

ОБЗОРЫ

©Нарыжный, Легина

ГАПТОГЛОБИН КАК БИОМАРКЕР

С.Н. Нарыжный^{1,2*}, О.К. Легина²

¹Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, 119121, Москва, ул. Погодинская, 10; *эл. почта: snaryzhny@mail.ru

²Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”, 188300, Ленинградская область, Гатчина, Орлова роща, 1

Гаптоглобин (Hp) — это гликопротеин плазмы крови, который связывает свободный гемоглобин (Hb) и играет критическую роль в защите тканей и предотвращении окислительных повреждений. Кроме того, он выполняет ряд регуляторных функций, а также является белком острой фазы; концентрация Hp в плазме изменяется при патологии, в связи с этим его концентрацию определяют в клинической практике. Hp — консервативный белок, синтезируется главным образом в печени и лёгких и является предметом исследований как потенциальный биомаркер многих заболеваний, в том числе различных форм злокачественных новообразований. Hp имеет несколько уникальных биофизических характеристик. Только у человека ген *Hp* полиморфен, имеет три структурных аллеля, которые контролируют синтез трёх мажорных фенотипов Hp, гомозиготных Hp1-1 и Hp2-2, и гетерозиготного Hp2-1, определяемых комбинацией аллельных вариантов, передающихся по наследству. Многочисленные исследования указывают на то, что по фенотипу Hp можно судить об индивидуальной предрасположенности человека к различным заболеваниям. Кроме того, Hp подвергается различным пост-трансляционным модификациям (ПТМ). Это структурные преобразования (удаление сигнального пептида, разрезание молекулы-предшественника Pre-Hp на две субъединицы — α и β , ограниченный протеолиз α -цепей, образование дисульфидных связей, мультимеризация), а также химические модификации α -цепей и гликозилирование β -цепи. Гликозилирование β -цепи гаптоглобина по четырём сайтам Asn — важная вариабельная ПТМ, которая регулирует структуру и функцию этого белка. Изучение модифицированных олигосахаридов β -цепи Hp стало главным направлением в исследованиях патологических процессов, включая злокачественные новообразования. Указанные характеристики свидетельствуют о возможности существования Hp в виде множества протеоформ, которым, вероятно, свойственны разные функции. Описанию структурно-функционального разнообразия и потенциального использования Hp как биомаркера различных патологий посвящён данный обзор.

Ключевые слова: гаптоглобин; биомаркер

DOI: 10.18097/PBMC20216702105

ВВЕДЕНИЕ

Гаптоглобин (Haptoglobin, Hp) — консервативный белок, присутствующий у всех млекопитающих, был открыт в 1938 году “как субстанция плазмы крови, которая связывает гемоглобин” [1]. Соответственно, его название было образовано из сочетания слов *haptin* (от “связывать”) и гемоглобин (Hb). Hp образует исключительно прочный нековалентный комплекс со свободным Hb (1:1 моль/моль), что позволяет защищать ткани от окислительных повреждений [2]. Он многофункционален, играет важную роль в различных биологических процессах и рассматривается в настоящее время в качестве потенциального биомаркера многих заболеваний, в том числе различных форм злокачественных новообразований. Кроме того, Hp проявляет иммунорегуляторные свойства, участвует в ингибировании окиси азота, стимулирует репарацию тканей, вовлечён в ангиогенез и т.д. Концентрация Hp в плазме изменяется при патологии, и тест на его концентрацию входит в обычную клиническую практику.

1. ГЕН(Ы) ГАПТОГЛОБИНА

Только у человека Hp характеризуется молекулярной гетерогенностью, обусловленной генетическим полиморфизмом. У человека ген расположен на 16-ой хромосоме и может присутствовать в виде трёх аллелей: *Hp1F*, *Hp1S*, *Hp2*, которые контролируют образование шести фенотипов Hp: 1F-1F, 1S-1S, 1F-1S, 2-1F, 2-1S, 2-2 [3-5]. Из-за отсутствия функциональной разницы между *Hp1F* и *Hp1S*, которые отличаются только точечными мутациями, чаще рассматриваются и считаются основными только два аллеля (*Hp1* и *Hp2*) которые проявляются как три фенотипа: гомозиготные Hp1-1 и Hp2-2 и гетерозиготный Hp2-1 в зависимости от сочетания наследуемых аллельных вариантов. Предполагается, что *Hp2* аллель возник в результате внутригенной дупликации ДНК-фрагмента размером в 1700 пар нуклеотидов (п.н.) гена *Hp1* после дивергенции человека в поздней эволюции приматов [6].

Оценочная частота разных типов Hp такова: *Hp1-1* — 15-18%; *Hp2-1* — 46%; *Hp2-2* — 38%, но отмечены значительные географические различия.

Например, в Юго-Восточной Азии частота аллеля *Hp1* составляет только примерно 0,1, тогда как в других регионах может достигать примерно 0,8 (Южная Америка). Наблюдаемые различия в распределении фенотипов *Hp*, вероятно, являются результатом как генетического дрейфа, так и естественного отбора [7]. На этом даже основаны некоторые методы экспертизы в судебной медицине, например для установления спорного отцовства [8].

Следует отметить, что у приматов существует ещё два гена, происходящих от гена *Hp* — *Hpr* и *Hpp* (рис. 1). Ген *Hpr* на 90% идентичен гену *Hp* и расположен на той же хромосоме на расстоянии всего в 2200 п.н., далее ещё в 16000 п.н. находится ген *Hpp*. Гены *Hpr* и *Hpp*, по-видимому, возникли в результате трипликации гена *Hp* в процессе эволюции приматов. Впоследствии у человека ген *Hpp* был удалён, и в нынешнем кластере генов *Hp* человека осталось только два гена [9].

У человека *Hp* синтезируется главным образом в печени и лёгких и секретируется в плазму крови [10], но его мРНК детектируется также в почках, селезёнке, тимусе и сердце [11]. Уровень экспрессии гена *Hpr* в 1000 раз ниже, чем *Hp*. *Hpr*, как и *Hp*, также экспрессируется в основном в печени, но помимо этого его мРНК обнаруживается и во многих других органах (<https://www.uniprot.org/uniprot/P00739>).

Анализ гомологии геномных последовательностей показал, что костистые рыбы — это крайний член филогенетического ряда, имеющий ген, который кодирует белковый гомолог *Hp* млекопитающих. Эти результаты позволяют предположить, что с появлением рыб *Hp* эволюционировал из ассоциированного с комплементом белка

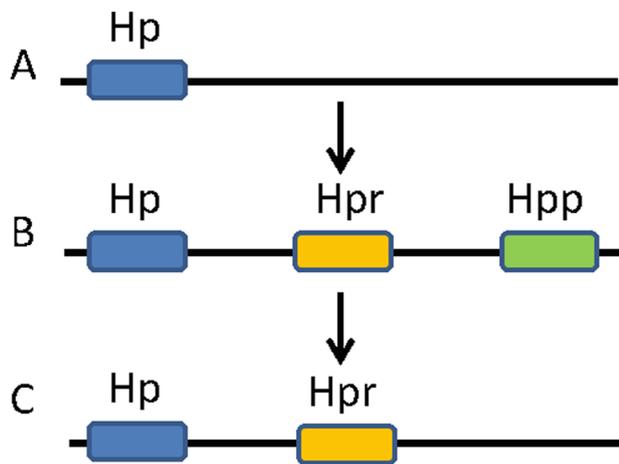


Рисунок 1. Схематическое отображение эволюции кластера генов гаптоглобина. Ген *Hpr* возник в результате троекратного повторения гена *Hp* после того, как обезьяны Нового света отошли от других приматов. Обезьяны Нового света (А), такие как обезьяна-паук, таким образом, несут только один ген *Hp*, тогда как обезьяны Старого света (Б), примером которых является шимпанзе, обладают генами *Hp* и *Hpr* в дополнение к так называемому гаптоглобиновому гену приматов (*Hpp*). В процессе человеческой эволюции (С) один локус был удалён, и остались только 2 гена (*Hp* и *Hpr*).

(маннозо-связывающая лектин-ассоциированная сериновая протеиназа, MASP). Исключением оказались цыплёнок и лягушка, у них этот ген отсутствует. Однако в плазме цыплёнка идентифицирован другой белок, связывающий *Hb* и являющийся потенциальным антиоксидантом — PIT54 [12].

2. СТРУКТУРНЫЕ АСПЕКТЫ

Hp человека является тетрамером, состоящим из двух лёгких α -цепей ($\alpha 1$ или $\alpha 2$) и двух тяжёлых β -цепей, связанных дисульфидными мостиками в $\alpha\beta$ -димеры, а затем в тетрамеры, и структурно напоминает иммуноглобулины. Характеристика кДНК *Hp* показала, что α -цепь ($\alpha 1$ или $\alpha 2$) и β -цепь кодируются геном *Hp* в виде тандема, в результате чего синтезируется полноразмерный предшественник *Hp* (прегаптоглобин, Pre-*Hp*). Согласно данным базы UniProt, имеется две изоформы гаптоглобина, а точнее Pre-*Hp*: каноническая изоформа 1 (Pre-*Hp2*), которая состоит из 406 аминокислотных остатков (а.о.) (Mw 45200), и изоформа 2 (Pre-*Hp1*), которая состоит из 347 а.о. (Mw 38452) и отличается от изоформы 1 тем, что у неё отсутствует участок 38-96 а.о. (рис. 2). Внутри полноразмерного полипептида α - и β -цепи разделены одним линкерным кодоном, соответствующим Arg84 $\alpha 1$ -цепи и Arg143 $\alpha 2$ -цепи [13]. Различаются только α -цепи, а β -цепь (*pI* 6,32 / Mw 27265) идентична в трёх аллелях (245 а.о.) [14]. Аллели *Hp1S*, *Hp1F* кодируют полипептидные цепи $\alpha 1S$ (slow) и $\alpha 1F$ (fast) (*pI* 5,23 / Mw 9192) одинаковой длины (83 а.о.), но $\alpha 1F$ имеет остатки Asp и Lys в положениях 52 и 53, а $\alpha 1S$ — остатки Asn и Glu в тех же положениях [6]. В случае $\alpha 2$ дополнительно такие же замены а.о. соответствуют положениям 111 и 112 [15]. Гетерогенность α -цепей *Hp* детектируется при разделении белков двумерным электрофорезом (2DE) [15, 16]. Цепь $\alpha 1$ имеет две свободных SH-группы остатков Cys. Одна находится на COOH-конце (Cys72) и всегда связывается с β -цепью дисульфидной связью, образуя единицу ($\alpha 1\beta$ -димер). Другая на NH₂-конце (Cys15) связывается с другой ($\alpha 1\beta$) единицей, приводя к образованию ($\alpha 1\beta$)₂ или зрелого *Hp1-1*, являющегося тетрамером [15, 16]. Аллель *Hp2* представляет продукт частичной геновой дупликации в результате нехомологичного кроссинговера между *Hp1S*, *Hp1F* аллелями и кодирует $\alpha 2$ -цепь (*pI* 5,57 / Mw 15946) [15]. Она содержит те же а.о., что и $\alpha 1$, и ещё дополнительную копию 12-70 а.о. — суммарно 142 а.о. Связываясь с β -цепью, $\alpha 2$ -цепь образует ($\alpha 2\beta$) единицу. В отличие от $\alpha 1$, $\alpha 2$ имеет три свободных SH-группы остатков Cys, одна из них способна взаимодействовать с дополнительной $\alpha\beta$ единицей ($\alpha 1\beta$ или $\alpha 2\beta$) с образованием больших полимеров (гетерогенной смеси мультимеров) [13, 17, 18]. Согласно недавним генетическим анализам, больший вариант *Hp2* считается прародителем всех аллелей *Hp* человека. Из этой модели следует, что экзоны 3 и 4 аллеля *Hp2* прародителя были делетированы вследствие неаллельной гомологичной рекомбинации во время структурной эволюции *Hp2* в *Hp1* [12, 19-21].

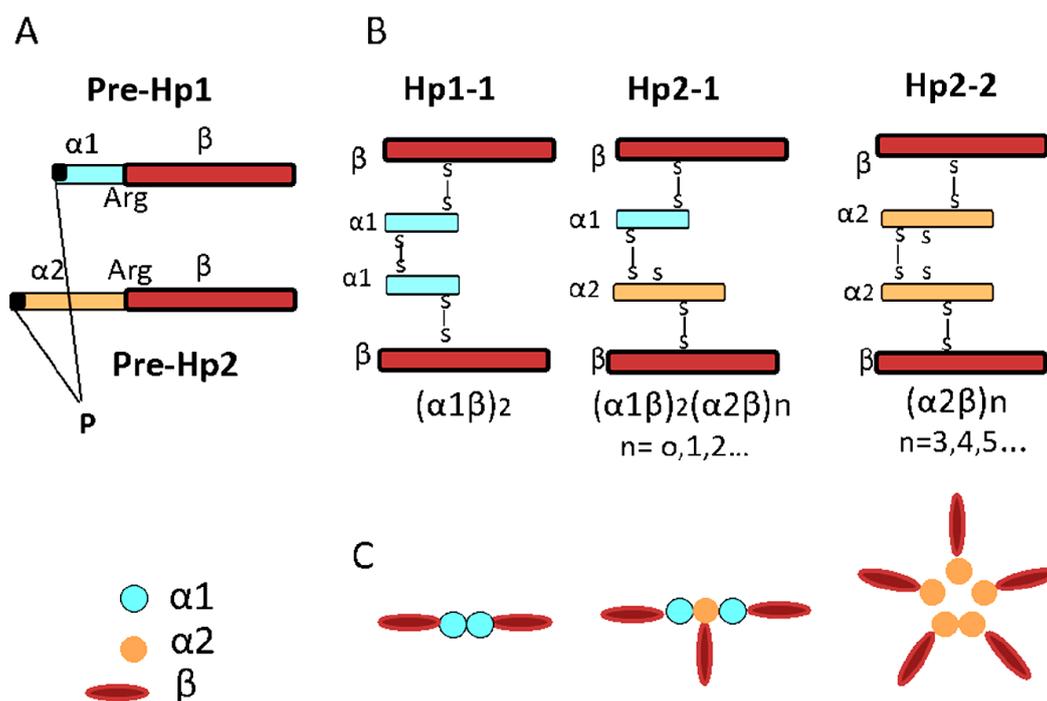


Рисунок 2. Схема созревания и структуры разных типов Hp. **А** — Pre-Hp транслируется как одноцепочечный белок-предшественник; Arg — сайт ограниченного протеолиза; P — сигнальный пептид. **В** — сборка димеров $\alpha_1\beta$ и $\alpha_2\beta$ и тетрамеров Hp с помощью дисульфидных связей по свободным остаткам Cys (S). **С** — Hp1 — тетрамер, Hp2-1 — линейный полимер, Hp2-2 — кольцевой полимер. Адаптировано из [30, 48].

Эти два экзона определяют мультимерную структуру Hp2-2 и Hp 2-1 [22]. Фенотип Hp0-0 характеризуется отсутствием Hp (агаптоглобинемия) или его пониженным уровнем в плазме и свидетельствует о том, что Hp, как это ни удивительно, необязателен для выживания организма. Предполагается, что снижение уровня экспрессии *Hp* связано с возможными мутациями [23, 24].

Белок Hp имеет доменную структуру. Варианты Hp в значительной степени гомологичны MASP, причём α -цепь содержит домен контрольного белка комплемента (complement control protein, CCP), а β -цепь содержит каталитически неактивный хемотрипсино-подобный домен сериновой протеиназы (serine proteinase, SP) [25]. Это является удивительным примером гомологичных белков с разными биологическими функциями. А.о., типичные для активного центра сериновых протеаз (His57 и Ser195), в Hp замещены на остатки Lys и Ala соответственно, что исключает возможность протеазной активности Hp [26].

Многие секретируемые белки синтезируются как предшественники (проформы) и становятся биологически активными после протеолитического “разрезания” (процессинга) в аппарате Гольджи. Hp необычен тем, что разрезается в эндоплазматическом ретикулуме до того, как войти в аппарат Гольджи [13, 27, 28]. Hp сначала транскрибируется и транслируется в виде Pre-Hp1, либо Pre-Hp2 в зависимости от генотипа/фенотипа. В ходе процессинга сначала происходит отщепление N-концевого сигнального пептида, а затем в эндоплазматическом ретикулуме Hp подвергается

сложным пост-трансляционным модификациям (ПТМ). В сайте ограниченного протеолиза (Arg143 в случае Hp2 и Arg84 в случае Hp1) полипептид расщепляется на две субъединицы: N-терминальную лёгкую α -цепь и C-терминальную тяжёлую β -цепь. C-терминальный Arg α -цепи удаляется карбоксипептидазой N. Обе цепи ковалентно связываются дисульфидной связью, образуя основную $\alpha_1\beta$ или $\alpha_2\beta$ единицу (димеры) [19, 20] (рис. 2). Интересно, что здесь возможен вариант, когда каноническая форма, кодируемая аллелем *Hp2-2*, не подвергается протеолитическому процессингу, остаётся полноразмерной и функционирует как белок зонулин. С помощью протеомного анализа установлено, что белок зонулин идентичен Pre-Hp2 [29]. Зонулин вырабатывается в слизистой оболочке кишечника и в печени, обратимо регулирует кишечную проницаемость, модулируя плотные контакты между клетками стенки пищеварительного тракта, и контролирует равновесие между толерантностью и иммунитетом к чужеродным антигенам. С повышенным уровнем зонулина связан ряд аутоиммунных, воспалительных и опухолевых заболеваний [30] (рис. 2). Находясь в интактной полноразмерной форме белка-предшественника, зонулин выполняет функцию модулирования проницаемости кишечного барьера, тогда как главная функция зрелого Hp — образование стабильного комплекса с Hb и предотвращение индуцированного Hb окислительного повреждения тканей. Это яркий пример зависимости функции белка от его структуры. Важность конформации Hp подчёркивает тот факт, что антитела к зонулину идентифицируют α_1 -цепь Hp только при денатурирующих условиях [30].

Таким образом, трём мажорным фенотипам Hр соответствуют белки с разной структурой, молекулярным весом и молекулярной гетерогенностью. По результатам нативного электрофореза следует, что Hр1-1 (Mw 86000) — тетрамер $(\alpha\beta)_2$; Hр2-1 (Mw 86000-300000) и Hр2-2 (Mw 170000-900000) — гетерогенные (мультимерные) смеси полимеров (рис. 3). Полные формы Hр разных типов состоят из $(\alpha\beta)$ единиц с разным числом тиольных групп в α -цепях (остатки цистеина): в $\alpha\beta$ два остатка цистеина и в $\alpha_2\beta$ — три. В итоге, в зависимости от фенотипа существуют разные структуры Hр: Hр1-1 — $(\alpha\beta)_2$; Hр2-1 — $(\alpha\beta)_2(\alpha_2\beta)_n$, где $n=0,1,2,3\dots$; Hр2-2 — $(\alpha_2\beta)_n$, где $n=3,4,5\dots$ С помощью нативного гель-электрофореза (ПААГ) идентифицированы формы с 10 повторяющимися единицами $(\alpha\beta)_{10}$ в Hр2-1 и 20 повторяющимися единицами $(\alpha\beta)_{20}$ в Hр2-2; Hр1-1 имеет 1 форму, соответствующую $\alpha\beta$ димеру [18, 31-33] (рис. 3). Кроме того, из указанных работ следует, что Hр с фенотипом Hр2-1 — это линейный полимер, в котором $\alpha\beta$ всегда образует терминальные единицы, а с фенотипом Hр2-2 — кольцевой полимер, циклическая структура, состоящая из многих $(\alpha_2\beta)$ единиц. Эти структуры Hр подтверждены с помощью электронной микроскопии. Функциональная роль столь сложных структурных вариантов Hр всё ещё остаётся неясной [13]. Принадлежность индивидуума к полимерному фенотипу Hр связана с разными уровнями антиоксидантной функции Hр и риском целого ряда распространённых заболеваний [34-36].

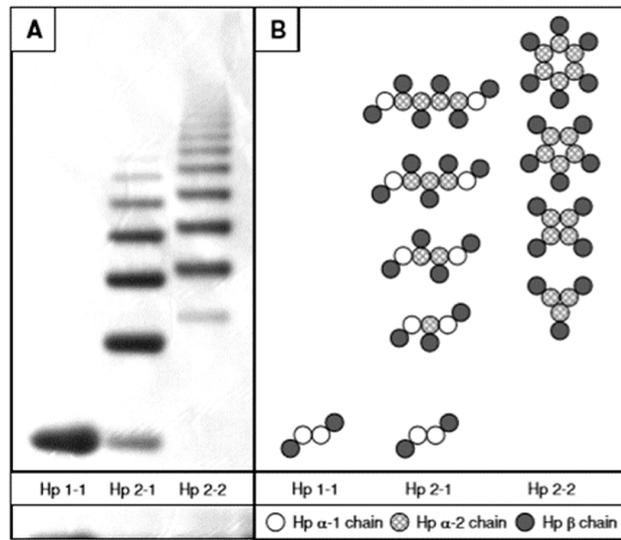


Рисунок 3. Оценка фенотипа гаптоглобина с использованием нативного ПААГ. А — специфические профили, полученные при электрофорезе в градиентном (3-8%) нативном ПААГ препаратов гаптоглобина различного фенотипа. В — состав полимеров трёх фенотипов гаптоглобина: Hр 1-1 — гомодимеры; Hр2-1 — линейные гетеродимеры; Hр2-2 — циклические гетеродимеры. Адаптировано из [31].

3. БЕЛКИ ПЛАЗМЫ КРОВИ И ИХ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ

Функционирование Hр нельзя рассматривать в отдельности от всей плазмы, одним из важных компонентов которой он является. Протеом плазмы — это динамичная, сложная смесь белков, важная субстанция для клинического анализа. Протеомные профили плазменных белков могут иллюстрировать различия, связанные с изменениями метаболизма или патологическими процессами, поскольку многие белки, циркулирующие в плазме, являются продуктами каскадов ферментативных реакций всех тканей и органов и могут отражать физиологическое состояние организма. Системное протеомное профилирование большей части циркулирующих белков плазмы (протеома плазмы) даёт возможность обнаружения новых биомаркеров с целью прогнозирования и диагностики заболеваний [37]. Например, использование протеомных подходов для сравнения протеомов у пациентов с глиобластомой и у здоровых доноров показало, что некоторые белки сыворотки, связанные с разными жизненно важными физиологическими путями, включая Hр, у них представлены по-разному [38].

Анализ плазменных белков труден из-за сложности протеома плазмы — его динамичности, химического сходства многих белков, огромного диапазона концентраций различных белков [39]. Распространёнными индикаторами, биомаркерами для прогностической и диагностической оценки состояния организма являются белки острой фазы. Острофазный ответ нарушения гомеостаза продуцирует каскад изменения регуляции транскрипции, что приводит к увеличению синтеза одних белков и снижению синтеза других [40]. Яркими примерами ответа с увеличением уровня белка служат С-реактивный белок, сывороточный амилоид А, а также Hр. Эти белки продуцируются в печени во время воспалительных процессов и секретируются в плазму [41]. Следует также отметить важность оценки изменчивости протеомного профиля потенциального маркерного белка здоровых индивидуумов контрольной группы перед проведением сравнительных протеомных анализов для того, чтобы отличить изменения, характерные для какого-либо заболевания, от естественной пластичности протеома. Вариабельность уровня ряда мажорных белков плазмы может быть сравнимой или даже большей, чем разница уровней, обнаруживаемых при патологии [42]. В случае Hр его уровень в норме находится в пределах от 450 мг/л до 1650 мг/л. Уровень ниже 450 мг/л может означать повышенную гибель эритроцитов: усиленный распад эритроцитов приводит к увеличению поступления Hб в кровь и его связыванию Hр. Поэтому, определение содержания Hр используется, прежде всего, для выявления и оценки степени гемолитической анемии. Для отдельных цепей Hр диапазоны концентраций у здоровых индивидуумов следующие: для β -цепи — 6-40 мкМ; для α_1 -цепи — 0-40 мкМ; для α_2 -цепи — 0-40 мкМ [43].

Сложность канонической структуры Hp (гомодимеры и гетеродимеры, структурированные в тетрамеры); образование гетерогенных линейных и циклических полимерных структур (полиморфные варианты $\alpha 1$ -цепи ($\alpha 1F$, $\alpha 1S$) [16], протеолитический процессинг и ПТМ $\alpha 1$ - и $\alpha 2$ -цепей, наличие четырёх сайтов активного гликозилирования β -цепи) свидетельствуют о том, что Hp может существовать в виде множества протеоформ и участвовать в выполнении разных функций [33]. Кроме того, индивидуумы часто отягощены несколькими заболеваниями, каждое из которых может давать вклад в изменение уровня и характера ПТМ Hp, поэтому всегда необходимо исследовать большой объём данных для получения статистически достоверных результатов. Из изложенного следует, что Hp не слишком подходящий белок в качестве возможного биомаркера на основе оценки изменения только его общего уровня. Однако с помощью современных протеомных технологий по изменению фундаментальных физико-химических характеристик белка, молекулярного веса (Mw) и изоэлектрической точки (pI) среди тысяч белковых форм (протеоформ) обнаруживаются те, которые при патологии подвергаются значительным модификациям и идентифицируются как аллельные варианты и вариабельные ПТМ. Здесь важным моментом является фенотипирование, то есть возможность чёткого определения типа Hp индивидуума и постоянство этой характеристики в течение жизни [33, 35, 44]. Благодаря этому, Hp может быть исключительно полезным неспецифическим белком, потенциальным маркером многих, в том числе злокачественных новообразований. Знания о множестве плазменных протеоформ Hp могут быть важны для стратегии, диагностики, лечения и профилактики различных заболеваний, то есть имеют большой терапевтический потенциал.

Имеются данные, что в ряде случаев непротессированная Pre-Hp форма (рис. 2) может быть более полезным биомаркером, чем зрелый Hp. Например, в сыворотке пациентов с гепатомой уровень Pre-Hp гораздо выше, чем у здоровых доноров [45].

4. ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ И РОЛЬ ФЕНОТИПА Hp

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что Hp циркулирует в плазме крови как полимер, стехиометрия, размер и биофизические свойства которого зависят от трёх главных, наследственно детерминированных фенотипов (гомозиготных Hp1-1, Hp2-2 и гетерозиготного Hp2-1). Структурные различия между фенотипичными формами имеют важные функциональные последствия [46].

Важнейшая функция Hp — способность связывать свободный Hb, быть антиоксидантом. Связь Hp со свободным Hb характеризуется очень высокой белок-белковой аффинностью ($K_d=10^{-14}$ M) [47]. Это подчёркивает важность рассматриваемого биологического процесса для защиты организма от окислительного повреждения. Методом селективного протеолиза установлено, что в связывание вовлекаются

только тяжёлые β -цепи Hp [48]. Свободный Hb высокотоксичен из-за окислительной природы гема, содержащего железо, которое участвует в продукции вызывающих повреждение клаусток активных форм кислорода (АФК) [14, 49]. Установлено, что способность снижать повреждение, вызванное свободными радикалами, зависит от фенотипа Hp [50]. Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что принадлежность индивидуума к полимерному фенотипу Hp (Hp 2-1 и особенно Hp2-2) связана с риском целого ряда распространённых заболеваний: сердечно-сосудистых, аутоиммунных, инфекционных, атеросклероза, инсульта, диабета, туберкулёза, эпилепсии, диабетической нефропатии, диабетической ретинопатии, злокачественных новообразований, ослабления когнитивных функций [33-36, 51-53]. Однако в случае рака простаты роль фенотипа не была обнаружена [54]. Важным местом синтеза Hp, кроме печени, являются и лёгкие. Hp защищает лёгкие от воспалительных агентов и предотвращает их повреждение. Его дефицит приводит к разрушению лёгочной ткани, вызванному естественной бактериостатической функцией нейтрофилов, что приводит к возникновению эмфиземы и хронической обструктивной болезни лёгких (ХОБЛ). В работе [10] фенотип Hp2-2 рассматривается как новый биомаркер идентификации ХОБЛ. Очевидно, что определение фенотипа Hp пациента может оказаться важным фактором прогноза заболевания и хода лечения [35]. Отметим, что в рутинной лабораторной практике для фенотипирования Hp успешно применяется метод, основанный на ПЦР-реакции с учётом структурных различий Hp1 и Hp2 аллелей [24]. Ещё один новый метод фенотипирования Hp с использованием флуоресцентных зондов нанокластеров золота (AuNC) описан в работе [55].

Патологические состояния, влияющие на уровень Hp в крови — это состояния так называемой острой фазы, к которым относятся: инфекции, воспаления, опухоли, ожоги, обморожения, повреждения химическими факторами, аутоиммунные заболевания, гемолиз и т.д. Здесь главная функция Hp состоит в том, чтобы связывать свободный Hb, вышедший из разрушенных эритроцитов. Выход Hb в плазму — физиологическое явление, связанное с внутрисосудистым гемолизом вследствие разрушения старых эритроцитов, которое происходит со скоростью 2×10^6 клеток/сек [56, 57]. Свободный Hb связывается с Hp, образуя комплекс Hp/Hb. В печени комплекс поступает в клетки ретикулоэндотелиальной системы с помощью эндоцитоза, опосредованного рецептором CD163, и подвергается деградации. Таким путём снижаются потери свободного Hb, происходит рециклизация железа (возвращение его в образующиеся эритроциты) и выполняется антиоксидантная функция по защите почек от повреждения токсическими радикалами.

В экспериментах *in vitro* существенной разницы в Hb-связывающей способности двух типов Hp (Hp1-1 и Hp2-2) не обнаружено [58]. При изучении эффективности отдельных фенотип-специфических

препаратов Нр в экспериментах *in vivo* на морских свинках при прямой инфузии оба типа Нр проявляли одинаковую терапевтическую эффективность в гемолитических условиях, при гипертонии, и эффективно предотвращали окисление ЛПНП (липопротеинов низкой плотности) гемоглобином. То есть, оба терапевтических препарата (Нр1-1 и Нр2-2) одинаково хорошо с высокой аффинностью связывают свободный Нб, предотвращая потерю железа и защищая ткани от окислительного воздействия, несмотря на то, что Нр2-2 имеет гетерогенную мультимерную структуру по сравнению с димерами Нр1-1. По мнению авторов обзора [56], все три фенотипа Нр имеют одинаковую связывающую способность с Нб, но Нр1-1 имеет большую способность защиты от окислительных повреждений. Возможно, это связано с тем, что концентрация Нр1-1 в плазме выше, чем концентрация Нр2-1 и Нр2-2 [59]. Однако в работе [60] показано, что окисление ЛПНП, играющее важную роль при атеросклерозе, практически ингибируется Нр1-1 и только частично Нр2-2. По-видимому, для окончательного вывода о фенотип-специфической эффективности препаратов Нр необходимы дальнейшие исследования этого вопроса. Отметим, что в Японии препараты Нр используются в клинической практике с 1985 года для лечения острых гемолитических состояний [61].

В исследовании [14] показано, что Нр — это исключительно мощный антиоксидант, который напрямую защищает ЛПНП и от Cu^{2+} -индуцированного окисления. Потенциал Нр заметно превосходит пробукол (один из самых мощных антиоксидантов). Уровень активности антиоксидантов распределяется в следующем порядке: Нр1-1 > Нр2-1 > Нр2-2 > пробукол > витамин Е.

В системе *in vitro* показано, что Нр продуцируется фибробластами артерий кролика и вовлекается в миграцию клеток и реструктурирование сосудов [62]. Обычно за сутки разрушается и удаляется из циркуляции около 1% эритроцитов. Однако увеличение этого количества хотя бы до 2% ведёт к полному исчезновению Нр из крови [26, 63]. Пониженный уровень Нр является признаком внутрисосудистого гемолиза, индуцированного малярией, ядами, токсинами, так как большое количество свободного Нб приводит к истощению Нр [11, 64-66]. Снижение уровня Нр может происходить и в отсутствие гемолиза, например, вследствие цирроза печени, диссеминированного карциноматоза яичников, лёгочного саркоидоза или повышенного уровня эстрогенов [11]. При воспалении, опухолевом росте, повреждениях химическими факторами уровень Нр в крови повышается [41]. Нр проявляет иммунорегуляторные свойства. Он играет модулирующую роль в балансе хелперных клеток Th1/Th2, которые характеризуются разными паттернами экспрессии цитокинов после активации и ответственны за иммунный ответ [67].

К настоящему времени получены принципиально важные результаты о роли Нр у больных диабетом. Во-первых, частота заболеваний диабетом индивидуумов с Нр типа Нр2-2 значительно выше,

чем с типом Нр1-1 [34, 68]. Для этого заболевания характерны сердечно-сосудистые, нервные и инфекционные осложнения. Их в значительной степени связывают с окислительным стрессом и антиоксидантной защитой. Лица с диабетом и с генотипом Нр1-1 резистентны к развитию диабетической ретинопатии, диабетической нефропатии, сердечно-сосудистых заболеваний [56]. Авторы публикации [56] считают, что тип Нр должен рассматриваться у больных диабетом как дополнительный фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний. У больных диабетом с Нр2-2 этот риск в пять раз выше, а с Нр2-1 в три раза выше, чем у больных с Нр1-1 [49]. Обсуждаются три возможных механизма фенотип-зависимого поведения Нр. Во-первых, молекулярные различия в структуре, размере разных типов Нр (стерический фактор) могут препятствовать или исключать входение олигомерных молекул Нр2-1 и Нр2-2 во внутрисосудистое пространство, где Нр связывает и нейтрализует свободный Нб. В результате у индивидуумов с фенотипом Нр2-1 и Нр2-2 свободный Нб остаётся циркулировать в течение существенного периода времени, способствуя переходу окислительного стресса в сосудистый стресс [49]. Во-вторых, гликирование Нб — дополнительный фактор, который снижает эффективность Нр2-2 как антиоксиданта. Диабет характеризуется фукозилированием многих белков, в том числе и Нб. Показано, что окисляющая активность гликированного Нб не эффективно блокируется гаптоглобином, и существует разница в скорости удаления гепатоцитами комплексов гликированного Нб с Нр по сравнению с контролем [68]. Обнаружено, что риск коронарного заболевания сердца возрастает у пациентов с Нр2-2 при степени гликирования Нб >6,5% [69]. То есть, возможен механизм существенной дисфункции Нр2-2 с гликированным Нб [70]. В-третьих, возможно, что наличие аллеля *Hp2* при диабете связано с увеличением количества активного железа [71]. Разница в аффинности связывания Нр1-1 и Нр2-2 с Нб не установлена, но обнаружено, что Нр1-1 и Нр2-2 различаются по способности предотвращать перевод железа из Нб в хелатную активную форму. Показано заметное увеличение количества активного железа в случае комплексов Нр2-2/Нб. В плазме генетически модифицированных мышей, продуцирующих Нр2-2, также идентифицируется зависимое от диабета различие в количестве активного железа. Приведённые экспериментальные результаты свидетельствуют о том, что активное железо участвует в увеличении восприимчивости индивидуумов с аллелем *Hp2* к сосудистым заболеваниям у больных диабетом, и следует вывод, что в контексте диабета роль Нр может быть как защитной, так и патогенной.

Железо — один из важнейших элементов бактериального роста. Сочетание геморрагической травмы и инфекции может иметь летальный исход из-за наличия крови в повреждённой ткани, которая предоставляет необходимое железо для развития микроорганизмов [72]. Однако, после связывания с Нр, Нб и его железо уже больше

не доступны бактериям. Действительно, было показано, что негативные последствия внутрибрюшинного введения *E. coli* и Hb крысам можно предотвратить с помощью введения Hр [72]. В слизистом слое и альвеолярной жидкости лёгких Hр является основным противомикробным компонентом и играет важную роль в защите от инфекции [44, 73].

Индивидуумы с типом Hр2-2 проявляют большую иммунологическую реактивность, которая включает большую продукцию антител после вакцинации. Обнаружено, что Hр ингибирует синтез простагландинов и таким образом проявляет противовоспалительные свойства [67, 74].

Hр участвует в ингибировании окиси азота. Окись азота вовлечена в поддержание сосудистого тонуса и в значительной степени истощается как Hб, так и комплексом Hб/Hр, что нежелательно в случае сердечно-сосудистых заболеваний. Функция ингибирования окиси азота лучше выполняется в случае Hр1-1, так как комплекс Hр1-1/Hб более эффективно выводится из циркуляции по сравнению с комплексом Hр2-2/Hб [75].

В ряде работ показана ангиогенная активность зрелого Hр и изоформ Pre-Hр. В системе *in vitro* показано, что Pre-Hр усиливает экспрессию ростового фактора и рецептора (VEGF/VEGFR2), а также отростков и разветвлений в эндотелиальных клетках, которые выстилают внутреннюю поверхность кровеносных и лимфатических сосудов, то есть стимулирует ангиогенез. Мутантный Pre-Hр, который не может превратиться в Hр из-за точечной мутации (замены Arg143 (CGG) на глутамин (CAG)), оказывается эффективным при более низкой дозе [45]. У пациентов с системным васкулитом Hр стимулирует репарацию тканей и компенсирует ишемию, содействуя росту дополнительных сосудов. Причём, Hр2-2 оказался более ангиогенным, чем другие типы гаптоглобина [34, 56, 76].

Активно исследуется вопрос о принадлежности Hр к группе шаперон-подобных белков, так называемых внеклеточных молекулярных шаперонов, способных стабилизировать конформацию белка и защитить его от агрегации при стрессовых условиях. Для всех типов Hр показано предотвращение кислотной (H₂O₂) и термически индуцированной агрегации каталазы и γ -кристаллина (белок хрусталика глаза) и лишь частичный рефолдинг этих белков [77]. В экспериментах с использованием жирных кислот (олеиновой, стеариновой, пальмитиновой) показано, что форма Hр2-2 предотвращает образование фибрилл β_2 -микроглобулина. Образование амилоидных фибрилл в таких экспериментах ингибировалось полностью [2].

Обнаружено, что пациенты с бронхиальной астмой и наличием фенотипа Hр2-2 характеризуются более выраженной иммунологической реактивностью по сравнению с лицами, имеющими другие фенотипы. Можно предположить, что фенотип Hр2-2 является ассоциированным биологическим маркером бронхиальной астмы [78]. Имеются литературные данные о большей предрасположенности людей с фенотипом Hр2-2 к системному склерозу

по сравнению с лицами, имеющими фенотип Hр1-1. Более того, протеомный анализ указывает на повышенный уровень одной из α_2 -протеоформ у пациентов с системным склерозом [79].

В свете последних эпидемических событий были проведены исследования по выявлению причин разной степени распространения и смертности от COVID-19 в разных географических регионах. В частности, это могло бы быть связано с сильной географической вариабельностью защитных белков плазмы, в том числе и Hр [80, 81]. Разные фенотипы Hр не показали значительной корреляции с распространённостью COVID-19 [82]. Однако для другого белка, ACE1 (ангиотензин-превращающий фермент 1, *angiotensin-converting enzyme 1*), обнаружилась сильная корреляция по его полиморфизму, что может рассматриваться как фактор, влияющий на распространение COVID-19 и исход инфекции [82].

Родственный Hр белок Hрг также секретируется в плазму, где находится в связанном виде с аполипопротеином L-I (apoL-I), содержащимся в липопротеинах высокой плотности (ЛПВП). Этот комплекс называется трипаносомным литическим фактором-1 (TLF-1), так как он обеспечивает врождённую иммунную защиту человека от многих видов африканских трипаносом [83]. Кроме того, Hрг, как и Hр, может с высоким сродством связывать Hб и способствовать очищению от свободного Hб, чтобы обеспечить рециркуляцию гемового железа в печени. Причём, в отличие от комплекса Hр/Hб, комплекс Hрг/Hб не обладает повышенной аффинностью к рецептору CD163, поэтому и механизмы утилизации Hб в данном случае должны быть иными [83].

Несмотря на ослабленные функции, аллель *Hр2* доминирует в человеческой популяции (до 80% в ряде этнических групп) [18]. Имеются сообщения также о предрасположенности лиц, относящихся к группе Hр1-1, к ряду заболеваний, в частности к лейкозам. Так, по некоторым данным, вероятность заболевания острым лимфолейкозом у лиц с группой Hр1-1 оказалась значительно выше, чем у людей, относящихся к группе Hр2-2. Авторы считают, что фенотип Hр1-1 можно рассматривать как признак повышенного риска заболевания хроническим лимфолейкозом [84]. Однако авторы другого исследования не обнаружили увеличения частоты представленности Hр1-1 у больных хроническим лимфолейкозом и делают вывод о том, что у этих больных расположение фракций Hр на электрофореграмме может изменяться и приводить к ошибкам при учёте групп Hр [85].

5. ГАПТОГЛОБИН И ЕГО ПРОТЕОФОРМЫ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БИОМАРКЕРЫ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Большое разнообразие протеоформ Hр возникает благодаря процессингу и ПТМ. Особенно много дополнительных белковых вариантов образуется при гликозилировании β -цепи Hр по четырём

ГАПТОГЛОБИН КАК БИОМАРКЕР

сайтам Asn (Asn184, Asn207, Asn211, Asn241) [32, 86]. Многочисленные исследования показали, что изменения в модифицированных олигосахаридах β -цепи H γ в сыворотке/плазме происходит при разных патологиях, включая злокачественные новообразования. Это делает H γ (наряду с другими гликановыми маркерами) перспективным неинвазивным биомаркером для диагностики, прогнозирования и мониторинга лечения пациентов.

Многие исследования сосредоточены на идентификации ПТМ и изменениях уровня α 2-цепи H γ при патологии [15, 39, 87]. Указанные характеристики H γ свидетельствуют о возможности существования этого белка в виде различных протеоформ. Их идентификация важна для понимания физиологической и патологической роли H γ .

Протеомные технологии широко используются для исследования ПТМ в плазме крови при изучении различных болезней. Основные методы исследования для идентификации и визуализации белков: одномерный денатурирующий электрофорез с додецилсульфатом натрия (ДСН-ПААГ) и двумерный электрофорез (2DE) в сочетании с Вестерн-блоттингом или с масс-спектрометрией (МС). Результатом

таких экспериментов является получение белкового профиля (паттерна), представляющего комбинацию различных протеоформ (рис. 4). Сравнение 2DE-иммуноблоттов белка в норме и при патологии может дать картину изменений по таким параметрам, как количество протеоформ (белковых пятен), их интенсивность, размер и положение. А с помощью МС идентифицируются многочисленные сайт-специфические модификации. Что касается H γ , то по данным информационного ресурса PhosphoSitePlus имеется 5 сайтов фосфорилирования серина и тирозина, 5 сайтов ацетилирования лизина и один сайт убиквитинирования лизина H γ (human) (phosphosite.org). Характерный белковый профиль α 2-цепи H γ в 2DE-гелях при окрашивании Кумасси — три пятна с практически одинаковыми координатами по весу, но разными по *pI* (рис. 4). Центральное немодифицированной форме, которая имеет аминокислотную последовательность, указанную в базе данных Uniprot как P00738; одно пятно мигрирует в более кислую область pH (дезамидирование остатков Asn в положении 5 до аспарагиновой кислоты); другое пятно смещено в щелочную сторону из-за наличия дополнительного С-терминального

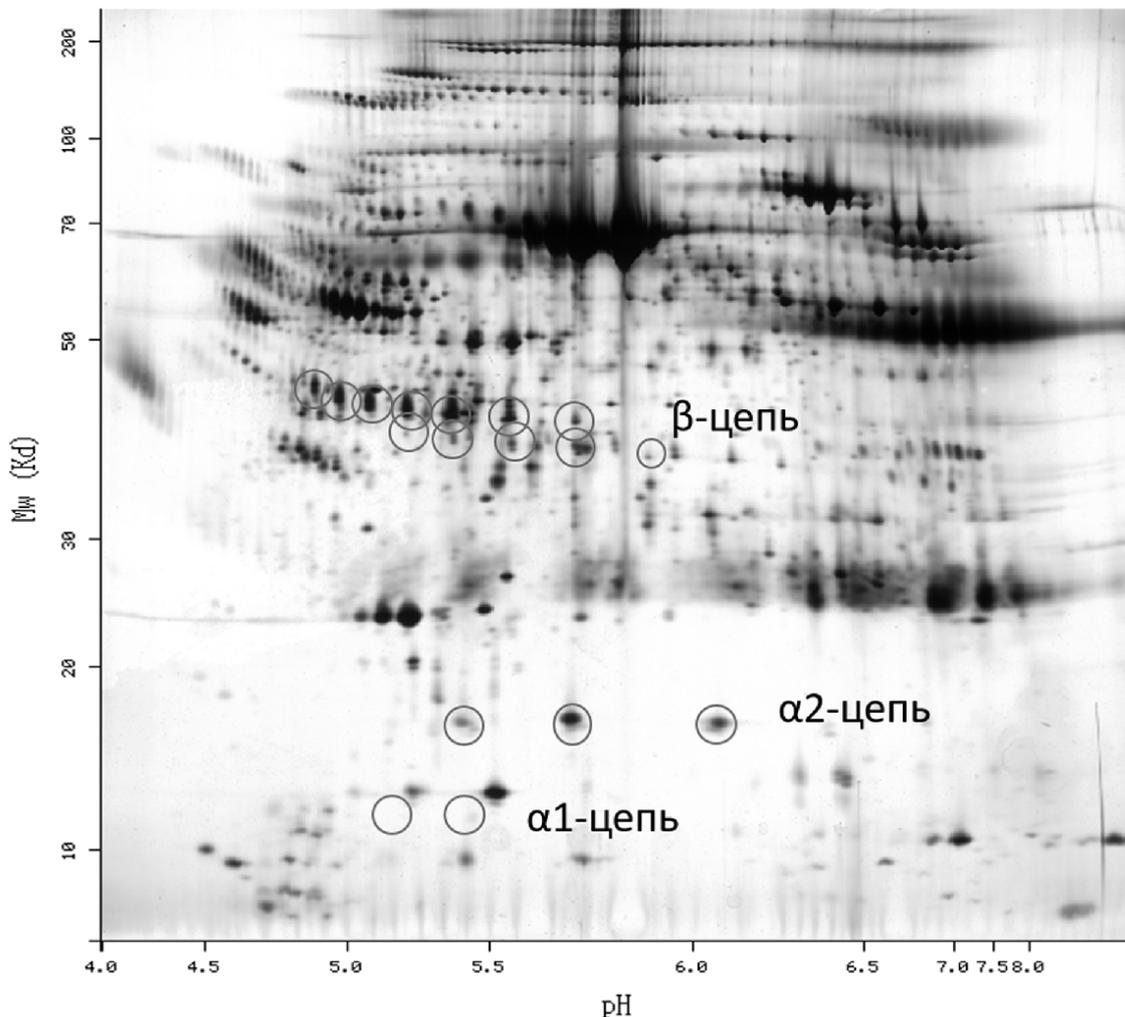


Рисунок 4. Двумерная электрофоретическая карта белков плазмы человека. Кругами обозначено положение протеоформ гаптоглобина. Адаптировано из [88].

остатка Arg (основная аминокислота), линкера между α - и β -цепями. Данная информация по ПТМ H_r была получена с помощью МС и опубликована в работе [15]. В работе [39] обнаружено изменение профиля этих протеоформ в плазме при беременности с задержкой развития плода (fetal growth restriction, FGR). Данные три формы α 2-H_r показали разные паттерны у пациентов с FGR и здоровых индивидуумов, и обнаружено присутствие специфического варианта α 2-H_r, уникального для пациентов с FGR. То есть, H_r является потенциальным маркером указанной патологии, распространённость которой составляет 3% и представляет значительную угрозу здоровью пациентов. Также показано изменение белкового профиля и значительное снижение уровня β - и α -цепей H_r в плазме пациентов больных малярией по сравнению со здоровыми донорами [89]. По имеющимся данным [90], в плазме больных немелкоклеточным раком лёгкого (non-small cell lung cancer) детектируются фосфорилированные и гликозилированные протеоформы α 2-цепи H_r.

Интересные результаты были получены при анализе сыворотки пациентов с плоскоклеточным раком лёгкого [91]. С помощью 2DE был показан повышенный уровень протеоформ β -цепи H_r. Более того, при МС анализе два пептида этих протеоформ обнаруживались особенно выразительно. Эти данные были подкреплены также иммунологически. Авторы публикации [91] считают, что детектирование одного из этих пептидов (пептид HP216) может служить перспективным биомаркером для раннего выявления плоскоклеточного рака, особенно в сочетании с определением растворимых фрагментов цитокератина 19 (CYFRA 21-1), которые используются для диагностики, оценки прогноза и контроля лечения рака лёгкого, а также некоторых других злокачественных новообразований [91, 92].

У пациенток с раком яичников обнаружено значительное увеличение уровня H_r в плазме по сравнению с контролем, и H_r признан независимым прогностическим маркером этого заболевания [93]. Более того, повышенное количество фукозилированных форм α -цепи H_r в асцитных жидкостях и в опухолевых тканях больных раком яичников подтверждают их потенциал в качестве биомаркеров прогрессирования заболевания [94, 95].

В случае рака молочной железы было показано, что уровень H_r повышен не только в крови, но и в опухолевых тканях. Причём неожиданно оказалось существование функциональной связи между H_r и гликолитическими ферментами, такими как глюкозо-6-фосфатизомераза и гексокиназа [96].

Ещё одно заболевание, где недавно обнаружили повышенный уровень H_r в плазме — острый инфаркт миокарда у молодых людей [97].

Следует также отметить возможность использования не только плазмы, но и слюны для детекции онкомаркеров [98], и H_r в том числе [99]. Например, сравнительный протеомный анализ выявил достоверное превышение (в 2,5 раза) уровня H_r в слюне у пациентов с раком почки по сравнению со здоровыми донорами [99]. Авторы этого исследования

делают вывод о том, что их экспериментальные результаты указывают на возможность использования гаптоглобина наряду с белком S100A9 в качестве потенциальных неинвазивных биомаркеров для диагностики рака почки.

Интересные результаты были получены при изучении возможной связи уровня белка H_r с метастазами в печень при колоректальном раке [100]. В этой работе авторы показали, что нокаун гена H_r специфическими РНК значительно ингибировал рост и инвазивные свойства опухоли. Авторы считают, что повышенный уровень белка H_r может рассматриваться в данном случае как предиктивный маркер метастазов в печень [100].

При исследовании больных с глиобластомой было установлено увеличение уровня и изменение белкового профиля α 2-цепи гаптоглобина по сравнению с контролем. Идентифицировано три α 2-протеоформы в контроле и шесть α 2-протеоформ у пациентов. То есть, идентификация специфических форм α 2-H_r в плазме крови может быть биомаркером глиобластомы [38, 101] (рис. 5). В наших исследованиях такой вывод также находит своё подтверждение. Согласно нашим неопубликованным данным, уровень α 2-цепи H_r в плазме крови пациентов с глиобластомой достоверно повышен по сравнению с плазмой здоровых доноров. При сравнительном анализе белковых профилей 2DE обнаружена варибельность наборов протеоформ (паттернов) α 2-цепи H_r у пациентов с глиобластомой. Учитывая результаты, полученные в работе [102], можно предположить, что протеоформы α 2-цепи H_r со сдвигом изоэлектрической точки в кислую область возможно не только дезамидированы, но и ацетилированы, и могли бы быть потенциальными маркерами глиобластомы.

Гликозилирование — одна из распространённых и важных ПТМ, создающих многочисленные белковые варианты за счёт олигосахаридной гетерогенности, которая влияет на физические (растворимость, стабильность), структурные (фолдинг) и функциональные свойства белков [32, 86]. Изменения гликозилирования, незначительные и значительные, связаны со многими заболеваниями. Причём большинство белков плазмы гликозилировано. Многочисленные исследования показывают, что сравнительный анализ N-гликановых профилей с применением МС может позволить проводить раннюю диагностику разных типов злокачественных новообразований, так как определённые олигосахаридные структуры доминируют при разных типах указанной патологии и могут использоваться как биомаркеры [103, 104]. Анализ гликанов представляет исследование олигосахаридной части гликопротеинов и может включать в себя анализ целого гликопротеина, разделение и детектирование гликоформ, анализ гликопептидов, полученных после ферментной обработки гликопротеина, анализ отщеплённых гликанов, полученных после химической или ферментативной обработки гликопротеина. Наиболее характерное нарушение гликозилирования по сравнению с нормой — степень разветвлённости N-гликановых цепей:

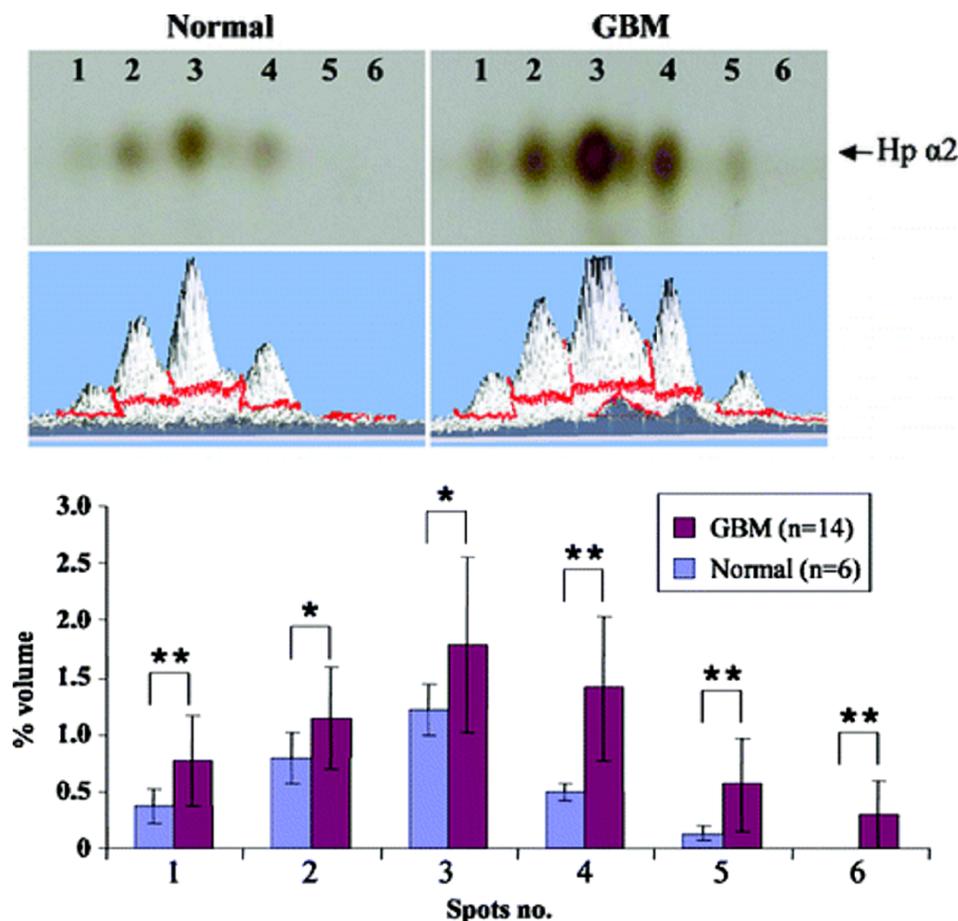


Рисунок 4. Протеомный анализ сыворотки здоровых людей и пациентов с глиобластомой (GBM). (Вверху) Белки сыворотки от здоровых доноров и пациентов с глиобластомой были разделены с помощью 2DE и визуализированы окрашиванием серебром. (1-6) — пятна $\alpha 2$ -цепи Hp с одинаковой массой и разными *pI*. (Внизу) Статистический анализ по размеру пятен на основе 6 (норма) и 14 (GBM) гелей. Перепечатано с разрешения (Kumar D.M., Thota B., Shinde S.V., Prasanna K.V., Hegde A.S., Arivazhagan A., Chandramouli B.A., Santosh V., Somasundaram K. (2010) J. Proteome Res., 9(11), 5557-5567). Авторское право (2010) American Chemical Society.

би-, три- и тетра-антеннальные структуры. Они также отличаются по количеству сайтов гликозилирования и степени фукозилирования и сиалирования [32]. Три- и тетра-антеннальные варианты называются Lewis Y-типе структурами. Вводится понятие микрогетерогенности, специфичной для белка и сайта, которая контролирует структуру, функцию и взаимодействие белков [86, 105]. Для большинства типов злокачественных новообразований характерно увеличение уровня Hp [106]. В работе [107], используя 2DE и МС, было показано значительное возрастание уровня модифицированных форм Pre-Hp в сыворотке пациентов больных раком молочной железы по сравнению со здоровыми донорами.

Известно, что в норме в печени фукозилтрансферазная активность невысока, и большая часть Hp у здоровых индивидуумов не фукозилирована [108]. Исследования показали, что изменения в структуре гликанов сыворотки (плазмы) крови, в том числе и Hp, то есть aberrантное гликозилирование, часто обнаруживается в связи с онкологическими заболеваниями, например, при раке яичников [94], раке прямой кишки [106], раке печени [32, 86, 104], раке

лёгкого [109], раке поджелудочной железы [108], раке желудка [110, 111]. В плазме пациентов с раком поджелудочной железы исследования показали рост ди-, три- и тетра-разветвлённых гликанов, причём количество триантеннальных гликанов, содержащих фукозу Lewis X-типа, заметно возросло в Asn211 сайте β -цепи Hp [108]. Высокие уровни фукозилированного Hp также были найдены в плазме пациентов с различными карциномами [112]. В работе [86] был проведен анализ гликопептидов и отщеплённых перметилированных N-гликанов. Обнаружены сайт-специфические гликоформы гаптоглобина с увеличением фукозилирования β -цепей вплоть до шести фукоз при заболеваниях печени (цирроз и гепатокарцинома). Авторы считают, что наблюдаемые изменения достаточно велики и специфичны и могут быть диагностическим тестом для неинвазивного мониторинга течения заболевания. В работе [111] успешно проведён анализ aberrантного гликозилирования Hp сыворотки крови у пациентов с раком желудка. В исследовании [104] представлена высокочувствительная и специфичная модель для диагностики гепатокарциномы, которая заключается в системном анализе концентрации Hp

в сыворотке и сравнительном количественном анализе сиалированных и фукозилированных форм Нр на разных стадиях гепатита и гепатокарциномы. С помощью латекс-аффинной очистки (использования гликозил-специфических лектинов) и 2DE детектировано 18 вариантов гликоформ S-Нр и F-Нр. С помощью МС у пациентов с НСС найдены уникальные паттерны гликоформ Нр, состоящие из гиперсиалированных фукозилированных и гипосиалированных фукозилированных протеоформ. В особых случаях показано связывание фукозы с коровым N-ацетилглюкозаминным остатком и образование тетраантеннальных β -цепей. Увеличение уровня фукозилированного Нр обнаружено при сравнительном анализе плазмы пациентов с псориазом и здоровых индивидуумов. Аберрантные гликоформы могут отражать изменения функции Нр в коже и использоваться как маркер заболевания [113]. Также был показан значительно повышенный уровень фукозилированного Нр (F-Нр) в сыворотке пациентов с раком поджелудочной железы и даже получены моноклональные антитела, высокоспецифичные к форме F-Нр, присутствующей у пациента [114, 115].

Подробная характеристика гликозилирования Нр в разных типах злокачественных новообразований с описанием использованных методических приёмов дана в обзоре [116]. Важные результаты были получены при исследовании гликозилирования Нр в связи с аффинностью его связывания с Нб. На примере Нр1-1 показано, что фукозилирование значительно стабилизирует комплексы Нр/Нб, а (разветвлённые) антеннальные структуры снижают аффинность связывания таких комплексов [105]. Применяя нативный ПААГ, гель-фильтрацию, ионообменную хроматографию и передовые технологии МС, были выявлены сотни протеоформ/гликоформ Нр и их комбинаций [117]. Показано в деталях, как они сосуществуют в сыворотке крови, как различаются у индивидуумов с разными генотипами (Нр2-1 и Нр2-2) и разным олигомерным состоянием белка. Выявлена корреляция между уровнем гликозилирования и размером олигомера Нр. Примечательно, что уровень фукозилирования и разветвлённости гликанов снижается с увеличением размера олигомеров как Нр2-1, так и Нр2-2. Согласно данным авторов публикации [117], олигомеры с меньшей массой имеют большую аффинность к Нб по сравнению с олигомерами большей массы. На этом основании сделан вывод о том, что значительное фукозилирование и разветвлённость гликановых структур усиливают связь Нр-Нб комплекса. Интересно, что в работе [105] было показано, что Нр1-1 с более высокой степенью разветвлённости наоборот проявлял более низкую аффинность связывания с Нб. Кроме того, обнаружено влияние на связь в комплексе протеолитического процессинга α -цепи Нр: чем больше олигомер, тем более высок уровень Нр α R изоформ (R — это C-терминальный остаток аргинина, линкера между α - и β -цепями). Удаление C-терминального аргинина рассматривается как процесс созревания Нр [15]. Обнаружено, что у здоровых индивидуумов сайты гликозилирования Asn184, Asn207, Asn241 имеют предпочтительно

сиалированные биантеннальные N-гликаны, в то время как сайт Asn211 занят сиалированными триантеннальными N-гликанами. Таким образом, на тонкую настройку образования комплекса Нр/Нб оказывает влияние кумулятивный эффект многих факторов, включая генотип гаптоглобина, паттерны гетерогенного гликозилирования, пост-трансляционный протеолитический процессинг α -цепи гаптоглобина. Следует указать, что обе группы авторов, [105] и [117], использовали коммерчески доступные препараты Нр и Нб.

Очевидно, что изучение гликозилирования белков, в том числе Нб, стало одним из главных направлений в исследованиях злокачественных новообразований. Гликопротеомика — это технологический прорыв, который начал давать обещающие результаты в идентификации биомаркеров для ранней диагностики и терапии. По данным обзора [118], растёт признание огромного потенциала гликанов для персонализированной медицины. Но следует учитывать, что злокачественная трансформация — гетерогенное заболевание, и панель маркеров может обеспечить более точную информацию, чем один маркер [109].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Уровень содержания Нр в плазме крови может быть использован не только в качестве биохимического показателя для диагностики развития в организме гемолитических и воспалительных процессов и функционального состояния печени. По фенотипу Нр можно судить об индивидуальной предрасположенности человека к различным заболеваниям. Наряду с группой крови и резус-фактором фенотип Нр является важным индивидуальным признаком. При разработке, внедрении приёмов персонализированной медицины и появлении в будущем паспортов здоровья фенотип Нр необходимо учитывать. Более того, есть основания для использования Pre-Нр2 (зонулина), а также протеоформ как α -цепей, так и β -цепей Нр в качестве биомаркеров многих, в том числе и онкологических патологий.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование проведено в рамках выполнения Государственного задания Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра “Курчатовский институт” на 2021-2023 годы.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Polonovski M.J.M. (1938) C. R. Seances Soc. Biol. Fil., **129**, 457-460.
2. Sultan A., Raman B., Rao C.M., Tangirala R. (2013) J. Biol. Chem., **288**(45), 32326-32342.
3. van der Straten A., Herzog A., Cabezon T., Bollen A. (1984) FEBS Lett., **168**(1), 103-107.
4. Maeda N., Smithies O. (1986) Annu. Rev. Genet., **20**, 81-108.
5. Bensi G., Raugeri G., Klefenz H., Cortese R. (1985) EMBO J., **4**(1), 119-126.
6. Smithies O., Connell G.E., Dixon G.H. (1962) Nature, **196**, 232-236.
7. Carter K., Worwood M. (2007) Int. J. Lab. Hematol., **29**(2), 92-110.
8. Белов А.П., Будяков О.С. (1963) Судебно-медицинская экспертиза, **1**, 28-29. [Belov A.P., Budjakov J.S. (1963) Sudebno-medicinskaya ekspertiza, **1**, 28-29.]
9. McEvoy S.M., Maeda N. (1988) J. Biol. Chem., **263**(30), 15740-15743.
10. Lee P.L., Lee K.Y., Cheng T.M., Chuang H.C., Wu S.M., Feng P.H., Liu W.T., Chen K.Y., Ho S.C. (2019) Sci. Rep., **9**(1), 1-8.
11. Shih A.W.Y., Mcfarlane A., Verhovsek M. (2014) Am. J. Hematol., **89**(4), 443-447.
12. Wicher K.B., Fries E. (2007) J. Mol. Evol., **65**(4), 373-379.
13. Schaer C.A., Owczarek C., Deuel J.W., Schauer S., Baek J.H., Yalamanoglu A., Hardy M.P., Scotney P.D., Schmidt P.M., Pelzing M., Soupourmas P., Buehler P.W., Schaer D.J. (2018) BMC Biotechnol., **18**(1), 15. DOI: 10.1186/s12896-018-0424-3.
14. Tseng C.F., Lin C.C., Huang H.Y., Liu H.C., Mao S.J.T. (2004) Proteomics, **4**(8), 2221-2228.
15. Mikkat S., Koy C., Ulbrich M., Ringel B., Glocker M.O. (2004) Proteomics, **4**(12), 3921-3932.
16. John H.A., Purdom I.F. (1987) Genet. Res., **50**(1), 17-21.
17. Polticelli F., Bocedi A., Minervini G., Ascenzi P. (2008) FEBS J., **275**(22), 5648-5656.
18. Larsson M., Cheng T.-M., Chen C.-Y., Mao S.J.T. (2013) in: Handbook:Unique Assembly Structure of Human Haptoglobin Phenotypes 1-1, 2-1, and 2-2 and a Predominant Hp 1 Allele Hypothesis. Acute Phase Proteins, Chapter 7, INTECH, pp.163-179.
19. Yang F., Brune J.L., Baldwin W.D., Barnett D.R., Bowman B.H. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **80**(19), 5875-5879.
20. Wicher K.B., Fries E. (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **101**(40), 14390-14395.
21. Buehler P.W., Humar R., Schaer D.J. (2020) Trends Mol. Med., **26**(7), 683-697.
22. Boettger L.M., Salem R.M., Robert E., Handsaker R.E., Peloso G., Kathiresan S., Hirschhorn J., McCarroll S.A. (2016) Nat. Genet., **48**(4), 359-366.
23. Koda Y., Soejima M., Yoshioka N., Kimura H. (1998) Am. J. Hum. Genet., **62**(2), 245-252.
24. Park K.U., Song J., Kim J.Q. (2004) J. Clin. Pathol., **57**(10), 1094-1095.
25. Kurosky A., Barnett D.R., Lee T.-H., Touchstone B., Hay R.E., Arnott M.S., Bowman B.H., Fitch A.W. (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **77**(6), 3388-3392.
26. Alayash A.I., Andersen C.B.F., Moestrup S.K., Bülow L. (2013) Trends Biotechnol., **31**(1), 2-3.
27. Wassler M., Fries E. (1993) J. Cell. Biol., **123**(2), 285-291.
28. Hanley J.M., Haugen T.H., Heath E.C. (1983) J. Biol. Chem., **258**(12), 7858-7869.
29. Tripathi A., Lammers K.M., Goldblum S., Shea-Donohue T., Netzel-Arnett S., Buzza M.S., Antalis T.M., Vogel S.N., Zhao A., Yang S., Arriettac M.-C., Meddings J.B., Fasano A. (2009) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **106**(39), 16799-16704.
30. Fasano A. (2011) Physiol. Rev., **91**(1), 151-175.
31. Gast M.C.W., van Tinteren H., Bontenbal M., van Hoesel R.Q.G.C.M., Nooij M.A., Rodenhuis S., Span P.N., Tjan-Heijnen V.C.G., de Vries E.G.E., Harris N., Twisk J.W.R., Schellens J.H.M., Beijnen J.H. (2008) BMC Cancer, **8**, 389. DOI: 10.1186/1471-2407-8-389.
32. Clerc F., Reiding K.R., Jansen B.C., Kammeijer G.S.M., Bondt A., Wührer M. (2016) Glycoconj. J., **33**(3), 309-343.
33. Beeri M.S., Lin H.M., Sano M., Ravona-Springer R., Liu X., Bendlin B.B., Gleason C.E., Guerrero-Berroa E., Soleimani L., Launer L.J., Ehrenberg S., Lache O., Seligman Y.K., Levy A.P. (2018) JAMA Netw. Open, **1**(7), e184458. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2018.4458.
34. de Albuquerque Wobeto V.P., Zaccariotto T.R., de Fátima Sonati M. (2008) Genet. Mol. Biol., **31**(3), 602-620.
35. Ko D.H., Chang H.E., Kim T.S., Song E.Y., Park K.U., Song J., Han K.S. (2013) Biomed. Res. Int., **2013**, 390630. DOI: 10.1155/2013/390630.
36. Simpson M., Snell-Bergeon J.K., Kinney G.L., Lache O., Miller-Lotan R., Anbinder Y., Rewers M.J., Levy A.P. (2011) Cardiovasc. Diabetol., **10**, 99. DOI: 10.1186/1475-2840-10-99.
37. Smith J.G., Gerszten R.E. (2017) Circulation, **135**(17), 1651-1664.
38. Gollapalli K., Ray S., Srivastava R., Renu D., Singh P., Dhali S., Dikshit J.B., Srikanth R., Moiyadi A., Srivastava S. (2012) Proteomics, **12**(14), 2378-2390.
39. Gupta M.B., Seferovic M.D., Liu S., Gratton R.J., Doherty-Kirby A., Lajoie G.A., Han V.K.M. (2006) Clin. Proteom., **2**, 169-184.
40. Nirala N.R., Shtenberg G. (2019) Biomolecules, **9**, 12-19.
41. Raynes J.G., Eagling S., Mcadam K.P.W.J. (1991) Clin. Exp. Immunol., **83**(3), 488-491.
42. Pakharukova N.A., Pastushkova L.K., Moshkovskii S.A., Larina I.M. (2011) Biochem. Suppl. Ser. B Biomed. Chem., **5**(3), 203-212.
43. Hortin G., Sviridov D., Anderson N.L. (2008) Clin. Chem., **54**(10), 1608-1616.
44. Sadrzadeh S.M.H., Bozorgmehr J. (2004) J. Clin. Pathol., **121**(Suppl), S97-S104.
45. Oh M.K., Park H.J., Lee J.H., Bae H.M., Kim I.S. (2015) FEBS Lett., **589**(9), 1009-1017.
46. di Masi A., de Simone G., Ciaccio C., d'Orso S., Coletta M., Ascenzi P. (2020) Mol. Aspects Med., **73**, 100851. DOI: 10.1016/j.mam.2020.100851.
47. McCormick D.J., Atassi M.Z. (1990) J. Protein Chem., **9**(6), 735-742.
48. Lustbader J.W., Arcoletto J.P., Birken S., Greer J. (1983) J. Biol. Chem., **258**(2), 1227-1234.
49. Bale B.F., Doneen A.L., Vigerust D.J. (2018) Front. Cardiovasc. Med., **5**, 141. DOI: 10.3389/fcvm.2019.00194
50. Melamed-Frank M., Lache O., Enav B.I., Szafranek T., Levy N.S., Ricklis R.M., Levy A.P. (2001) Blood, **8**(13), 3693-3698.
51. Goldenstein H., Levy N.S., Levy A.P. (2012) Pharmacol. Res., **66**(1), 1-6.
52. Levy A.P., Hochberg I., Jablonski K., Resnick H.E., Lee E.T., Best L., Howard B.V. (2002) J. Am. Coll. Cardiol., **40**(11), 1984-1990.
53. Aghaalikhani N., Zamani M., Allameh A., Mashayekhi A., Shadpour P., Mahmoodi M., Rashchizadeh N. (2020) EXCLI J., **19**, 351-359.

54. Kaiser M., Thurner E.-M., Mangge H., Herrmann M., Semeraro M.D., Renner W., Langsenlehner T. (2020) *Sci. Rep.*, **10**, 13117. DOI: 10.1038/s41598-020-69333-z.
55. Tan S.H., Yougbaré S., Chu H.L., Kuo T.R., Cheng T.M. (2020) *Polymers (Basel)*, **12**(10), 2242. DOI: 10.3390/polym12102242.
56. MacKellar M., Vigerust D.J. (2016) *Clin. Diabetes*, **34**(3), 148-157.
57. Ascenzi P., Bocedi A., Visca P., Altruda F., Tolosano E., Beringhelli T., Fasano M. (2005) *IUBMB Life*, **57**(11), 749-759.
58. Lipiski M., Deuel J.W., Baek J.H., Engelsberger W.R., Buehler P.W., Schaer D.J. (2013) *Antioxidants Redox Signal.*, **19**(14), 1619-1633.
59. Cheng T.M., Pan J.P., Lai S.T., Kao L.P., Lin H.H., Mao S.J.T. (2007) *Clin. Biochem.*, **40**(13-14), 1045-1056.
60. Bamm V.V., Tsemakhovich V.A., Shaklai M., Shaklai N. (2004) *Biochemistry*, **43**(13), 3899-3906.
61. Schaer D.J., Buehler P.W., Alayash A.I., Belcher J.D., Vercellotti G.M. (2013) *Blood*, **121**(8), 1276-1284.
62. de Kleijn D.P.V., Smeets M.B., Kemmeren P.P.C.W., Lim S.K., van Middelaar B.J., Velema E., Schoneveld A., Pasterkamp G., Borst C. (2002) *FASEB J.*, **16**(9), 1123-1125.
63. Nantasenamat C., Prachayasittikul V., Bulow L. (2013) *PLoS One*, **8**(4), e62996. DOI: 10.1371/journal.pone.0062996.
64. Lim S.K. (2001) *Redox Rep.*, **6**(6), 375-378.
65. Nielsen M.J., Moestrup S.K. (2009) *Blood*, **108**(8), 2846-2849.
66. Tolosano E., Fagoonee S., Hirsch E., Berger F.G., Baumann H., Silengo L., Altruda F. (2002) *Blood*, **100**(12), 4201-4205.
67. Arredouani M., Matthijs P., van Hoeyveld E., Kasran A., Baumann H., Ceuppens J.L., Stevens E. (2003) *Immunology*, **108**, 144-151.
68. Asleh R., Marsh S., Shilkrut M., Binah O., Guetta J., Lejbkowitz F., Enav B., Shehadeh N., Kanter Y., Lache O., Cohen O., Levy N.S., Levy A.P. (2003) *Circ. Res.*, **92**, 1193-1200.
69. Cahill L.E., Jensen M.K., Chiuvé S.E., Shalom H., Pai J.K., Flint A.J., Mukamal K.J., Rexrode K.M., Levy A.P., Rimm E.B. (2015) *J. Am. Coll. Cardiol.*, **66**(16), 1791-1799.
70. Cahill L.E., Levy A.P., Chiuvé S.E., Jensen M.K., Wang H., Shara N.M., Blum S., Howard B.V., Pa J.K., Mukamal K.J., Rexrode K.M., Rimm E.B. (2013) *J. Am. Coll. Cardiol.*, **61**(7), 728-737.
71. Asleh R., Guetta J., Kalet-Litman S., Miller-Lotan R., Levy A.P. (2005) *Circ. Res.*, **96**, 435-441.
72. Eaton J.W., Brandt P., Mahoney J.R., Lee J.T. (1982) *Science*, **215**, 691-693.
73. Yang F., Friedrichs W.E., Navarajo-Ashbaugh A.L., de Graffenried L.A., Bowman B.H., Coalson J.J. (1995) *Lab. Invest.*, **73**(3), 433-440.
74. Langlois M.R., Delanghe J.R. (1996) *Clin. Chem.*, **42**(10), 1589-1600.
75. Sertório J.T., Lacchini R., Amaral L.M., Palei A.C.T., Cavalli R.C., Sandrim V.C., Duarte G., Tanus-Santos J.E. (2013) *J. Hum. Hypertens.*, **27**, 349-354.
76. Cid M.C., Grant D.S., Hoffman G.S., Auerbach R., Fauci A.S., Kleinman H.K. (1993) *J. Clin. Invest.*, **91**, 977-985.
77. Pavlíček Z., Etrich R. (1999) *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.*, **4**, 717-725.
78. Василевский И.В. (2017) Международные обзоры клиническая практика и здоровье, Беларусь, Минск, 147-159. [Vasilevsky I.V. (2017) Mezhdunarodnye obzori klinicheskaya praktika i zdorovje, Belarus, Minsk, 147-159.]
79. Guerranti R., Bertocci E., Fioravanti A., Papakostas P. (2010) *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, **23**(3), 901-909.
80. Cavalli-Sforza L.L., Menozzi P., Piazza A. (1994) in: *The History and Geography Human Genes*, Princeton University Press: Princeton, NJ, USA, 1-108.
81. Langlois M., Delanghe J. (1996) *Clin. Chem.*, **42**, 1589-1600.
82. Delanghe J.R., Marijn M., Speeckaert M.M., de Buyzere M.L. (2020) *Clin. Chem. Lab. Med.*, **58**(7), 1125-1126.
83. Nielsen M.J., Petersen S.V., Jacobsen C., Oxvig C., Rees D., Møller H.J., Moestrup S.K. (2006) *Blood*, **108**(8), 2846-2849.
84. Peacock A.C. (1966) *J. Natl. Cancer Inst.*, **36**(4), 631-639.
85. Николенко О.В. (1977) Судебно-медицинская экспертиза, **3**, 45-47. [Nikolenko O.V. (1977) Sudebno-medicinskaya ekspertiza, **3**, 45-47.]
86. Pompach P., Brnakova Z., Sanda M., Wu J., Edwards N., Goldman R. (2013) *Mol. Cell. Proteomics*, **12**, 1281-1293.
87. Chen C.B., Su Y.C., Huang T.T., Ho H.C., Chang Y.-T., Tung Y.-T., Lee W.C. (2008) *Clin. Chim. Acta*, **398**, 48-52.
88. Sanchez J.-C., Appel R.D., Golaz O., Pasquali C., Ravier F., Bairoch D.F., Hochstrasse D.F. (1995) *Electrophoresis*, **16**(7), 1131-1151.
89. Bahk Y.Y., Na B.K., Cho S.H., Kim J.Y., Lim K.-J., Kim T.-S. (2010) *Korean J. Parasitol.*, **48**(3), 203-211.
90. Ma H.T., Sriyam S., Sinchaikul S., Tsai H.Y., Phutrakul S., Chen S.-T. (2013) *J. Proteom. Bioinform.*, **6**(9), 187-196.
91. Okano T., Seike M., Kuribayashi H., Soeno C., Ishii T., Kida K., Gemma A. (2016) *Int. J. Oncol.*, **48**(3), 945-952.
92. Edelman M.J., Hodgson L., Rosenblatt P.Y., Christenson R.H., Vokes E.E., Wang X., Kratzke R.P.Y. (2012) *J. Thorac. Oncol.*, **7**(4), 649-654.
93. Zhao C., Annamalai L., Guo C., Kothandaraman N., Koh S.C.L., Zhang H., Arijit Biswas A., Choolani M. (2007) *Neoplasia*, **9**(1), 1-7.
94. Garibay-Cerdenares O.L., Hernández-Ramírez V.I., Osorio-Trujillo J.C., Hernández-Ortiz M., Gallardo-Rincón D., de Leyn D.C., Encarnación-Guevara S., Villegas-Pineda J.C., Talamás-Rohana P. (2014) *J. Ovarian Res.*, **7**, 27. DOI: 10.1186/1757-2215-7-27.
95. Ye B., Cramer D.W., Skates S.J., Gygi S.P., Pratomo V., Fu L., Horick N.K., Licklider L.J., Schorge J.O., Berkowitz R.S., Mok S.C. (2003) *Clin. Cancer Res.*, **9**(8), 2904-2911.
96. Chen J., Cheuk I.W., Siu M.T., Yang W., Cheng A.S., Shin V.Y., Kwong A. (2020) *Am. J. Cancer Res.*, **10**(9), 2865-2877.
97. Bakrim N.M., Mohd S.A.N.S., Talib A.N., Ab Rahman J., Abdullah A. (2020) *Malays. J. Med. Sci.* **27**(2), 64-76.
98. Chiappin S., Antonelli G., Gatti R., de Palo E.F. (2007) *Clin. Chim. Acta*, **383**(1-2), 30-40.
99. Zhang X.L., Wu Z.Z., Xu Y., Wang J.G., Wang Y.Q., Cao M.Q., Wang C.H. (2020) *Open Chem.*, **18**, 918-926.
100. Sun L., Hu S., Yu L., Guo C., Sun L., Yang Z., Qi J., Ran Y. (2016) *Int. J. Cancer*, **138**(11), 2724-2731.
101. Kumar D.M., Thota B., Shinde S.V., Prasanna K.V., Hegde A.S., Arivazhagan A., Chandramouli B.A., Santosh V., Somasundaram K. (2010) *J. Proteome Res.*, **9**(11), 5557-5567.
102. Petushkova N.A., Zgoda V.G., Pyatitskiy M.A., Larina O.V., Teryaeva N.B., Potapov A.A., Lisitsa A.V. (2017) *PLoS One*, **12**(5), e0177427. DOI: 10.1371/journal.pone.0177427.
103. Okuyama N., Ide Y., Nakano M., Nakagawa T., Yamanaka K., Moriwaki K., Murata K., Ohigashi H., Yokoyama S., Eguchi H., Ishikawa O., Ito T., Kato M., Kasahara A., Kawano S., Gu J., Taniguchi N., Miyoshi E. (2006) *Int. J. Cancer*, **118**(11), 2803-2808.

ГАПТОГЛОБИН КАК БИОМАРКЕР

104. Ang I.L., Poon T.C.W., Lai P.B.S., Chan A.T.C., Ngai S.-M., Hui A.Y., Johnson P.J., Sung J.J.Y. (2006) *J. Proteome Res.*, **5**(10), 2691-2700.
105. Wu D., Struwe W.B., Harvey D.J., Ferguson M.A.J., Robinson C.V. (2018) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**(35), 8763-8768.
106. Park S.Y., Lee S.H., Kawasaki N., Itoh S., Kang K., Ryu S.H., Hashii N., Kim J.-M., Kim J.-Y., Kim J.H. (2012) *Int. J. Cancer*, **130**(10), 2366-2376.
107. Hamrita B., Chahed K., Trimeche M., Guillier C.L., Hammann P., Chaïeb A., Korbi S., Chouchane L. (2009) *Clin. Chim. Acta*, **404**(2), 111-118.
108. Nakano M., Nakagawa T., Ito T., Kitada T., Hijioka T., Kasahara A., Tajiri M., Wada Y., Taniguchi N., Miyoshi E. (2008) *Int. J. Cancer*, **122**(10), 2301-2309.
109. Hoagland IV L.F.M., Campa M.J., Gottlin E.B., Herndon J.E., Patz E.F. (2007) *Cancer*, **110**(10), 2260-2268.
110. Lee S.H., Jeong S., Lee J., Yeo I.S., Oh M.J., Kim U., Kim S., Kim S.H., Park S.-Y., Kim J.-H., Park S.H., Kim J.H., An H.J. (2016) *Mol. Biosyst.*, **12**(12), 3611-3621.
111. Kim J.H., Lee S.H., Choi S., Kim U., Yeo I.S., Kim S.H., Oh M.J., Moon H., Lee J., Jeong S., Choi M.G., Lee J.H., Sohn T.S., Bae J.M., Kim S., Min Y.W., Lee H., Lee J.H., Rhee P.-L., Kim J.J., Lee S.J., Kim S.T., Lee J., Park S.H., Park J.O., Park Y.S., Lim H.Y., Kang W.K., An H.J., Kim J.H. (2017) *Oncotarget*, **8**(7), 11094-11104.
112. Miyoshi E., Moriwaki K., Terao N., Tan C.C., Terao M., Nakagawa T., Matsumoto H., Shinzaki S., Kamada Y. (2012) *Biomolecules*, **2**(1), 34-45.
113. Maresca B., Cigliano L., Spagnuolo M.S., Piaz F.D., Corsaro M.M., Balato N., Nino M., Balato A., Ayala F., Abrescia P. (2012) *PLoS One*, **7**(12), e52040. DOI: 10.1371/journal.pone.0052040.
114. Nishino K., Koda S., Kataoka N., Takamatsu S., Nakano M., Ikeda S., Kamamatsu Y., Morishita R., Moriwaki K., Eguchi H., Yamamoto E., Kikkawa F., Tomita Y., Kamada Y., Miyoshi E. (2018) *Oncotarget*, **9**(16), 12732-12744.
115. Morishita K., Maki Y., Takamatsu S., Ito N., Koda S., Motooka K., Kamada Y., Kajihara Y., Miyoshi E. (2020) *Anal. Biochem.*, **593**, 113588. DOI: 10.1016/j.ab.2020.113588.
116. Zhang S., Shang S., Li W., Qin X., Liu Y. (2016) *Glycobiology*, **26**(7), 684-692.
117. Tamara S., Franc V., Heck A.J.R. (2020) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**(27), 15554-15564.
118. Dotz V., Wuhrer M. (2019) *FEBS Lett.*, **593**, 2966-2976.

Поступила в редакцию: 04. 02. 2021.

После доработки: 05. 03. 2021.

Принята к печати: 05. 03. 2021.

HAPTOGLOBIN AS A BIOMARKER

S.N. Naryzhny^{1,2}, O.K. Legina²*

¹Institute of Biomedical Chemistry,

10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; * e-mail: snaryzhny@mail.ru

²Petersburg Institute of Nuclear Physics B.P. Konstantinova National Research Center “Kurchatov Institute”,

1 Orlova Roshcha, Gatchina, Leningrad Region, 188300 Russia

Haptoglobin (Hp) is a blood plasma glycoprotein that binds free hemoglobin (Hb) and plays a critical role in tissue protection and the prevention of oxidative damage. In addition, it has a number of regulatory functions. Haptoglobin is an acute phase protein, its concentration in plasma changes in pathology, and the test for its concentration is part of normal clinical practice. Haptoglobin is a conservative protein synthesized mainly in the liver and lungs and is the subject of research as a potential biomarker of many diseases, including various forms of malignant neoplasms. Haptoglobin has several unique biophysical characteristics. Only in humans, the *Hp* gene is polymorphic, has three structural alleles that control the synthesis of three major phenotypes of Hp, homozygous Hp1-1 and Hp2-2, and heterozygous Hp2-1, determined by a combination of allelic variants that are inherited. Numerous studies indicate that the phenotype of haptoglobin can be used to judge the individual's predisposition to various diseases. In addition, Hp undergoes various post-translational modifications (PTMs). These are structural transformations (removal of the signal peptide, cutting of the Pre-Hp precursor molecule into two subunits, α and β , limited proteolysis of α -chains, formation of disulfide bonds, multimerization), as well as chemical modifications of α -chains and glycosylation of the β -chain. Glycosylation of the β -chain of haptoglobin at four Asn sites is the most important variable PTM that regulates the structure and function of the glycoprotein. The study of modified oligosaccharides of the Hp β -chain has become the main direction in the study of pathological processes, including malignant neoplasms. Many studies are focused on the identification of PTM and changes in the level of the α 2-chain of this protein in pathology. These characteristics of Hp indicate the possibility of the existence of this protein as different proteoforms, probably with different functions. This review is devoted to the description of the structural and functional diversity of Hp and its potential use as a biomarker of various pathologies.

Key words: haptoglobin, biomarker

Funding. The study was conducted within the framework of the State Assignment of the National Research Center “Kurchatov Institute” — PNPI (Petersburg Nuclear Physics Institute) for 2021-2023.

Received: 04.02.2021, revised: 05.03.2021, accepted: 05.03.2021.