

B İ O L O G İ Y A

ДОСТИЖЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ В ИЗУЧЕНИИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПАТОЛОГИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

М.Ш.БАБАЕВ, Т.А.АСКЕРОВА, А.К.КЕРИМОВА

Бакинский Государственный Университет

В статье представлен анализ биохимических изменений, приводящих к патологии наследственных коллагенозов. Здесь показан состав, первичная и вторичная структура коллагена. Из наследственных коллагенозов синдром Марфана, синдром Менкеса, гомоцистинурия, алкаптонурия являются результатом биохимического дефекта коллагена.

Коллаген гликозамингликаны и структурные гликопротеины – три структурных элемента, входящие в состав межклеточного матрикса соединительной ткани и обеспечивающие такие важные ее функции, как биомеханическую, трофическую, защитную и репаративную [1-3].

За последние 15 лет значительное число наследственных дефектов обмена соединительной ткани, связанных с этими соединениями, было изучено на молекулярном уровне.

Коллаген (К) составляет около 30% всей белковой массы организма человека и играет основную роль в осуществлении биологической функции соединительной ткани. За последние 10 лет идентифицирована первичная структура К и выяснены механизмы его надмолекулярной организации в фибриллы и волокна [4,5]. Все типы молекул К состоят из трех α -цепей, скрученных в трехспиральную макромолекулу длиной 300 нм и диаметром 1,5 нм. Несколько таких макромолекул, соединенных боковыми и продольными связями, образуют фибриллу. В настоящее время известна первичная структура 4 видов α -цепей, которые образуют I, II и III К, различающиеся по топографии. Цепи $\alpha 1$ (IV), образующие IV тип К, близки по своему аминокислотному составу к $\alpha 1$ (III), но содержат глобулярные домены. Постулируется существование еще 4 типов α -цепей - α -A, α -B α_1 (VI), α_2 (VI), образующих V и VI типы К [6-7]. Поскольку α цепи различаются аминокислотной последовательностью (что доказано сопоставлением их и РНК), каждый их тип кодируется отдельным хромосомным локусом.

Каждая α -цепь содержит около 1000 аминокислотных остатков, причем за исключением коротких концевых последовательностей каждая третья аминокислота является глицином. Таким образом, формула каждой α -цепи (X-V-гли-) 333 на один аминокислотный триплет приходится один виток левовращающей α -спирали. В образовании строго упорядоченной правовращающей суперспира-

ли из трех α -цепей решающая роль принадлежит глицину. Эта аминокислота, занимающая тождественное положение в трех α -цепях, является местом их схождения центра тройной спирали. Трехспиральная конформация зависит также от присутствия пролина и окспролина – двух ригидных циклических аминокислот, ограничивающих ротацию полипептидного стержня В. К млекопитающих и птиц около 100 X принадлежит пролину и около 100 Y принадлежит – оксипролину. Оксипролин, кроме К, обнаружен только в эластине, с 1 q – субкомпоненте системы комплемента и хвостовой структуре ацетилхолинэстеразы. Без оксипролина тройная спираль нестабильна при температуре тела [8]. Две трети X и Y представлены другими аминокислотами, которые снижают стабильность тройной спирали, но важны для следующего уровня организации К-сборки трехспиральных молекул в фибриллы. Эти аминокислоты имеют тенденцию пучковаться в гидрофобных и зараженных группах, их боковые цепи направлены от центра спирали и определяют способ, которым отдельные молекулы К соединяются друг с другом.

Кроме различий в генетически детерминированной аминокислотной последовательности, α -цепи различаются по содержанию оксипролина, оксизина и гликолизированного оксизина – продуктов посттрансляционной модификации К. Большинство молекул оксипролина представлено транс – 4 изомером, но обнаружен и транс 3-оксипролин. Оксизин также является характерной аминокислотой для К. Ко многим OH – группам этой аминокислоты через O-гликозидную связь прикреплены моно- и дисахариды: галактоза или глюкозилгалактоза. На процесс гидроксирования и гликозирования аминокислот влияет ряд условий, поэтому клетки, использующие для трансляции одинаковую и РНК, могут продуцировать К, различающийся по содержанию модифицированных аминокислот.

Продуктом трансляции в рибосомах являются незрелые про- α -цепи. Созревание или процессинг К осуществляется внутри и внеклеточно. Структура про α -цепей отличается от структуры зрелых α -цепей наличием сигнальной последовательности аминокислотных остатков, прикрепленной к N-концу и управляющей продвижением вновь синтезированного полипептида в цистерны шероховатого эндоплазматического ретикулума, а также дополнительных пропептидов на N- и C-концах. Внутриклеточный процессинг К включает отщепление протеазой (пролеазами) сигнальных последовательностей, гидроксирование пролина и лигина тремя ферментами (пролил-3-гидроксилазой, пролил-4-гидроксилазой и лизилгидроксилазой), гликолизирование оксизина UDP-гликозилтрансферазами, образование межцепочечных и сульфидных связей, и в конце скручивание цепей в тройную спираль. Все три гидроксилазы требуют наличие одинаковых кофакторов (Fe^{2+} , молекулярного O_2 , α -кетоглутарата и аскорбиновой кислоты) и действуют лишь на неспирализованные α -цепи, при строго определенной локализации гидроксимируемой аминокислоты в пропептиде. Как только спирализация про-К заканчивается, он секретируется из клеток, причем от скорости секреции прямо зависит от скорости спирализации.

Внеклеточный процессинг заключается в превращении про – К в К и осуществляется с помощью по крайней мере двух ферментов: про-К аминопептазы и про-К-карбоксипептазы в присутствии Ca^{2+} . После отщепления концевых пептидов молекулы К спонтанно собираются в фибриллы. Для созревания по-

следних должны образоваться сшивки между молекулами К, что требует окислительного дезаминирования (с помощью Cu-содержащей лизилоксилазы) ϵ -аминогруппы определенных лизиловых и оксилизиловых остатков, приводящего к образованию реактивных альдегидов, созданию внутримолекулярных сшивок между цепями одной молекулы К путем альдольной конденсации и конденсации между альдегидом лизина, оксилизина или гликолизилоксилизина и ϵ -аминогруппой недезаминированных аналогов.

Деградация К осуществляется коллагеназой. Этот фермент расщепляет нативный К при физиологических условиях на два неравных фрагмента: С (25%) и N- терминальный (75%). Расщепление всех α -цепей осуществляется между глицином и изолейцином. Образующиеся при расщеплении фрагменты денатурируют под действием тканевых протеаз. Известно несколько ингибиторов коллагеназы (ЭДТА, цистеин, α_1 -антитрипсин) и установлено, что ее действие контролируется стероидными гормонами. Коллагеназа с разной эффективностью расщепляет разные типы К.

Успехи биохимии и биохимической генетики К позволили расшифровать механизм ряда наследственных заболеваний, именуемых теперь коллагеновыми болезнями [9-10]. С другой стороны, исследования нарушений при некоторых из этих заболеваний дало новую информацию о нормальных механизмах биосинтеза К. Так, изучение свойств изолированной лизилгидроксилазы привело к открытию, что недостаточность этого фермента есть причина болезни Элерса-Данлоса (БЭД) тип VI (таблица).

Исследование К у соответствующих больных позволило выяснить роль оксилизина, обеспечивающего сшивки и следовательно, стабильность молекулы. Взаимное обогащение биохимии и медицинской генетики, как правило, осуществляется именно таким путем. Биохимия дает метод для

Таблица

Наследственные коллагеновые болезни человека

Локализация нарушений по стадиям биосинтеза и дегградации К	Болезни	Тип наследования	Молекулярный дефект
Внутриклеточная транскрипция и (или) трансляция	БЭД тип I БЭД тип II БЭД тип IV Несовершенный остеогенез	АД АД АД АД	Аномальная структура фибрилл Аномальная структура фибрилл Снижение скорости синтеза К, тип III Снижение скорости синтеза про-К, тип I пр сравнению с про-КIII, наличие К III в костях, дефицит про- α_2 -цепей, другие изменения в структуре К
Процессинг про-К	БЭД тип VI Буллезный эпидермолиз простой	АР АД	Недостаточность лизилгидроксилазы, ведущая к синтезу нестабильного К Недостаточность галактозил-оксилизин глюкозилтрансферазной активности
Внеклеточная процессинг К	БЭД тип VII БЭД тип V	АР ХР	Недостаточность про-К аминопроазаы, мутация в структурном локусе про- α -цепи Недостаточность лизилоксилазы, ведущая к нестабильности К кожи, сердечных клапанов
	Cutis laxa	ХР	Недостаточность лизилоксидазы, ведущая к нестабильности К кожи

Дегградация К	Дистрофический буллезный эпидермолиз	АР	Повышение синтеза структурно-измененной коллагеназы
Процессинг про-К	Алкаптонурия	Вторичные АР	Гиперпродукция гомогентизиновой кислоты, ингибирующей активность лизил-гидроксилазы
Процессинг фибрилл	Болезнь Марфана	АД	Нестабильность К из-за уменьшения сшивок дефицит синтеза про-К
	Гомоцистинурия	АР	Гиперпродукция гомоцистеина, взаимодействующего SH- и NH ₂ с альдегидными группами лизина, что препятствует стабилизации фибрилл
	Болезнь Менкеса	ХР	Дефект кишечинальной абсорбции Cu ²⁺ , что нарушает функцию лизил-оксидазы

Примечание: АД- аутомсомно-доминатный тип;
АР – аутомсомно- рецессивный; ХР – Х-сцепленный

расшифровки и диагностики, первичного биохимического дефекта, медицинская генетика объясняет функцию того или иного биохимического процесса [11-12].

В таблице перечислены известные у человека коллагеновые болезни с указанием нарушения стадии биосинтеза К. По клиническим проявлениям принципиально различаются только дефекты биосинтеза и дефекты деграций К, что является одним, из проявлений канализации, патологических процессов. Мутации множества локусов, участвующих в биосинтезе одной макромолекулы, приводят к формированию сходного клинического фенотипа. Полный симптомокомплекс дефектов биосинтеза К (БЭД) включает истонченность, повышенную ломкость и растяжимость кожи, гиперподвижность суставов, сколиоз, ломкость фетальных мембран, разрывы артерий, кишок, отслойку сетчатки. Локализация и тяжесть проявления дефекта при различных формах БЭД зависит от тканевой специфичности синтеза различных типов К и полиаллелизма мутантных локусов. Единственный известный дефект деградации К проявляется дистрофическим буллезным эпидермолизом. Подобно гемоглинопатиям, коллагеновые болезни характеризуются выраженной генетической гетерогенностью. Последняя отражает – мутабельность, реализуется в полиаллелизме локусов и биохимическом полиморфизме большинства белков. По-видимому, коллагеновые болезни по своей генетической гетерогенности намного превзойдут гемоглинопатии, так как число локусов, участвующих в биосинтезе зрелого К, намного выше такового, чем для зрелого гемоглибина. Справедливость этого положения подтверждается тенденцией каждой нозологической единицы к бесконечному дроблению на подтипы, различающиеся механизмом молекулярного патогенеза и типом наследования. По аналогии с гемоглинопатиями можно ожидать, что многие дефекты транскрипции, трансляции и даже посттрансляционной модификации при тщательном исследовании окажутся продуктами нуклеотидных замен в локусах про α-цепей. Такая ситуация уже имела место с БЭД VII, первичный дефект, которой связывали с недостаточностью про-К аминоксептазы. При перепроверке культуры фибробластов одного из таких больных

оказалось, что активность фермента не изменена, но нарушена аминокислотная последовательность про α_2 -цепи в области действия про-К аминопротеазы. Целый ряд других моногенных наследственных болезней с известным и неизвестным первичным биохимическим дефектом характеризуется нарушением биосинтеза К (болезнь Марфана, болезнь Менкеса, гемосистинурия, алкаптонурия).

Наряду с перекрытием фенотипов имеется широкая клиническая вариабельность в пределах каждой нозологической единицы, характерная для всех наследственных дефектов обмена и являющаяся следствием полиаллелизма мутантных генов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блиникова О.Е., Козлова С.И. Клинико-генетические аспекты несовершенного остеогенеза // Мед.генетика (экспресс-информ ВНИИМИ). М.: 1987, № 4, с. 21.
2. Грехем Р. Гипермобильность суставов – 100 лет после Черноусова // Тер. арх., 1962, т.64, № 5, с. 103-105.
3. Дайнин Е.И., Козлова Н.И., Сиванова Л.А. Некоторые актуальные проблемы биохимической диагностики патологии соединительной ткани // Педиатрия, 1983, № 4, с. 68-70.
4. Кобак С.Л., Фишин С.П., Аниськова Е.П. Костно-суставная система (морфологические и биохимические аспекты формирования). Минск: 1990, с. 189.
5. Кадурина Т.И., Королева В.М., Романенко О.П. Обмен свободных аминокислот и вопросы реабилитации больных с наследственными коллагенопатиями // Актуальные проблемы диагностики, лечения, профилактики наследственных заболеваний у детей. М.: 1998, с. 77-78.
6. Кадурина Т.И., Корженевская М.А., Михеев В.С. Генетический анализ в семьях генерализованной дисплазией соединительной ткани, включающей MASS-фенотип // Артериальная гипертензия. 1999, т. 5, № 1, СПб, с. 26-27.
7. Лазюк Г.И., Лурье И.В., Черствой Ф.Д. Наследственные синдромы множественных врожденных пороков развития. М.: Медицина, 1983, с. 208.
8. Наследственная патология человека / Под ред. Ю.Ф.Вельтищева, Н.П. Бочков. М.: 1992, т. 1,2, 459 с.
9. Семякина А.Н. Клинический полиморфизм наследственных болезней соединительной ткани у детей / Автореф. дис. . . . докт. мед.наук. М.: 1995, 24 с.
10. Ahmad N.N., Mc Donald- Mc Ginu D.M., Zaekal E.H., Knowlton R.G., La Rossa D., Dimascio J. A second mutation in the type II procollagen gene (Col 2@1) causing the stickler syndrome (arthro op ethaemology). Is-alsoa prenatalyre terminature codon // Am.J.Hum. Genet. 1993, №52, 39-45.
11. Barlon J.B., Pocock W.A. Mitral valve prolapse, the specific billoning mitral leaflet syndrome, or an insignificant non-egestron systolic click // J. Am. Heart. 1979-97, pp. 277-285.
12. Mlyers D.A., Francomano C.A. The Marfan syndrome locus con formation of assignment to chromosome 15 and identification of tightly linked markers at 15q15-q21.3. Genomics, 1991, pp. 355-361.

**BİRLƏŞDİRİCİ TOXUMANIN PATOLOGİYASI İLƏ OLAN İRSİ
XƏSTƏLİKLƏRİN ÖYRƏNİLMƏSİNDƏ BİOKİMYƏVİ
GENETİKANIN NAİLİYYƏTLƏRİ**

M.Ş.BABAYEV, T.Ə.ƏSGƏROVA, A.K.KƏRİMOVA

XÜLASƏ

Məqalədə irsi kollagenozların patologiyasına gətirib çıxaran biokimyəvi dəyişikliklərin analizi təsvir olunmuşdur. Burada kollagenin tərkib hissəsi, birincili və ikincili strukturu təsvir edilmişdir. İrsi kollagenozlardan Marfan sindromu, Menkesa sindromu, homosistinuriya, alkaptonuriya kollagenin biokimyəvi qüsuru nəticəsində əmələ gəlmişdir.

**PROGRESS OF BIOCHEMICAL GENETICS IN THE STUDY
OF HEREDITARY CONNECTIVE-TISSUE PATHOLOGY DISEASES**

M.Sh.BABAYEV, T.A.ASKEROVA, A.K.KERIMOVA

SUMMARY

The article is dedicated to the analysis of biochemical changes that lead to the hereditary collagenoses pathology. Components of collagen, its primary and secondary structures are described there. It's also studied that hereditary collagenoses such as Marfan's syndrome, Menkesa's syndrome, homocystinuria, alcaptonuria are generated by biochemical defects of collagen.