

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

*ISSN 0042-8809*

1990

Том 36 выпуск 2

**Внимание!** Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

## Voprosy meditsinskoi khimii

*ISSN 0042-8809*

1990

Volume 36 issue 2

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

Д. А. Соркина

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ПРОИСХОЖДЕНИЯ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА (ОБЗОР)

Симферопольский университет

Современный этап развития представлений о молекулярной эволюции характеризуется накоплением информации о структурной организации и функции белковых молекул. Интерес к белку обусловлен и тем, что структура его отражает структуру генетического материала [1]. Интенсивное развитие электрофоретических методов привело к широкому изучению белковых компонентов сыворотки крови человека и разных видов животных, что позволило выявить определенные тенденции в становлении и эволюции функций сывороточных белков. Существование генетического контроля биосинтеза сывороточных белков и возможность трансформации нормального генотипа подтверждаются обнаружением в сыворотке крови дискретных электрофоретических вариантов различных белковых фракций. В частности, в литературе представлены данные о генетическом полиморфизме сывороточного альбумина человека и некоторых животных [2, 5, 16].

Характерной особенностью сывороточного альбумина (СА), отличающей его от других транспортных белков, является свойство взаимодействовать с многочисленными эндогенными и экзогенными соединениями. Среди эндогенных веществ такие естественные метаболиты, как жирные кислоты и билирубин, отличаются наиболее высоким сродством к белку. Взаимодействие СА с этими гидрофобными лигандами обуславливает их растворимость в крови и снижает токсичность билирубина. СА связывает также различные лекарственные соединения, антибиотики, обеспечивая их транспорт и распределение в тканях организма. Фармакодинамический эффект большинства лекарственных веществ обусловлен образованием их комплексов с СА.

Связывающие свойства СА обусловлены существованием на поверхности белковой молекулы различных регионов, к которым лиганды обладают высоким сродством [3, 17]. Установление первичной структуры СА позволило получить информацию о локализации некоторых связывающих участков на белке [31].

СА состоит из одиночной длинной полипептидной цепи, для которой установлена аминокислотная последовательность [19]. Полипептидная цепь СА человека включает 585 аминокислотных остатков, однако аминокислотная последовательность СА, функционирующего в кровотоке, отличается от новосинтезированного пе-

ченочными клетками предшественника наличием дополнительного N-концевого пептида [11] (рис. 1).

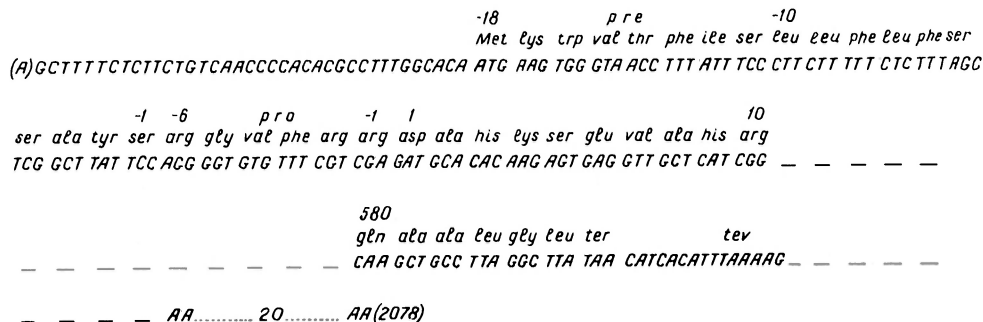
Часть этого дополнительного полипептида представлена 18 аминокислотными остатками препептида и следующими за ним 6 остатками пропептида [22, 29]. Препептид выполняет характерную для секреторных белков роль вектора, инициирующего прохождение растущей полипептидной цепи через биомембраны клеток ретикулоэндотелиальной системы [25].

Относительно вторичной и третичной структур СА известно еще мало. Предложены некоторые модели, описывающие трехмерную структуру СА на основе данных по аминокислотной последовательности, регулярности размещения остатков цистеина вдоль цепи и локализации дисульфидных связей. Согласно трехдоменной модели [9], «укладка» полипептидной цепи СА в пространство создает ряд больших и малых двойных петель, образованных 17 дисульфидными мостиками при взаимодействии 34 из 35 остатков цистеина в молекуле белка. Из двух больших и одной малой двойной петли формируется структурная единица, которая трижды повторяется, образуя в полипептидной цепи три области, компактно свернутые в индивидуальные глобулы—домены (рис. 2) [15]. Домены соединены связывающими участками, обеспечивающими относительную подвижность этих сегментов полипептидной цепи в процессе функционирования белка.

С развитием методов молекулярной генетики была получена информация о структуре гена альбумина. Альбуминовая мРНК выделена из цитоплазмы печеночных клеток с помощью иммунопреципитации растущих пептидных цепей антиальбуминовыми антителами [32]. Участки ДНК, комплементарные альбуминовой мРНК, клонированы в *E. coli*, и в полученных кДНК определена нуклеотидная последовательность. Затем методом гибридизации были выявлены гены альбумина разных видов животных организмов. Так была установлена структура гена альбумина человека, крысы, мыши [23].

Ген СА человека, определенный по нуклеотидной последовательности соответствующих участков хромосомы 4, содержит 16 961 пару нуклеотидов (п. и.) от точки копирования до первого сигнала полиаденилирования [20]. Это почти в 10 раз больше кодирующей белок части, составляющей 1830 п. н. [23]. Ген альбумина имеет прерывистую структуру и содержит 15 кодирующих сегментов (экзонов), прерываемых 14 некодирующими последовательностями (интронами) [26]. Установлено, что в гене СА крысы (рис. 3) экзон Z соответствует нетранслируемой области, содержащей иницирующий и «кеппинг» участки, а также область, кодирующую аминокислотные остатки пре- и пропептидов. Экзоны ABCD, EFGH, IJKL кодируют домены

Аминокислотные остатки от —18 до —1 составляют гидрофобный сигнальный пренептид; остатки от —6 до —1 являются пропептидом.



I, II и III соответственно. Экзон М кодирует остатки 571—585 в С-концевом участке полипептидной цепи и терминирующий кодон. Экзон N содержит 3'-терминаторы гена и участок для полиаденилирования [23]. Предполагается, что механизмом, поддерживающим ген альбумина в активном или неактивном состоянии, является процесс метилирования данного участка ДНК [21].

В области локализации в хромосоме гена альбумина расположены также гены двух других сывороточных белков —  $\alpha$ -фетопротеина и группоспецифического компонента ( $G_c$ ), что может указывать на их генетическую связь. Однако  $G_c$ -компонент имеет небольшую структурную гомологию с СА и поэтому генетическая связь этих сывороточных белков остается еще неясной.

Большим сходством структуры, свойств и функций обладают  $\alpha$ -фетопротеин и СА. Установлена аналогия в аминокислотной последовательности, кроме N-концевой области, где в  $\alpha$ -фетопротеине отсутствует характерный для СА пропептид [23]. Отмечается соответствие как количества Cys-остатков, так и топографии сопряженных дисульфидных мостиков [9].

Изучение вторичной структуры и физико-химических свойств  $\alpha$ -фетопротейна и СА показало, что оба белка имеют удлиненную форму молекулы с гидрофильной поверхностью и глубокими гидрофобными «карманами» с высоким содержанием в них  $\alpha$ -спиральной структуры [30]. Пространственная укладка полипептидной цепи  $\alpha$ -фетопротейна также может быть представлена в виде трех доменов. Оба белка имеют близкие молекулярную массу, коэффициент седиментации, электрофоретическую подвижность [23].  $\alpha$ -Фетопротейн и СА обладают также сходством функций, например, определяют осмотическое давление крови, обеспечивают транспорт метаболитов.

Таким образом, все имеющиеся в настоящее время данные о структуре, свойствах и функции  $\alpha$ -фетопротеина и СА позволяют предположить, что эти два сывороточных белка эволюционно возникли из одного гена-предшественника и что  $\alpha$ -фетопротеин является эмбриональным альбумином [33]. Известно, что  $\alpha$ -фетопроtein синтезируется в эмбриональной печени и

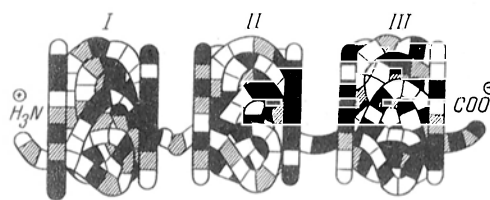


Рис. 2. Доменная модель СА [4].

Расположение аминокислотных остатков в полипептидной цепи: светлые участки — гидрофильные, темные — гидрофобные, заштрихованные — с промежуточной гидрофобностью. Римские цифры — номер домена.

желточном мешке. После рождения синтез  $\alpha$ -фетопroteина снижается и этот эмбриональный белок замещается сывороточным альбумином, который начинает синтезироваться печенью.

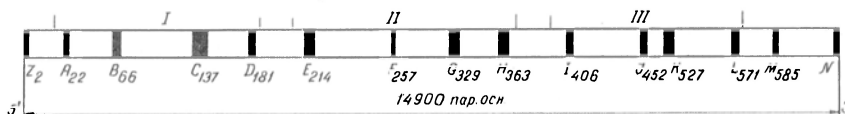
В человеческой популяции обнаруживается широкий полиморфизм в гене альбумина. Первой информацией о генетическом полиморфизме сывороточного альбумина было сообщение об обнаруженном электрофорезом на бумаге случае «двойного альбумина» человека [27]. Бисальбуминемия, выражающаяся в появлении «быстрого» и «медленного» электрофоретических компонентов белковой фракции, не связана с каким-либо заболеванием, но встречается в семьях в различных этнических группах [7, 8, 18, 24] (рис. 4).

Встречаются также варианты СА с необычной электрофоретической подвижностью (рис. 5). Аномалия белка может быть обусловлена мутацией в гене альбумина. Так, изучение первичной структуры нормального альбумина человека и двух идентичных наследственных вариантов (альбумин «Oliphant» и альбумин «Ann Arbor») показало наличие в аномальном белке замены 570 аминокислотного остатка (Glu→Lys) на С-концевом участке полипептидной цепи [34]. В аномальном альбумине «Mexico-2» установлена замена 550 (Asp→Gly) [23], в альбумине «Tagliacozzo» замена 313 (Lys→Asn) [14].

Встречаются варианты СА, которые являются проальбуминами, сохраняющими N-концевой гексапептид. Пронептид нормального СА имеет последовательность N-Arg—Gly—Val—Phe—Arg—Arg. Этот участок перед секрецией белка из клетки отщепляется, но встречаются случаи ано-

Рис. 3. Схема гена альбумина крысы [23].

15 экзонов показаны закрашенными участками и обозначены латинскими буквами, 14 интронов представлены светлыми участками. У концов каждого экзона указано количество аминокислотных остатков. Повторяющиеся экзоны (малый, малый, большой, малый) выделены в области, соответствующие доменам (рисские цифры).



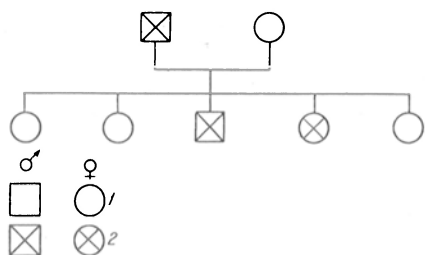


Рис. 4. Наследование по отцовской линии бисальбуминемии в семье («быстрый» тип бисальбуминемии) [7].

1 — нормальный альбумин, 2 — бисальбумин.

малии, когда пропептид не отщепляется и имеет замены в дипептиде Arg—Arg [23]. Так, в проальбумине «Christchurch» имеется замена 6 (Arg→Gln), в проальбумине «Lille» — 5 (Arg→His). Возможно, замены аминокислотных остатков в пропептиде приводят к блокированию катализируемого протеиназами процесса отщепления гексапептида, но при этом секреция белка не нарушается.

Из сыворотки крови здоровых гомозиготных женщин был выделен «медленный» вариант аномального СА, который был назван Ge/Ct [13]. На С-концевом участке полипептидной цепи этого аномального СА отсутствовали аминокислотные остатки 583—585 и имелась замена 580 (Gln→Lys).

Редкой аномалией является анальбуминемия. В этих случаях в геноме присутствует ген альбумина, который способен транскрибироваться. При этом предшественник альбуминовой мРНК (первичный транскрипт) обнаруживается в ядре печеночных клеток почти в нормальном содержании, но мРНК не поступает в цитоплазму [12]. Считают, что при анальбуминемии имеет место уникальный тип мутаций, приводящих к модификации первичного транскрипта альбуминового гена и вследствие этого тормозящих процессинг мРНК-предшественника [6].

Таким образом, генетически детерминированный полиморфизм СА является следствием мутаций в альбуминовом гене и выражается в появлении в крови электрофоретических вариантов, имеющих различия в первичной структуре белка.

Эволюционное происхождение СА еще неизвестно, но интенсивное изучение структуры этого белка дало информацию, раскрывающую пути к пониманию его филогенеза. Анализ аминокислотной последовательности и локализация дисульфидных связей в полипептидной цепи СА позволяют усмотреть наличие внутренней структур-

ной гомологии. Так, в соответствии с моделью трехмерной структуры [9] 17 дисульфидных связей на протяжении всей полипептидной цепи образуют серию больших и малых петель, формирующих в молекуле три домена. Эти повторяющиеся структурные единицы характеризуются почти идентичными размерами петель и связывающих их сегментов и имеют близкую аминокислотную последовательность. Было высказано предположение о том, что предковый альбуминовый ген кодировал только 1 большую петлю, которая содержала около 77 аминокислотных остатков [10, 15]. В дальнейшем двойная дупликация могла привести к образованию 3 одинаковых петель, а последующая делеция около 40 остатков из средней петли могла создать индивидуальную структурную единицу, состоящую из большой — малой — большой петель. В соответствии с этим допускается, что СА эволюционно произошел от молекулы-предшественника, имевшей 1/3 его настоящего размера, т. е. 1 домен. Возможно, такой белок в примитивной плазме мог связывать некоторые низкомолекулярные вещества. Последующее утроение этого домена привело к образованию ныне существующего белка, способного связывать более широкий круг низкомолекулярных веществ. Некоторое различие в аминокислотном составе 3 доменов СА может обеспечивать специализацию лигандсвязывающей функции белка. Например, известно, что домены I и II преимущественно связывают билирубин и другие ароматические лиганды, а домен III специфически взаимодействует с длинноцепочечными жирными кислотами [3]. Такая внутренняя структурно-функциональная специализация находится в соответствии с положением о том, что домен является генетически детерминированной структурной единицей молекул СА [15].

Таким образом, усложнение структурной организации СА в процессе его эволюции может явиться основой для формирования уникальной способности молекулы этого белка связывать обширный круг органических и неорганических лигандов в процессе их транспорта в организме.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гердон Д. Регуляция функции генов в развитии животных: Пер. с англ. — М., 1977.
2. Оленов Ю. М. Проблемы молекулярной генетики: Клетка. Онтогенез. Рак. Эволюция. — Л., 1977.
3. Соркина Д. А. // Вопр. мед. химии. — 1988. — № 2. — С. 8—16.
4. Andersson L. O. // Plasma Proteins/Ed. B. Blomback, L. A. Hanson. — Stockholm, 1981. — P. 43—72.
5. Ashton G. C., Lampkin G. H. // Genetics. — 1964. — Vol. 50, N 6. — P. 1421—1426.
6. Averi R. A., Alpert E., Weigand K. et al. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1983. — Vol. 116. — P. 817—821.
7. Barbaree J. M., Decker N. J. // Biochem. Med. — 1971. — Vol. 5, N 3. — P. 181—187.
8. Bowers K. L. // Amer. J. med. Technol. — 1971. — Vol. 37, N 10. — P. 415—416.
9. Brown J. R. // Fed. Procs. — 1976. — Vol. 35. — P. 2141—2144.
10. Brown J. R. // Federation of European Biochemical Societies. Meeting, 11th, Proceedings. — Oxford, 1978. — Vol. 50. — P. 1—10.
11. Edwards K., Schreiber G., Dryburgh H., Urban J. // Europ. J. Biochem. — 1976. — Vol. 63, N 1. — P. 303—311.
12. Esumi H., Takahashi Y., Sekiya T. et al. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1982. — Vol. 79, N 3. — P. 734—738.

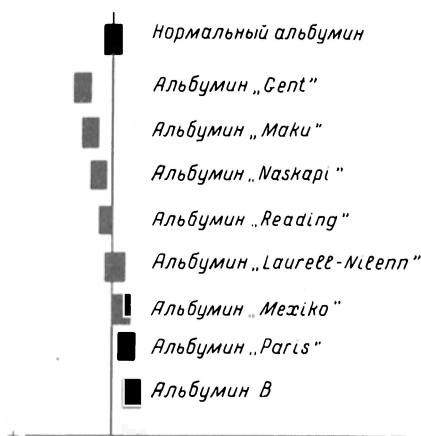


Рис. 5. Соотношение анодной подвижности электрофоретических наследственных вариантов СА [28].

1 — нормальный альбумин, 2 — альбумин «Gent», 3 — альбумин «Naskapi», 4 — альбумин «Reading», 5 — альбумин «Laurell-Nilenn», 6 — альбумин «Mexico», 7 — альбумин «Paris», 8 — альбумин B.

13. Galliano M., Minchiotti L., Iadarola P. et al. // J. biol. Chem.—1985.— Vol. 261, N 9.— P. 4283—4287.
14. Galliano M., Minchiotti L., Iadarola P. et al. // FEBS Lett.—1986.— Vol. 208, N 2.— P. 364—368.
15. Geisow M. // Nature.—1977.— Vol. 270.— P. 476.
16. Giuliani A., Hassan H. J., Casalbore P. et al. // Clin. chim. Acta.—1981.— Vol. 113, N 1.— P. 43—49.
17. Kragh-Hansen U. // Biochem. J.—1981.— Vol. 195, N 3.— P. 603—612.
18. Lau Th. J., Sunderman F. W., Weit-Kamp L. R. et al. // Amer. J. Path.—1972.— Vol. 57, N 2.— P. 247—251.
19. Meloun B., Moravek L., Kostka V. // FEBS Lett.—1975.— Vol. 58, N 1.— P. 134—137.
20. Minghetti Ph. P. // J. biol. Chem.—1986.— Vol. 261, N 15.— P. 6747—6757.
21. Orlofsky A., Chasin L. A. // Molec. cell. Biol.—1985.— Vol. 5, N 1.— P. 214—225.
22. Patterson J. E., Gellwr D. M. // Biochem. biophys. Res. Commun.—1977.— Vol. 74, N 3.— P. 1220—1226.
23. Peters Th. // Advanc. Protein Chem.—1985.— Vol. 27.— P. 161—245.
24. Pilleri G. // Acta haemat.—1970.— Vol. 44, N 3.— P. 246—250.
25. Sabatini D. D., Kreibich G., Morimoto T., Adesnik M. // J. Cell Biol.—1982.— Vol. 92, N 1.— P. 1—22.
26. Sargent T. D., Jagodzinski L. L., Yang M. et al. // Molec. cell. Biol.—1983.— Vol. 1.— P. 871—933.
27. Scheurlen P. G. // Klin. Wschr.—1955.— Bd 33, N 1.— S. 198.
28. Seelig R., Seelig H. P. // Dtsch. med. Wschr.—1970.— Bd 95.— S. 2493—2499.
29. Strauss A. W., Bennett C. D., Donohue A. A. et al. // J. biol. Chem.—1977.— Vol. 252, N 19.— P. 6846—6855.
30. Strop P., Zizkovsky V., Korcakova J. et al. // Int. J. Biochem.—1984.— Vol. 16, N 7.— P. 805—813.
31. Sudlow G. // Biochemical Clinical Pharmacology.—Oxford, 1979.— P. 113—123.
32. Tse T. P., Taylor J. M. // J. biol. Chem.—1977.— Vol. 252, N 4.— P. 1272—1278.
33. Wallace S. // Brit. J. clin. Pharmacol.—1977.— Vol. 4, N 1.— P. 82—85.
34. Winter P., Weitkamp L. R., Rucknagel D. L. // Biochemistry. (Wash.).—1972.— Vol. 11, N 5.— P. 889—896.

Поступила 11.10.88

© Т. В. ДЕНИСЕНКО, 1990

УДК 616.379-008.64-07:616.153.963'915 (048.8)

Т. В. Денисенко

## ГЛИКОЗИЛИРОВАННЫЕ ЛИПОПРОТЕИДЫ КАК АТЕРОГЕННЫЙ ФАКТОР ПРИ ДИАБЕТЕ (ОБЗОР)

НИИ экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

### Введение

Неферментативное гликозилирование — весьма распространенный вид посттрансляционной модификации белков, который может протекать в тканях здоровых людей, но с большей скоростью происходит у «гипергликемических» лиц [21] или животных [49]. При этом глюкоза (или другой моносахарид) связывается ковалентно с ε-аминогруппой лизина. Такую модификацию отмечали для многих белков, включая гемоглобин [11], белки мембран эритроцитов [30], белки хрусталика глаза [31], коллаген [36], альбумин [15, 19], фибриноген [32], инсулин [10], трансферрин [32], глобулины [32], миелины [42], а также все классы липопротеидов [35]. Этот процесс рассматривается в ряде обзоров [7, 12, 18], причем отмечается, что неферментативное гликозили-

## Изменение физиологических функций гликозилированных белков [7, 9, 31]

Гликозилированный белок	Изменение функции
<b>А. Белки, обнаруженные у диабетиков</b>	
1. Гемоглобин	Повышено сродство к кислороду
2. Белки мембран эритроцитов	Способность изменять форму при движении по капиллярам
3. Белки хрусталика глаза	Пропускание света к сетчатке
4. Капсула хрусталика	Фокусирование света на сетчатке
5. Миелин	Проведение нервного импульса
6. Тубулин	Транспорт веществ по аксонам
7. Базальная мембрана почечных клубочков	Почечная фильтрация
8. Коллаген	Поддержание структуры тканей, формирование рубцов
9. Белки коронарных артерий и крупных сосудов	Кровоснабжение миокарда и других органов
10. Альбумин	Осмотическая регуляция транспорта метаболитов
11. Липопротеиды	Транспорт липидов и обмен липопротеидов
<b>Б. Белки, гликозилированные in vitro</b>	
1. Инсулин	Ослабление гормонального действия
2. Фибриноген	Изменение вязкости плазмы

рование может изменять некоторые физические и функциональные свойства белков и таким образом играть существенную роль в развитии осложнений диабета (см. таблицу).

При диабете не происходит избирательного гликозилирования отдельных белков, гликозилируются практически все белки, но степень гликозилирования для разных белков неодинакова и зависит от их структуры [35, 49]. Известно, что диабет ускоряет развитие атеросклероза, утяжеляет его течение или приводит к развитию тяжелых осложнений атеросклероза в раннем возрасте [37]. Вероятно, здесь действует многофакторный механизм, который, помимо нарушения углеводного обмена, включает нарушение обмена липидов и липопротеидов, секреции гормонов, процессов свертывания крови и другие факторы. Наряду с указанными факторами существенную, если не первостепенную роль во взаимосвязи патогенеза диабета и атеросклероза могут играть гликозилированные липопротеиды. Так, липопротеиды, выделенные из крови больных диабетом, содержали 33-кратный избыток глюкозиллизованных остатков на 1 мг белка липопротеидов по сравнению с нормой; от 2 до 5 % лизиновых остатков апо-В у больных диабетом обнаруживается в гликозилированном виде [9]. Такая модификация атерогенных липопротеидов глюкозой может лежать в основе механизма ускорения атерогенеза при диабете.

### Реакция гликозилирования

Неферментативное гликозилирование — это химическая реакция между моносахаридом и аминокислотной группой белка; она может происходить in vivo и in vitro случайным образом в одном и (или) нескольких участках полипептидной цепи [29]. При этом глюкоза является наименее реакционно-способным моносахаридом в организме [29], но так как она в то же время самый распространенный из сахаров, то и эффект