treshalina@nm.ru

<sup>3</sup>G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Pr. Nauki, 5, Pushchino, Moscow region, 142290 Russia; fax: (495)956-33-70; e-mail: aarin@ibpm.pushchino.ru

During previous decade L-amino acid oxidases (LAAO) attracted the steady interest of researchers due to their poly functional effects on different biological systems. The review summarizes information concerning the sources, structure, physico-chemical and catalytical properties of LAAO which exhibit antibacterial, antifungal, antiprotozoal, antiviral effects as well as the ambiguous action on platelet aggregation. Special attention is devoted to the elucidation of molecular mechanisms of LAAO action. It is proposed that the unique properties of LAAO are based on their catalytic reaction, which causes the decrease of L-amino acid levels, including the essential amino acids and formation of hydrogen peroxide. The action of liberated H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on cells involves the synthesis of oxygen reactive species and the development of necrotic and apoptotic pathways of cell death. The presence of carbohydrate moieties in LAAO molecules promotes their attachment to cell's surface and creation of high H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> local concentrations. The wide range of LAAO biological effects is undoubtedly connected with their important functional roles in the organism. In particular, it was shown that in the mice brain the LAAO-catalyzed reaction is the single pathway of L-lysine degradation, while in the mice milk LAAO carry out the antibacterial effect and in human leucocytes LAAO take part in fulfilling their defending role. Protector action may be also attributed to the oxidases from the other numerous sources: microscopic fungi, snake venoms and sea inhabitants.

**Key words:** L-amino acid oxidase (LAAO), L-lysine- $\alpha$ -oxidase, cytotoxicity, anticancer properties, antiviral properties, apoptosis.