

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
ЭТИОПАТОГЕНЕЗА АМИЛОИДОВ

ШАВЛОВСКИЙ М. М.

Лаборатория молекулярной генетики человека Отдела молекулярной генетики,
ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН»,
Санкт-Петербург

Шавловский М. М. Молекулярные и генетические основы этиопатогенеза амилоидозов // Мед. акад. журн. 2010. Т. 10. № 4. С. 63–81. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

В обзоре рассмотрены современные представления о молекулярных основах этиологии и патогенеза амилоидозов, относящихся к группе конформационных заболеваний. Обсуждаются проблемы классификации амилоидозов, общие закономерности формирования амилоидов, механизмы фибриллогенеза, обуславливающего развитие амилоидозов, а также причины дегенерации пораженных органов. В качестве примеров приведены описания некоторых амилоидозов, наиболее значимых для понимания обсуждаемой проблемы. Особое внимание уделено наследственным формам амилоидозов. Кратко освещены современные подходы для диагностики и терапии различных амилоидозов.

Ключевые слова: амилоидозы, амилоид, фибриллогенез, белки, бета2-микроглобулин, транстиретин, прионы, лизоцим, медин, иммуноглобулины.

Schavlovsky M. M. Etiology and pathogenesis of amyloidoses: the molecular and genetic basis // Med. Acad. Journ. 2010. Vol. 10. № 4. P. 63–81. Institute of Experimental Medicine NWB RAMS, St. Petersburg, Russia.

The modern concepts of molecular and genetic basis of amyloidoses are considered in the brief review. The problems of classification, the common principles of amyloid formation, the mechanisms of fibrillogenesis and causes of tissue degeneration are discussed. The examples of certain amyloidoses are presented. The great attention is devoted to the hereditary forms of these diseases. The modern approach to diagnostics and therapy of different amyloidoses are discussed.

Key words: amyloidoses, amyloid, fibrillogenesis, proteins, beta2-microglobulin, transthyretin, prions, lysozim, medin, immunoglobulins.

Для корреспонденции: Шавловский Михаил Михайлович, д-р мед. наук, т.р. (812) 234-33-56, факс (812) 234-94-89, моб. т. +7(911) 741-52-59, e-mail: mmsch@rambler.ru

Первые упоминания о заболевании, при котором в органах накапливается вещество, придающее им особый вид, относятся к 1842 г., когда появилось сообщение венского патологоанатома К. Рокитанского, обратившего внимание на характерные особенности пораженных органов и назвавшего заболевание «сальной болезнью» [35]. Более подробное описание этой патологии принадлежит патологу Р. Вирхову [46, 47]. Он обнаружил в тканях больных вещество, названное им «амилоидом» по способности, аналогично полисахаридам, окрашиваться йодом. Вскоре было выявлено, что эта субстанция специфично окрашивается также некоторыми красителями, в частности Конго красным. Классический амилоид Вирхова поражает различные паренхиматозные органы и отчетливо обнаруживается при аутопсиях по выбуханию ткани и по их особому сальному виду. Вирховский классический амилоидоз, как сейчас ясно, представляет собой вторичную патологию, которая осложняет первичный процесс, главным образом различного рода хронические инфекции. В настоящем обзоре рассмотрены современные пред-

ставления о строении амилоида и молекулярные основы этиологии и патогенеза группы заболеваний, известных как амилоидозы. Необходимо отметить, что, вопреки общему мнению, амилоидозы встречаются не так редко. Например, амилоидоз часто осложняет течение диабета типа 2, который широко распространен и является серьезной проблемой. А если учитывать весьма неблагоприятный прогноз и низкую эффективность терапии амилоидозов, то эта группа заболеваний представляется весьма значимой для современного здравоохранения.

Прежде, чем приступить к обсуждению принципов амилоидогенеза, необходимо обратить внимание на проблемы терминологии. В российской практике до сих пор всю группу заболеваний, при которых происходит образование амилоида, принято обозначать единым термином «амилоидоз» и различать лишь формы амилоидоза, как единого процесса. При таком подходе в одну нозологическую единицу попадают клинически совершенно разные патологии, например болезнь Альцгеймера и системные пораже-

ния типа транстиретинового амилоидоза. Очевидно, что этиопатогенез и клиническая картина, а отсюда прогноз и терапия для этого вида патологии не могут быть унифицированы. Таким образом, существуют не разные формы амилоидоза, а разные амилоидозы, объединенные общими закономерностями формирования самого амилоида. Часто между амилоидозами не больше сходства, чем, например, между отдельными инфекционными заболеваниями. В зарубежной литературе уже давно употребляется множественная форма термина «амилоидоз». За существование не форм амилоидоза, а именно амилоидозов говорит и тот факт, что эта патология объединяет, с одной стороны, первичные и вторичные, а с другой стороны, спонтанные и наследственные заболевания. Поэтому в настоящем обзоре мы будем рассматривать амилоидозы как отдельные нозологические единицы, которые, естественно, имеют общие черты. Эти заболевания объединяются главным элементом – формированием особого вещества с характерными морфологическими и физико-химическими свойствами.

Изначально предполагалось, что амилоид относится к полисахаридам, о чем свидетельствует и его название «сходный с крахмалом» (*amylum* – крахмал) из-за способности окрашиваться йодом. Детальный химический анализ амилоида разного происхождения показал, что это вещество в большей или меньшей степени состоит из белка. При этом амилоиды, обнаруживаемые у больных разными амилоидозами, различаются по белковой составляющей. Несмотря на внешнее сходство разных амилоидов, все в большей степени становится понятно, что различие касается не только белка – основы амилоида, но и особенностей формирования первичных структур – фибрилл. То есть амилоид, полученный из ткани мозга больных болезнью Альцгеймера, отличается от амилоида, формируемого, например, из бета2-микроглобулина (гемодиализный амилоидоз). Итак, основа любого амилоида – белок. Однако любой амилоид представляет собой более сложное образование, чем просто агрегаты основного белка. В составе извлеченного из организма амилоида всегда обнаруживаются белки плазмы крови (кластерин, пентраксины, иммуноглобулины), а также протеогликаны или их составные части и часто белки соединительной ткани. Поэтому отождествлять амилоид с фибриллярными агрегатами белков не совсем корректно, хотя часто под амилоидом и фибриллярными агрегатами белка понимается одно и то же.

КЛАССИФИКАЦИЯ АМИЛОИДОЗОВ

В настоящее время разработаны общие принципы классификации амилоидозов. В первую очередь основой классификации служат те первичные ком-

поненты – белки, которые формируют амилоид. К настоящему времени известно 27 таких белков [14]. Необходимо подчеркнуть, что в число этих белков попадают только те, которые были обнаружены в составе амилоида, полученного от больных. Сейчас известно, что многие белки вообще склонны при определенных условиях формировать *in vitro* фибриллярные агрегаты, аналогичные тем, которые составляют основу амилоидов [42].

Классификация строится с учетом названия белка [34, 49]. Перед обозначением белка ставится буква А (амилоид), далее следует сокращенное название белка. Например, АА – амилоидоз, вызванный накоплением сывороточного амилоидного белка А, АL – амилоидоз, обусловленный отложением легких цепей иммуноглобулинов, АТТR – амилоидоз, связанный с фибрилlogenезом транстиретина, и т. д. Таким образом, данная классификация отражает в некоторой степени этиопатогенетические особенности амилоидозов, но, к сожалению, не говорит о клинических проявлениях заболевания. С клинической точки зрения вполне целесообразно подразделять амилоидозы на первичные (часто наследственные) и вторичные (осложнения), развитие которых явно происходит на фоне основного заболевания. Такое разделение имеет научную ценность, так как позволяет глубже понять этиологию и патогенез конкретного амилоидоза, а соответственно, рекомендовать терапию. Кроме того, с клинической точки зрения необходимо выявлять формы амилоидоза, в зависимости от характера поражения (системные и локализованные) и превалирования определенной симптоматики (с преимущественным поражением нервной ткани, тканей сердца или других органов). При этом необходимо учитывать, что амилоидоз с участием одного и того же белка часто проявляется симптоматикой со стороны разных органов. В ряде случаев эти различия обусловлены генетическими причинами – множественными патологическими аллелями одного и того же гена. В итоге классификация должна охватывать все этиопатогенетические и клинические особенности конкретного заболевания у конкретного больного. Уточненный диагноз должен включать тип амилоидоза (по белку), клиническую форму, а также генетическую составляющую, т. е. точную идентификацию мутации при наследственных формах. Такой подход обуславливает диагностический алгоритм для данной группы заболеваний.

Среди разнообразных амилоидозов выделяется один, который, помимо всего прочего, имеет много общего с инфекционными заболеваниями. Дело касается прионных заболеваний [2]. Данные заболевания, к счастью достаточно редкие, способны распространяться «горизонтально». Такая особенность связана со свойствами белка, изменения которого лежат в

основе патогенеза. Другие амилоидозы от особи к особи по типу инфекции не передаются (не следует путать с наследственной передачей).

Как уже говорилось, основу любого амилоида составляет белковый компонент. В табл. 1 приведен список известных к настоящему времени амилоидогенных белков и пептидов. Все эти белки в нормальном состоянии необходимы для жизнедеятельности клеток и целого организма. Для того чтобы эти белки начали формировать аномальные структуры – фибриллы, необходимы соответствующие условия. Как показывает практика, эти условия или факторы могут быть как внутренними, так и внешними. Если для вторичных амилоидозов наличие таких факторов устанавливается достаточно легко, то для первичных амилоидозов, как правило, эти факторы неизвестны. Особая роль принадлежит эндогенным, возможно, генетическим факторам (имеется в виду генотип индивидуума). Даже при наследственных амилоидозах заболевание обычно проявляется достаточно поздно. Пенетрантность для этого типа патологии существенно ниже 100%. Причины такого положения дел до сих пор не вполне понятны. Имеются предположения о существовании белковых внеклеточных факторов, предотвращающих фибриллогенез [50]. Для ненаследственных форм лаг-период также может быть достаточно длительным. Это же характерно и для инфекционного амилоидоза – прионных заболеваний.

ГЕНЕТИКА АМИЛОИДОЗОВ

В отличие от вторичных, первичные амилоидозы достаточно часто генетически детерминированы. Имеется в виду тот факт, что амилоидозы, обусловленные фибриллогенезом целого ряда белков, в ряде случаев развиваются в результате изменения генов этих белков с повреждением первичной структуры полипептидов. Генетически детерминированный фибриллогенез, как правило, носит доминантный характер, так как единичной копии мутантного гена достаточно для формирования аномальных фибрилл. После запуска фибриллогенеза генетически неизменные белки также могут включаться в амилоид. Подобное часто происходит при транстиретиновом амилоидозе. Подробно роль мутаций в патогенезе амилоидозов будет рассмотрена при описании отдельных заболеваний. Как и для других наследственных болезней, амилоидозы характеризуются выраженным генетическим полиморфизмом. Для наиболее изученных видов этой патологии число обнаруженных мутаций в соответствующих генах достигает десятков, а то и сотен (табл. 2). Естественно, что генетический полиморфизм определяет клиническую гетерогенность и экспрессивность проявления заболевания у отдельных больных. Существенный

вклад генетической детерминанты определяет необходимость молекулярно-генетического тестирования больных и их родственников. Подобного рода исследования проводятся нами совместно с Лабораторией кардиомиопатий Института сердечно-сосудистых заболеваний Государственного образовательного учреждения «Санкт-Петербургский медицинский университет им. академика И. П. Павлова» и Федеральным центром сердца крови и эндокринологии им. академика В. А. Алмазова [3].

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ АМИЛОИДОГЕНЕЗА

Основным условием для формирования аномальных агрегатов – фибрилл – является изменение третичной (пространственной) организации соответствующего белка. Такие изменения называются конформационными. Поэтому амилоидозы принято относить к конформационным заболеваниям. Этот термин был введен в 1997 г. [16]. Первоначально понятие охватывало неоправданно широкий спектр патологии, так как практически любое заболевание на молекулярном уровне связано с нарушением функции определенных белков и с изменением их конформации. Более того, функционирование любой белковой молекулы в той или иной степени связано с транзиторными конформационными перестройками. Именно эти перестройки лежат в основе механизмов работы белков. Поэтому целесообразно ограничить использование термина «конформационные заболевания» только теми случаями, когда именно стабильные изменения пространственной организации белковой молекулы являются причиной развития болезни. В этом плане амилоидозы являются прекрасной иллюстрацией этого положения.

Аномальный фибриллогенез белков, лежащий в основе амилоидозов, к настоящему времени достаточно хорошо изучен [41, 43]. По крайней мере, понятны причины, вызывающие фибриллогенез. Что касается других аспектов амилоидозов, то остается еще достаточно много нерешенных проблем, главная из которых амилоидогенез *in vivo*.

Как известно, отличительной особенностью белков от других полимеров является равномерность пространственной организации их молекул. Эта особенность, в частности, позволяет получать белковые кристаллы и исследовать их при помощи рентгеноструктурного анализа. При конформационных заболеваниях третичная структура белка искажается, что обнаруживается методами физико-химического анализа. Для понимания патогенеза амилоидозов на молекулярном уровне необходимо знать причины изменения природного стабильного конформационного состояния на стабильное аномальное.

На протяжении многих лет считалось, что первичная структура полностью детерминирует особен-

Известные амилоидозы человека и белки – предшественники амилоидов

№	Обозначение амилоидоза	Белок-предшественник фибриллогенного производного	Название болезни и локализация поражения	Этиология
1	A β	Белок-предшественник пептидов болезни Альцгеймера	Классическая болезнь Альцгеймера, ЦНС	Наследственные и старческие формы
2	A β 2M	β 2-микроглобулин	Гемодиализный амилоидоз, соединительная ткань	Хроническая почечная недостаточность- гемодиализ
3	AA	Сывороточный амилоидных белок	Вторичный классический системный амилоидоз	Хронические инфекции
4	AANF	Предсердный натриуретический фактор	Локализованный амилоидоз предсердий	
5	AApo1A1	Аполипопротеин A1	Системный или локализованный амилоидоз	Наследственные формы
6	AApo1A2	Аполипопротеин A2	Системный амилоидоз	Наследственные формы
7	AApo1A4	Аполипопротеин A4	Системный амилоидоз	Спорадический, связанный со старением
8	ABri	ABriPP	Системный амилоидоз, семейная деменция	Наследственные формы
9	ACal	Прокальцитонин	Локализованный амилоидоз при С-клеточных опухолях щитовидной железы	
10	ACys	Цистатин С	Системный амилоидоз	Наследственные формы
11	ADan	ADanPP	Семейная деменция	Наследственные формы
12	AFib	α -цепь фибриногена	Системный амилоидоз	Наследственные формы
13	AGel	Гельсолин	Системный амилоидоз	Наследственные формы
14	АН	Тяжелые цепи иммуноглобулинов	Локализованный или системный первичный или связанный с миеломой амилоидоз	Физиологический мутагенез – образование специфических молекул иммуноглобулинов
15	AIAPP	Островковый амилоидный полипептид – амилин	Локализованный амилоидоз островков Лангерганса	Инсулиномы, диабет типа 2
16	AIns	Инсулин	Локализованный амилоидоз	Ятрогенный
17	AKer	Керато-эпителин	Семейное поражение роговицы	Наследственные формы
18	AL	Легкие цепи иммуноглобулинов	Локализованный или системный первичный или связанный с миеломой амилоидоз	Физиологический мутагенез – образование специфических молекул иммуноглобулинов
19	ALac	Лактоферрин	Локализованное поражение роговицы	
20	ALys	Лизоцим	Системный амилоидоз	Наследственные формы
21	AMed	Медин – производное лактадегерина	Локализованный амилоидоз аорты	Старческий бессимптомный амилоидоз
22	AOAAP	Одонтогенный амелобласт-ассоциированный белок	Локализованный амилоидоз	Одонтогенные опухоли
23	APro	Пролактин	Локализованный амилоидоз	Пролактиномы
24	APrP	Белок-предшественник приона	Прионные болезни, спонгиозная энцефалопатия	Заражение, спонтанные и наследственные формы
25	ASem1	Семеногелин 1	Локализованный амилоидоз семенных пузырьков	
26	ATau	Белок Тау	Локализованный амилоидоз, болезнь Альцгеймера, другие формы поражения ЦНС	
27	ATTR	Транстиретин	Системный или редко локализованный амилоидоз периферической нервной ткани, сердца и других органов	Спорадические и наследственные формы

ности свертывания (фолдинга) белковых молекул, т. е. конечная конформация определяется структурой гена. Эти предположения частично подтверждались получением исходных конформаций после полной денатурации белков. Развитие молекулярной биологии привнесло некоторые сомнения в абсолютной правильности этого утверждения. Само существование системы шаперонов, а также механизмов уничтожения молекул с аномальной третичной структурой позволяет считать, что, по крайней мере, для некоторых белков правильный фолдинг обеспечивает не только первичная структура, но и специализированные компоненты клетки, которые, безусловно, используют информацию, заложенную в аминокислотной последовательности. Существование помощников фолдинга отчетливо выявляется в экспериментах по ренатурации некоторых белков и по фолдингу рекомбинантных белков в бактериальных системах. В последнем случае существует проблема так называемых «тел включения», которые по многим параметрам соответствуют аномальным фибриллам амилоидогенных белков [45, 48].

Из вышесказанного ясно, что природные нормальные белки имеют нативную конформацию, которая обеспечивает соответствующую активность. Как следует из законов химии, нативная конформация белка чаще всего соответствует минимуму свободной энергии всей молекулы в целом. Путем минимизации энергии взаимодействия отдельных групп в молекуле процесс фолдинга может быть моделирован при помощи соответствующего программного обеспечения. К сожалению, существующие программы не позволяют полностью рассчитать поведение полипептидной цепи в реальных физиологических условиях (водно-солевая среда и другие компоненты живой системы). Несмотря на это, компьютерный анализ показывает, что, помимо нативной устойчивой конформации с минимальной свободной энергией, могут существовать иные стабильные конформации. Существование нескольких устойчивых конформаций, переходы между которыми требуют дополнительной затраты энергии, объясняет появление белковых молекул с измененной пространственной организацией. Так как энергетические барьеры между конформационными состояниями достаточно велики, самостоятельного превращения конформеров практически не происходит, однако вероятность этих переходов не равна нулю. Для ускорения превращения одного конформера в другой требуются соответствующие условия. Такие условия легко достигаются в эксперименте, поэтому считается, что почти все белки можно искусственно превратить в конформеры, способные к фибрилlogenезу. Однако, как отмечалось, число белков, вызывающих амилоидозы, в настоящее время не превышает трех десятков.

Дестабилизация белковых молекул может быть достигнута разными путями. Так как первичная структура определяет все остальные уровни организации белковой молекулы, то и любые изменения аминокислотной последовательности могут способствовать изменению конформации. В природе эти возможности реализуются. В первую очередь следует отметить мутационные повреждения белка. Как было показано, аминокислотные изменения – наиболее частые причины усиления амилоидогенности белка в природных условиях. В табл. 2 представлены известные мутации гена транстиретина и соответствующие изменения первичной структуры. На примере этого белка видно, насколько велико число сайтов, способствующих усилению фибрилlogenности. При этом перечисленные мутации по-разному проявляют себя как в плане степени усиления фибрилlogenности, так и в плане клинической симптоматики.

Другой способ изменения первичной структуры – это модификация зрелой молекулы белка. Наиболее частый вариант – ограниченный протеолиз. В результате действия специфических протеаз образуются укороченные варианты белка, в ряде случаев пептиды, которые и являются фибрилlogenным материалом. Данный тип модификации характерен для болезни Альцгеймера, для гемодиализного амилоидоза, для мединового амилоидоза. Из общих соображений пептиды в отличие от полноразмерных белков являются конформационно менее устойчивыми соединениями, и фибрилlogenез обеспечивает существенное уменьшение свободной энергии этих молекул с избыточной степенью свободы. В принципе и другие модификации белковых молекул могут вести к конформационной дестабилизации или, наоборот, стабилизации. В этом плане представляет интерес широко распространенная модификация – гликозилирование, которое может иметь антифибриллогенное значение, так как олигосахаридные цепи могут препятствовать сближению полипептидных тяжелей с формированием фибрилл.

Так как в поддержании трехмерной структуры белков большое значение отводится поперечным сшивкам, а основными сшивками являются дисульфидные связи, то воздействие на эти связи может существенно влиять на конформацию молекул. В ряде случаев восстановление дисульфидных связей с мономеризацией белков, имеющих четвертичную структуру, может способствовать началу фибрилlogenеза. В эксперименте такое воздействие усиливает фибрилlogenез. Другими факторами, способствующими фибрилlogenезу, являются температурное воздействие, изменение pH, изменение ионной силы и действие денатурантов. Эти факторы широко используются для получения фибрилл в модельных условиях.

Процесс фибриллогенеза по своей сути имеет много общего с процессом кристаллизации. В обоих случаях важная роль отводится начальному этапу – образованию «зародышей» (нуклеации), которые являются центрами дальнейшего роста агрегатов. Нуклеация является лимитирующей стадией фибриллогенеза. Так, например, экспериментальный фибриллогенез в ряде случаев протекает значительно быстрее при внесении «зародышей» фибрилл. На этой стадии может запускаться аутокаталитический механизм изменения конформации нативных белков за счет снижения межконформационного энергетического барьера путем предпочтительного взаимодействия «зародышей» с отдельными конформерами.

Второй этап – созревание фибрилл обычно протекает быстрее. Изучение влияния различных факторов на этот процесс имеет большое значение для выяснения возможностей замедления или остановки фибриллогенеза, в идеальном случае для разрушения фибрилл *in vivo*. Несмотря на значительное число работ, посвященных этой важной проблеме, до сих пор не найдено эффективных способов воздействия на фибриллогенез *in vivo*. Существует несколько моделей элонгации фибрилл [42]. Во-первых, «зародыши», состоящие из мономеров с фибриллогенной конформацией, могут присоединять только аналогичные мономеры. Этот механизм предполагает отбор аномальных конформеров из общего пула молекул белка. Во-вторых, может иметь место аутокаталитический процесс. Механизм аутокатализа заключается в снижении энергии активационного барьера между нативной и фибриллогенной конформацией. Катализатором в этом случае служит сама растущая фибрилла. Первоначально с растущей фибриллой связывается один из конформеров, возможно, нативный конформер, который далее изменяет конформацию на фибриллогенную по принципу ферментативного катализа (образование комплекса Михаэлиса со снижением энергии конформационного перехода). Скорее всего, именно этот механизм обеспечивает фибриллогенез прионного белка. Еще одна модель фибриллогенеза предполагает изначальное формирование олигомерных структур, которые, соединяясь, обеспечивают рост фибрилл, возможно с изменением конформации олигомеров. На строение фибрилл могут оказывать влияние различные кофакторы, связывающиеся с мономерами фибриллогенного белка.

Сформированные фибриллы и в большей степени зрелый амилоид представляют собой весьма стабильные образования. В ряде случаев они растворяются только при использовании сильных денатурирующих веществ и почти не подвергаются протеолизу. Такая стабильность объясняется способом «упаковки» молекул белков или пептидов в упорядоченных фибриллах. Главными стабилизирующими силами

в фибриллах являются водородные связи. Эти связи образуются пептидными группами близлежащих полипептидных тяжей. Для формирования водородных связей между параллельно или антипараллельно расположенными полипептидными тяжами необходимо, чтобы они уже входили в состав β -структур. При этом, чем протяженнее контактирующие тяжи, тем сильнее их взаимное притяжение. Наличие таких контактирующих участков можно моделировать при помощи программ. В наших работах подобное моделирование показало существование специальных симметричных мотивов первичной структуры в фибриллогенных белках [1, 18]. Важность β -структур для фибриллогенеза определяет и особенности фибриллогенной конформации. Часто именно белки с высоким содержанием β -структур обладают фибрилlogenностью. Другой возможностью является смена α -спиральности на β -структурированность, что и служит поводом для фибриллогенеза.

Результаты изучения фибрилл конкретных белков показали, что отдельные мономеры путем формирования межпептидных водородных связей (рис. 1) упаковываются параллельным или антипараллельным образом, при этом длинная ось мономера устанавливается перпендикулярно оси фибриллы. Вдоль оси фибриллы могут быть винтовые сдвиги, при этом вся фибрилла приобретает спиральный вид. Отдельные фибриллы могут формировать пучки, которые видно при помощи электронной или атомносиловой микроскопии (рис. 2). На рис. 3 представлены изображения фибрилл разных белков, полученные в нашей лаборатории. Размеры видимых на микрофотографиях фибрилл 5–10 нм. Фибриллы, независимо от формирующего их белка, по своей морфологии весьма сходны, хотя детальный анализ может выявить характерные особенности. В ряде случаев в модельных экспериментах фибриллогенные белки образуют так называемые сферулиты – шарообразные замкнутые структуры [29].

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ КЛЕТочНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ ФИБРИЛЛОГЕНЕЗЕ

Несмотря на существенный прогресс в понимании механизма формирования аномальных фибрилл и выяснения роли мутаций соответствующих генов в развитии амилоидозов, причины клеточной дегенерации, вызываемой отложением амилоида, до сих пор не вполне ясны. Существует несколько гипотез. Первые исследователи естественно предполагали, что дегенеративный процесс обусловлен накоплением амилоида в тканях. Механическое воздействие, возможно, осложненное воспалительными явлениями, как полагали, и служит причиной клеточной дегене-

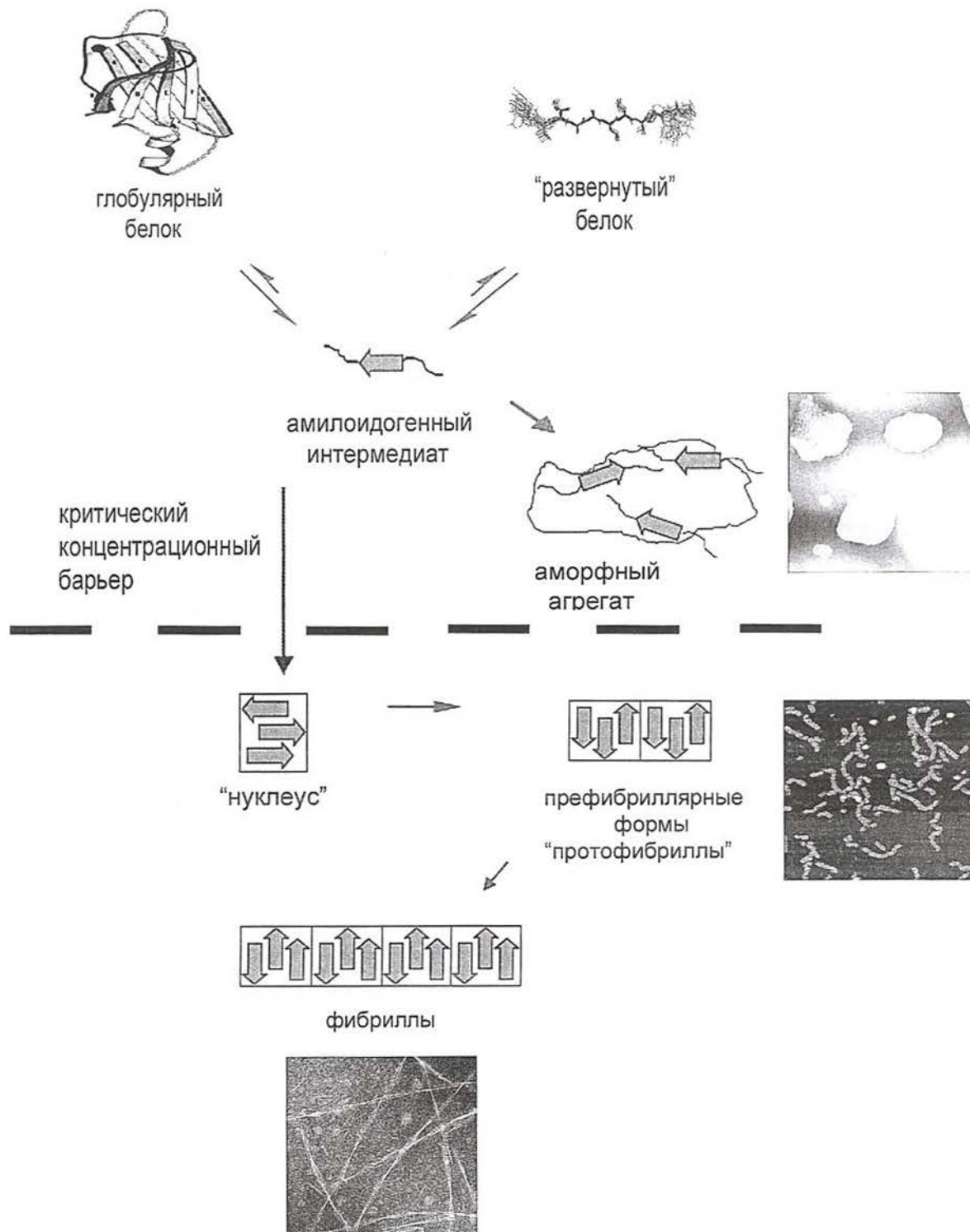


Рис. 1. Схема образования белковых фибрилл. Механизм фибриллогенеза

рации. Действительно при классическом вторичном амилоидозе объемный процесс настолько выражен, что может нарушать функцию пораженных органов. Кроме того, сам хронический воспалительный процесс представляет собой серьезную угрозу. Однако по мере развития представлений об амилоидозах, такое упрощенное представление все больше подвергается критике. Исследование влияния фибриллогенеза

на клеточном уровне показало, что сами фибриллы часто не оказывают токсического действия. В то же время отдельные компоненты, образующиеся в ходе аномального фибриллогенеза, обладают выраженным токсическим эффектом [41] Речь идет о первых продуктах с измененной конформацией. Префибриллярные формы, представляющие собою агрегаты из нескольких молекул или субъединиц амилоидо-

генного белка, т. е. компоненты нуклеации способны вызвать апоптоз клеток. Таким образом, первичные агрегаты аномально свернутых полипептидов представляют собою сигналы апоптоза. Этим объясняется отсутствие выраженной корреляции между содержанием амилоида в ткани и тяжестью процессов дегенерации. Такое положение вещей заставляет думать о путях коррекции амилоидозов. Если главную угрозу представляют начальные этапы фибриллогенеза, то и терапевтические мероприятия должны быть направлены на эти этапы, т. е. для конкретных амилоидозов должны разрабатываться подходы исключения нуклеации как главного источника клеточной дегенерации. При этом факторы, направленные исключительно на предотвращение формирования зрелых фибрилл, могут быть не эффективны.

В то же время полностью игнорировать роль самого амилоида вряд ли целесообразно. Во-первых, объемный процесс сам по себе может служить фактором, нарушающим трофику, а следовательно, способствующим дегенерации. Во-вторых, не исключена особая роль амилоида в опосредованной провакации клеточной гибели. Например, в последних исследованиях появились предположения о роли ионов тяжелых металлов в амилоидогенезе. Оказалось, что прионы, альцгеймеровский амилоид и другие виды амилоида [24, 25] комплексируют ионы меди. Известно, что эти комплексы обладают окислительно-восстановительными свойствами и способны генерировать активные формы кислорода, которые могут оказывать токсический эффект на близлежащие клетки. По-видимому, совокупность всех факторов повреждающего действия формирующегося амилоида в итоге и вызывает процессы клеточной дегенерации. Клеточная гибель с замещением основной ткани соединительнотканнми образованиями приводит к появлению характерных бляшковидных амилоидных отложений и функциональным расстройствам.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ФИБРИЛЛОГЕНЕЗ

В настоящее время четко показано, что многие белки [34] (имеются предположения, что практически все белки) при определенных условиях способны к самоагрегации с формированием фибриллярных структур. Для модельных исследований часто используют такие белки, как инсулин, гемоглобин и другие. Эти белки *in vitro* легко формируют фибриллы, которые сходны с фибриллами амилоидогенных белков. В некоторых случаях модельные фибриллы по ряду свойств «превосходят» получаемые из амилоидогенных белков (имеются в виду свойства фибрилл как наноматериалов). Показано, что различные производные белка при разных условиях формируют сходные по физико-химическим показателям фибриллы [28].

В плане изучения общих принципов формирования фибрилл весьма интересны результаты исследования морфологических свойств так называемых тел включения, которые образуются в бактериях из рекомбинантных белков. Образование тел включения является серьезной проблемой получения нативных целевых рекомбинантных белков в бактериальных системах. Тела включения состоят из практически чистых белков, но эти белки не имеют нативной физиологической конформации и не растворимы в обычных условиях. Для их перевода в растворимую форму необходима предварительная денатурация. Для этого используются концентрированные растворы мочевины и гуанидинхлорида или сходных веществ. Для мягкого восстановления дисульфидных связей применяются свободные тиолы (меркаптоэтанол, дитиотреитол и др.). Естественно, что растворение подобным образом сопровождается полной денатурацией. Поэтому последующее формирование нативной конформации требует специальных, часто весьма трудоемких процедур. Некоторые рекомбинантные белки из тел включения вообще в нативном состоянии выделить невозможно. Для получения таких белков приходится использовать трансфекцию эукариотических клеток. Морфологические исследования показали, что тела включения могут состоять из фибрилл, аналогичных тем, которые известны для амилоидогенных белков [48]. Таким образом, проблема аномального фибриллогенеза представляется весьма важной фундаментальной проблемой, охватывающие многие области, как медицины, так и молекулярной биологии и биотехнологии. В этом плане аномальный фибриллогенез может служить моделью для исследования закономерностей фолдинга белковых молекул. Для предотвращения аномального фолдинга в природе существуют специальные защитные белки, получившие название шаперонов. Эти белки обеспечивают правильное свертывание белковых молекул в клетках и способствуют уничтожению аномальных конформеров. В последнее время показано, что для образования нативных рекомбинантных белков в бактериальной клетке можно использовать зеленый флуоресцентный белок – суперфолдер. Он, будучи присоединен к целевому белку геноинженерным методом (белки слияния), помогает последнему приобрести правильную конформацию. В наших работах продемонстрирована возможность синтеза белков слияния суперфолдера с бета2-микроглобулином и транстиретином. В обоих случаях суперфолдер препятствовал формированию тел включения. В условиях фибриллогенеза эти выделенные белки слияния образовывали характерные фибриллярные структуры (см. рис. 2).

Для понимания закономерностей амилоидогенеза большую ценность представляют модельные исследования на клетках и экспериментальных животных [14].

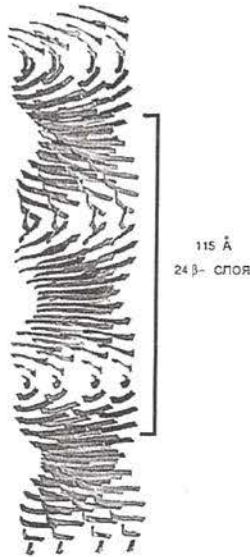


Рис. 2. Упаковка отдельных белковых молекул в фибриллы. Длинная ось фибриллы направлена снизу вверх. Спиральность фибриллы обусловлена сдвигом молекул белка друг относительно друга

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫХ АМИЛОИДОВ

Амилоидозы, вызванные фибриллогенными молекулами иммуноглобулинов или их цепей. Из всех амилоидозов, представленных в табл. 1, иммуноглобулиновые амилоидозы самые распространенные, а следовательно, и значимые для здравоохранения. В США ежегодно диагностируется 1275–3200 случаев AL. Пик заболевания приходится на 40 лет [11]. При отсутствии соответствующей терапии больные быстро погибают. Различают амилоидозы, связанные с продукцией определенных типов легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов. Эти амилоидозы могут быть как первичными, так и вторичными. Иногда все типы иммуноглобулинового амилоидоза рассматриваются в рамках единой В-клеточной дисфункции. Наследственных форм этого типа амилоидоза не наблюдается. Вторичные иммуноглобулиновые амилоидозы связаны с образованием моноклональных иммуноглобулинов клонами миеломных клеток. У 20% больных AL выявляется миелома, у остальных – другие нарушения со стороны В-лимфоцитов. В то же время у 15% больных миеломой развивается AL. Первичные иммуноглобулиновые амилоидозы вызваны избыточным синтезом легких или тяжелых цепей опять-таки клонами определенных клеток иммунной системы. Возможность образования амилоидогенных молекул из отдельных цепей иммуноглобулинов обусловлена физиологической функцией антителопродуцирующих клеток. Как известно, специфичность антител связана с уникальной первичной

структурой легких и тяжелых цепей, формирующих иммуноглобулины. Эта уникальность детерминирована процессами рекомбинации и мутагенеза, в результате которых образуются клоны клеток, способных продуцировать индивидуальные молекулы иммуноглобулинов. Среди этих молекул велика вероятность появления фибриллогенных вариантов. При индукции клеток, способных синтезировать такие варианты, концентрация фибриллогенных цепей в плазме крови возрастает. После превышения пороговых величин запускается фибрилlogenез этих цепей. Чаще всего возникают амилоидогенные варианты λ -цепей. До 42% амилоидогенных цепей возникают за счет изменений в вариабильных доменах IGLV6-57 и IGLV3-1 [11]. Болезни тяжелых цепей (AH) встречаются реже, чем AL. Таким образом, само разнообразие иммуноглобулинов обеспечивает возможность возникновения амилоидогенных вариантов. Амилоидозы, обусловленные продукцией легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов, являются системными. Поражаются сердечно-сосудистая система, легкие, желудочно-кишечный тракт, мышцы и нервная ткань. Обычно иммуноглобулиновый амилоидоз диагностируется по повышению концентрации легких или тяжелых цепей в плазме крови и в моче. Однако необходимо иметь в виду, что амилоидогенная концентрация цепей может быть не очень велика. В этом случае общая концентрация цепей в плазме крови изменяется незначительно. Поэтому в ряде случаев (около 15% всех больных AL) по концентрации цепей в крови и моче диагностировать иммуноглобулиновый амилоидоз не представляется возможным. В этих случаях помогает исследование биопсийного материала.

Амилоидоз, связанный с фибрилlogenезом лизоцима. Лизоцим – древний белок, обеспечивающий защиту организма от многих микроорганизмов. Этот фермент разрушает полисахаридную оболочку бактерий и способствует их уничтожению. Как первичные, так и пространственные структуры лизоцимов многих видов хорошо изучены, что делает этот белок удобным для исследований его фибриллогенных потенциалов.

Амилоидоз, обусловленный фибрилlogenезом лизоцима, имеет наследственный характер. Известно 5 форм лизоцима с нарушениями первичной структуры, которые вызывают развитие амилоидоза. Нормальный лизоцим в амилоидных отложениях не встречается. Фибрилlogenез неизмененного лизоцима наблюдается только в эксперименте, так как необходимы достаточно жесткие денатурирующие условия для дестабилизации третичной структуры белка. Обычно в качестве модельного используется лизоцим куриных яиц [32]. Этот лизоцим формирует фибриллы при низких значениях pH, повышенной

температуре и после воздействия денатурантов. Связанный с аномальными вариантами лизоцима амилоидоз поражает избирательно почки, легкие, печень и кишечник. Специфической терапии лизоцимного амилоидоза не существует.

Гемодиализный амилоидоз. Само название данной патологии указывает на связь с терапевтической процедурой. Действительно, этот тип амилоидоза был впервые описан в 1980 г. [6] у лиц, которым по жизненным показаниям назначались процедуры гемодиализа. Вне зависимости от основного заболевания, обуславливающего тяжелые формы почечной недостаточности, у таких больных часто развивались осложнения, выражающиеся в болевом синдроме. В отличие от других амилоидозов гемодиализный амилоидоз представляет собою достаточно доброкачественное осложнение основной терапевтической процедуры.

Гемодиализный амилоидоз проявляется в отложении амилоида в соединительнотканых структурах, главным образом, сухожильного и связочного аппарата [8, 21]. Скорее всего, объемный процесс вызывает характерную для этого амилоидоза симптоматику. У больных часто наблюдается синдром карпального канала, скапулофemorальный периартроз, деструктивная спондилоартропатия (в некоторых случаях осложненная миелокомпрессией), атлантоаксиальная артропатия, бурситы, костные кисты, патологические переломы [12]. Болевой синдром и сокращения объема движений в суставах приводят к ухудшению качества жизни. Большую опасность представляет повышенный риск возникновения костных повреждений. Слабо выраженные проявления гемодиализного амилоидоза часто не диагностируются. Хотя прямой угрозы жизни гемодиализный амилоидоз не представляет, своевременная диагностика позволяет адекватно рекомендовать метод гемодиализа и назначить наиболее эффективную терапию.

Химический анализ амилоида, выделенного из тканей больных, показал, что его основой является известный белок – бета2-микроглобулин [20], который впервые был выделен из мочи нефротических больных в 1968 г. [10]. Бета2-микроглобулин представляет собой важный белок системы клеточного иммунного ответа. Это сравнительно небольшой моносубъединичный белок с мол. м. 11,8 кД, состоящий из 99 аминокислотных остатков. В последнее время показано, что, наряду с основной антиген-презентирующей функцией, белок принимает участие в ряде других биохимических процессов. Бета2-микроглобулин синтезируется во всех ядродержащих клетках организма. Наибольшие количества белка по понятным причинам сосредотачиваются в клетках иммунной системы. Бета2-микроглобулин является составной частью антиген-презентирующего комп-

лекса, другим компонентом которого являются отдельные полипептидные цепи (субъединицы) – белки (антигены) I класса главного комплекса гистосовместимости. В отличие от генов альфа-цепей, ген бета2-микроглобулина весьма консервативен, что говорит о его важной роли в иммунном ответе. Этим, в частности, объясняется отсутствие вариантов белка, обусловленных генетическим полиморфизмом. Помимо основной роли, бета2-микроглобулин принимает участие в транспорте иммуноглобулинов и в обмене железа [37]. Нативный природный бета2-микроглобулин в жидкостях организма не подвергается фибриллогенезу. Поэтому первичного амилоидоза, вызванного отложением фибриллярных агрегатов бета2-микроглобулина, описано не было. Бета2-микроглобулиновый амилоидоз, как уже отмечалось, появился с введением в арсенал терапевтических процедур гемодиализа и сходных методов очистки крови. Причина развития гемодиализного амилоидоза в настоящее время в общих чертах понятна. Оказалось, что катаболизм отделяющегося от клеточной поверхности бета2-микроглобулина в основном обеспечивается почками. В клетках почечных канальцев бета2-микроглобулин подвергается разрушению, часть белка попадает в фильтрат. В норме в плазме крови концентрация бета2-микроглобулина поддерживается на уровне 1–3 мг/л [17]. В результате повреждения почек, вызванного первичной патологией, развивающаяся хроническая почечная недостаточность приводит, с одной стороны, к необходимости гемодиализа, а, с другой стороны, к нарушению почечного разрушения и выведения бета2-микроглобулина. Обе эти причины лежат в основе увеличения концентрации белка в плазме крови. Процедуры гемодиализа даже в случае применения специальных мембран не в состоянии обеспечить достаточно эффективное выведение бета2-микроглобулина из кровотока. В крови больных с почечной недостаточностью концентрация бета2-микроглобулина составляет 25–60 мг/л. Хотя четкой корреляции между уровнем повышения бета2-микроглобулина в плазме крови и развитием амилоидоза не наблюдается, длительность хронического гемодиализа имеет прямое отношение к развитию осложнения [27, 33]. Таким образом, все-таки повышение концентрации бета2-микроглобулина в крови является главным патогенетическим звеном развития этого типа амилоидоза. Именно увеличение концентрации бета2-микроглобулина приводит к появлению аномальных конформеров белка, которые при определенных условиях формируют фибриллы. Даже в случаях без выраженной клинической симптоматики в аутопсийном материале больных, находившихся на хроническом гемодиализе, очень часто обнаруживаются признаки амилоидоза [7, 8]. Все это дает пра-

во говорить о вовлеченности в процесс целого ряда как эндогенных, так и экзогенных факторов, которые определяют клиническое течение гемодиализного амилоидоза. Из эндогенных факторов известно влияние модификаций первичной структуры бета2-микроглобулина, в частности, путем протеолиза [31]. Укороченные с N-конца молекулы белка обладают повышенной фибрилlogenностью *in vitro*, а также обнаруживаются в составе биопсийного амилоида. Не исключено участие иммунного ответа на появление модифицированных молекул бета2-микроглобулина в результате увеличенного периода циркуляции этого белка в организме больных с почечной недостаточностью [17]. Окончательного четкого представления о молекулярных основах патогенеза гемодиализного амилоидоза не существует, и, хотя число больных с клиническими проявлениями амилоидоза в последнее время снизилось за счет разработки новых типов мембран, общее число больных, подвергаемых процедуре гемодиализа, постоянно возрастает [36]. Эти моменты определяют необходимость всестороннего исследования гемодиализного амилоидоза как с клинических позиций, так и в условиях эксперимента *in vitro*.

В наших исследованиях мы предприняли попытку исследовать фибрилlogenез бета2-микроглобулина *in vitro*, а также выявить факторы, предположительно способствующие развитию гемодиализного амилоидоза. Была разработана методика получения очищенного бета2-микроглобулина из гемодиализной жидкости, получаемой в ходе соответствующей процедуры. Созданы экспрессионные генетические конструкции, которые позволяют получать рекомбинантные бета2-микроглобулины в виде полноразмерного белка и его укороченных форм, а также белок слияния с зеленым флуоресцентным белком. На рис. 2 представлены электронномикроскопические и атомносиловые изображения фибрилл рекомбинантных и природного бета2-микроглобулина. Показано, что белок слияния также формирует фибриллы, и эта его способность может быть использована для изучения фибрилlogenеза в условиях эксперимента на животных.

Транстиретиновый амилоидоз. Из первичных амилоидозов, помимо болезни Альцгеймера, наиболее исследованным является так называемый транстиретиновый амилоидоз. Само название говорит о вовлеченности в патогенез белка плазмы крови – транстиретина. Транстиретин (тироксин-связывающий преальбумин) состоит из 4 идентичных субъединиц с мол. м. 14 кД, мол. м. функционально активного белка составляет 56 кД. Такое название белок получил из-за своей физиологической роли, которая заключается в экстраклеточном транспорте гормонов щитовидной железы и ретинола (витамина А) в

комплексе с ретинол-связывающим белком. На долю транстиретина приходится около 15% транспортируемых гормонов щитовидной железы. По-видимому, этот белок не является абсолютно необходимым для жизнедеятельности. Транстиретин синтезируется главным образом в печени и в хорoidalном сплетении мозга. Помимо транспортной функции, транстиретину в последнее время приписывается способность стимулировать регенерацию нервных волокон, а также защитная роль в патогенезе ряда нейродегенеративных заболеваний, в том числе двух амилоидозов (болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона) [39, 40]. Концентрация этого белка в плазме крови в норме составляет 250–350 мг/л или 4–6 мМ [19]. Ген транстиретина расположен на 18-й хромосоме, 18p11.1-q12.3, и состоит из 4 экзонов.

Аномальный фибрилlogenез транстиретина лежит в основе трех разновидностей амилоидоза: семейная амилоидная нейропатия (полинейропатия), старческий амилоидоз и кардиомиопатия. Впервые роль транстиретина в развитии семейной амилоидной нейропатии была установлена в 1984 г. [38]. Исследование амилоидных фибрилл больных в Португалии показало, что транстиретин при этой патологии изменен в результате мутации.

Число обнаруженных мутантных аллелей гена транстиретина постоянно возрастает. На сегодняшний день известно уже около 100 мутаций гена транстиретина. Большинство мутаций придают белку амилоидогенные свойства. В табл. 2 представлены выявленные мутации гена транстиретина. Из всех известных вариантов транстиретина наиболее амилоидогенным считается белок с заменой Leu55Pro (замена лейцина на пролин в положении 55 аминокислотной последовательности субъединицы транстиретина) [30]. У носителей единичного аллеля этого гена в большей степени повреждается нервная ткань. Поэтому такие больные страдают периферической полинейропатией. У носителей другой мутации Val30Met (замена валина в положении 30 на метионин) наблюдаются полинейропатия или поражения сердечной мышцы, либо сочетанная полинейропатия и кардиомиопатия. При других мутациях также могут быть сочетанные системные поражения или редкие проявления амилоидоза. Взаимозависимость между носительством определенного аллеля и проявлением заболевания отражена в табл. 2. Мутация Val30Met является самой распространенной в мире.

Начальным симптомом в случае преимущественного поражения нервной системы чаще всего являются сенсорная периферическая нейропатия нижних конечностей с болями и повышенной чувствительностью к температуре. В дальнейшем развиваются моторные нарушения с уменьшением мышечной массы и снижением мышечной силы. В ряде случа-

ев имеют место симптомы со стороны автономной нервной системы: дисгидроз, импотенция, перемежающиеся диаррея и констипация, ортостатическая гипотензия и недержание мочи. Часто диагностируются нарушения сердечной деятельности и поражения почек. Более редкими являются окулолептоменингеальные симптомы, церебральные инфаркты, гемморагии, гидроцефалия, спастические параличи, конвульсии, деменция, нарушения зрения. В редких случаях заболевание начинается с карпального туннельного синдрома, в других случаях – с поражения глаз, заключающихся в утрате прозрачности стекловидного тела, сухом кератоконъюнктивите, глаукоме и поражении папиллярных мышц.

Наиболее частый генетический вариант транстиретина Val30Met впервые был обнаружен в Португалии, а затем в Японии и Швеции [5, 38]. Носители этого аномального аллеля гена транстиретина имеют высокий риск заболевания амилоидозом, главным проявлением которого является полиней-

ропатия. Системность отложения амилоида при данной наследственной патологии выражается в том, что помимо вовлечения периферической нервной ткани у больных может развиваться тяжелое поражение сердца, которое течет по типу рестриктивной кардиомиопатии. В этих случаях симптоматика со стороны сердечной мышцы становится ведущей в клинической картине, так как развивающаяся сердечная недостаточность создает угрозу жизни. Обычно транстиретинный амилоидоз диагностируется в пожилом возрасте. Так, пенетрантность для носителей в возрасте 30 лет составляет 1,7%, в возрасте 60 лет – 22%. В более пожилом возрасте корреляция носительства с заболеваемостью возрастает, но даже в возрасте 90 лет пенетрантность составляет только 69% [23]. По непонятным причинам пенетрантность выше при наследовании мутантного аллеля по материнской линии. Недавно описан интересный факт. Были обнаружены различия в природе амилоидных отложений у больных носителей мутации Val30Met с

Таблица 2

Мутации в гене транстиретина, соответствующие замены в полипептидной цепи белка, ведущая клиническая симптоматика и страна, где вариант обнаружен

№	Замена кодона в гене	Изменение в белке	Клинические проявления	Страна обнаружения
1	TGT-CGT	Cys10Arg	КМП, СТ, ПН	США
2	CTG-CCG	Leu12Pro	ЛМ	Великобритания
3	GAT-GAA	Asp18Glu	ПН	Южная Америка, США
4	GAT-GGT	Asp18Gly	ЛМ	Венгрия
5	GAT-AAT	Asp18Asn	КМП	США
6	GTC-ATC	Val20Ile	КМП, КТС	Германия, США
7	AGT-AAT	Ser23Asn	КМП, ПН, СТ	США
8	CCT-TCT	Pro24Ser	КМП, КТС, ПН	США
9	GCC-TCC	Ala25Ser	КМП, КТС, ПН	США
10	GCC-ACC	Ala25Thr	ЛМ, ПН	Япония
11	GTG-ATG	Val28Met	ПН, АН	Португалия
12	GTG-ATG	Val30Met	ПН, АН, СТ, ЛМ	Португалия, Япония, Швеция, США, Россия
13	GTG-GCG	Val30Ala	КМП, АН	США
14	GTG-CTG	Val30Leu	ПН, КМП	Португалия
15	GTG-GGG	Val30Gly	ЛМ, КМП	США
16	GTG-GCG	Val32Ala	ПН	Израиль
17	TTC-ATC	Phe33Ile	ПН, СТ	Израиль
18	TTC-CTC	Phe33Leu	ПН, КМП	США
19	TTC-GTC	Phe33Val	ПН	Великобритания, Япония, Китай
20	TTC-TGC	Phe33Cys	КТС, КМП, СТ, почки	США
21	AGA-ACA	Arg34Thr	ПН, КМП	Италия
22	AGA-GGA	Arg34Gly	СТ	Великобритания
23	AAG-AAC	Lys35Asn	ПН, АН, КМП	Франция
24	AAG-ACG	Lys35Thr	СТ	США
25	GCT-CCT	Ala36Pro	СТ, КТС	США
26	GAT-GCT	Asp38Ala	ПН, КМП	Япония
27	TGG-TTG	Trp41Leu	СТ, ПН	США
28	GAG-GGG	Glu42Gly	ПН, АН, КМП	Япония, США, Россия
29	GAG-GAT	Glu42Asp	КМП	Франция

№	Замена кодона в гене	Изменение в белке	Клинические проявления	Страна обнаружения
30	TTT-TCT	Phe44Ser	ПН, АН, КМП	США
31	GCC-ACC	Ala45Thr	КМП	США
32	GCC-GAC	Ala45Asp	КМП, ПН	США
33	GCC-TCC	Ala45Ser	КМП	Швеция
34	GGG-CGG\AGG	Gly47Arg	ПН, АН	Япония
35	GGG-GCG	Gly47Ala	КМП, АН	Италия, Франция, Россия
36	GGG-GTG	Gly47Val	КТС, ПН, АН, МПК	Шри-Ланка
37	GGG-GAG	Gly47Glu	КМП, ПН, АН	Турция, США, Германия
38	ACC-GCC	Thr49Ala	КМП, КТС	Франция, Италия
39	ACC-ATC	Thr49Ile	ПН, КМП	Япония, Испания
40	ACC-CCC	Thr49Pro	КМП, ПН	США
41	AGT-AGG	Ser50Arg	АН, ПН	Япония, Франция, Италия, США
42	AGT-ATT	Ser50Ile	КМП, АН, ПН	Япония
43	GAG-GGG	Glu51Gly	КМП	США
44	TCT-CCT	Ser52Pro	ПН, АН, К, почки	Великобритания
45	GGA-GAA	Gly53Glu	ЛМ, КМП	Баски, Швеция
46	GAG-GGG	Glu54Gly	ПН, АН, СТ	Великобритания
47	GAG-AAG	Glu54Lys	ПН, АН, КМП, СТ	Япония
48	GAG-CTG	Glu54Leu		Великобритания
49	CTG-CCG	Leu55Pro	КМП, АН, СТ	США, Тайвань
50	CTC-CGG	Leu55Arg	ЛМ	Германия
51	CTC-CAG	Leu55Gln	СТ, ПН	США
52	CTC-GAG	Leu55Glu	КМП, ПН, АН	Швеция
53	CAT-CGT	His56Arg	КМП	США
54	GGG-AGG	Gly57Arg	КМП	Швеция
55	CTC-CAC	Leu58His	КТС, К	США
56	CTC-CGC	Leu58Arg	КТС, АН, СТ	Япония
57	ACA-AAA	Tyr59Lys	КМП, ПН, АН	Италия, США, Китай
58	ACT-GCT	Thr60Ala	КМП, КТС	США
59	GAG-AAG	Glu61Lys	ПН	Япония
60	GAG-GGG	Glu61Gly	КМП, ПН	США
61	TTT-CTT\TTG	Phe64Leu	ПН, КТС, К	СШФ, Италия
62	TTT-TCT	Phe64Ser	ЛМ, ПН, СТ	Канада, Великобритания
63	ATA-TTA	Ile68Leu	КМП	Германия
64	TAC-CAC	Tyr69His	СТ, ЛМ	Канада, США
65	TAC-ATC	Tyr69Ile	КМП, КТС, АН	Япония
66	AAA-AAC	Lys70Asn	СТ, КТС, ПН	США
67	GTG-GCG	Val71Ala	ПН, СТ, КТС	Франция, Испания
68	ATA-GTA	Ile73Val	ПН, АН	Бангладеш
69	TCT-TAT	Ser77Tyr	ПН, КТС, почки	США, Франция, Испания
70	TCT-TTT	Ser77Phe	ПН, АН, К	Франция
71	TAC-TTC	Tyr78Phe	ПН, КТС, кожа	Франция
72	GCA-ACA	Ala81Thr	КМП	США
73	GCA-GTA	Ala81Val	КМП	Великобритания
74	ATC-AGC	Ile84Ser	КМП, КТС, СТ	США, Венгрия
75	ATC-AAC	Ile84Asn	КМП, СТ	США
76	ATC-ACC	Ile84Thr	КМП, ПН	Германия, Великобритания
77	CAT-CGT	His88Arg	КМП	Швеция
78	GAG-CAG	Glu89Gln	ПН, КМП	США
79	GAG-AAG	Glu89Lys	ПН, КМП	Великобритания
80	CAT-GAT	His90Asp	КМП	Великобритания,
81	CAT-CCT	His90Asn	КМП	Россия
82	GCA-TCA	Ala91Ser	ПН, кожа	Франция

№	Замена кодона в гене	Изменение в белке	Клинические проявления	Страна обнаружения
83	GAG-AAG	Glu92Lys	кожа	Япония
84	GTA-GCA	Val94Ala	КМП, ПН, АН, почки	Германия, США
85	GCC-GGC	Ala97Gly	ПН, кожа	Япония
86	GCC-TCC	Ala97Ser	Кожа, НП	Тайвань, США
87	ATT-GTT	Ile107Val	КМП, КТС, ПН	США
88	ATT-ATG	Ile107Met	ПН, КМП	Германия
89	ATT-TTT	Ile107Phe	ПН, АН	Великобритания
90	GCC-TCC	Ala109Ser	ПН, АН	Япония
91	CTG-ATG	Leu111Met	КМП	Дания
92	AGC-ATC	Ser112Ile	ПН, КМП	Италия
93	TAC-TGC	Tyr114Cys	ПН, АН, СТ, ЛМ	Япония, США
94	TAC-CAC	Tyr114His	КТС, кожа	Япония
95	TAT-TCT	Tyr116Ser	ПН, КТС, АН	Франция
96	GCT-TCT	Ala120Ser	КМП	Карибский бассейн (африканцы)
97	GTC-ATC	Val122Ile	КМП	США
98		Val122del	КМП ПН	США (Эквадор), Испания
99	GTC-GCC	Val122Ala	КМП, СТ, ПН	США

Обозначения: ПН – полинейропатия, КМП – кардиомиопатия, КТС – карпальный туннельный синдром, АН – локализованная нейропатия, ЛМ – лептоменингеальные поражения, СТ – поражение стекловидного тела.

полинейропатиями и кардиомиопатиями [26]. В первом случае амилоид биопсийного материала хорошо окрашивался Конго красным и состоял из фибрилл полноразмерного транстиретина. Средний возраст таких больных составлял 44,8±12,9 года. С другой стороны, в группе больных с преимущественным поражением сердца средний возраст составлял 67,3±7 лет, и в составе амилоида выявлялись фрагменты транстиретина. Эти данные говорят о существенном влиянии, скорее всего, эндогенных (возможно, генетических) факторов на течение транстиретинового амилоидоза при одном и том же первичном изменении в гене.

Одной из необычных для других амилоидозов особенностью транстиретинового амилоидоза является вовлеченность в патогенез нормального варианта белка. Уже говорилось о том, что известны случаи сенильного амилоидоза, при котором амилоид содержит только транстиретин «дикого типа». Такие спорадические случаи заболевания не связаны с мутациями в гене транстиретина. Кроме того, известно, что в случаях пересадки донорской печени больным с транстиретиновым амилоидозом (в ряде случаев трансплантация производится по жизненным показаниям) вмешательство должно предшествовать развитию симптоматики со стороны сердца. Если амилоидоз уже распространился на ткани сердца, то происходит дальнейшее накопления амилоида, несмотря на отсутствие аномального транстиретина в плазме крови. Вновь образующийся амилоид включает нормальный транстиретин. В какой-то степени это явление напоминает ситуацию, наблюдае-

мую при наиболее тяжелом амилоидозе – прионных болезнях.

Нами в сотрудничестве с Лабораторией кардиомиопатий Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова у больных кардиомиопатиями обнаружены: мутация с.1679G>A во втором экзоне гена транстиретина (соответствующая аминокислотная замена V30M), мутация с.1731G>C также во втором экзоне (соответствующая аминокислотная замена G47A) и мутация с.3951A>C в третьем экзоне (соответствующая аминокислотная замена H90N). Эти мутации относятся к амилоидогенным. Кроме того, у одного больного пробанда и его здоровых дочерей обнаружена делеция 9 нуклеотидов «del9» в не транслируемой части четвертого экзона. В настоящее время нет информации о причастности этой делеции к развитию транстиретинового амилоидоза. Интересной находкой явился факт обнаружения аллеля гена транстиретина с двойной нуклеотидной заменой (аминокислотные замены V30M и G47A). При этом каждая из замен, по данным литературных источников, приводит к образованию амилоидогенного белка. Пробанд является носителем именно аллеля с двойной заменой, а не обычным компаундом, так как второй аллель гена транстиретина этого больного также содержит одну из этих замен (G47A). Таким образом, носитель гетерозиготен по одному сайту и гомозиготен по второму.

Нами выявлена роль аминоконцевого пептида в реализации фибриллогенных свойств транстиретина [4]. Показано, что этот участок белка имеет элементы внутренней симметрии, которая может обеспечивать

фибриллогенные свойства молекулы транстиретина. Интересной особенностью фибрилл транстиретина является низкий квантовый выход флуоресценции при связывании тиофлавина Т. Причина такого поведения тиофлавина при взаимодействии с фибриллами транстиретина исследуются совместно с сотрудниками Института цитологии РАН.

Прионные болезни. Прионные болезни – особый амилоидоз, отличающийся в первую очередь распространением по горизонтали, как все инфекции, и крайне выраженной стабильностью прионной конформации белка. Несмотря на большое число работ в области исследования прионизации, до сих пор не все моменты патогенеза этих фатальных амилоидозов изучены [2]. Кроме человека прионные болезни известны у животных. Даже у таких организмов, как дрожжи, обнаружены белки, которые ведут себя как прионы. Предшественником прионного белка является белок собственного хозяйства клеток. Функционально активный нормальный белок, состоящий в зрелом виде из 254 аминокислотных остатков, хорошо изучен и представляет собою гликопротеин. Известны пространственные организации как белка-предшественника, так и прионных форм. Показано, что часть белка встраивается в плазматические мембраны, часть секретируется. В отличие от непатогенного белка-предшественника, прионный белок не подвергается протеолизу и не денатурирует даже в весьма жестких условиях. Исследование прионных болезней, известных также как «медленные инфекции», началось около полувека тому назад. К настоящему времени известны 4 прионных болезни, которые связаны с прионизацией белка предшественника. Это «куру», впервые обнаруженная у каннибалов Новой Гвинеи, синдром Гертсмана-Штреусслера-Шейнкера, болезнь Крейтцфельда-Якоба и семейная смертельная бессонница. Все заболевания поражают центральную нервную систему. Различия касаются клинического течения, эпидемиологии и начала заболевания. Все болезни носят фатальный характер. Известны как спорадические, так и явно наследственные варианты. В связи с развитием трансплантологии появились ятрогенные формы заболевания (при трансплантациях органов). Причиной всех заболеваний является один и тот же прионный белок. Описано достаточно много мутаций в гене предшественника приона, которые, собственно, и обуславливают клиническое разнообразие.

Интересной особенностью прионного белка является его способность комплексовать ионы меди [2]. Медьсвязывающими свойствами обладают и другие амилоидогенные белки. Показано, что ионы меди в эксперименте способствуют фибриллогенезу бета2-микроглобулина [15].

Старческий амилоидоз аорты. Выше говорилось об амилоидозах, которые, без сомнения, являются заболеваниями, часто с фатальным исходом. Однако не так давно был обнаружен амилоид неизвестной природы в стенке аорты у людей, достигших пожилого возраста. С какими-либо патологическими отклонениями этот амилоидоз не ассоциировался. Атеросклеротические поражения не коррелировали с накоплением амилоидных депозитов в стенке аорты. Вскоре природа данного типа амилоида была установлена [22]. Амилоид был выделен из стенки аорты и исследован. Оказалось, что в состав амилоида входят фибриллы небольшого пептида с молекулярной массой около 6 кД (50 аминокислотных остатков). Пептид получил название «медин» по локализации в средней оболочке аорты. Анализ пептида показал, что он является производным известного белка лактадгерина. Пептид соответствовал последовательности 245–294 лактадгерина. В небольшом количестве в состав амилоида входили пептиды несколько большего размера. Каких-либо замен, соответствующих вариантам гена лактадгерина, в пептидах обнаружено не было. Серийное исследование аутопсийного материала показало, что данный амилоидоз поражает 97% лиц старше 50 лет. Физиологическая функция лактадгерина, мультидоменного гликопротеина, состоящего из 387 аминокислотных остатков, не вполне ясна. Предположительно, этот белок может принимать участие в регуляции свертывания крови. Показано, что кроме эпителиальных клеток экспрессия соответствующего гена осуществляется в стенке аорты. Синтетический 8-членный пептид NFGSVQFV, соответствующий С-концевой части медины, обладает способностью формировать фибриллы, которые по морфологии и способности специфически сорбировать красители не отличаются от других амилоидогенных фибрилл. Предполагается, что амилоидоз, связанный с гиперпродукцией медины или лактадгерина, является одним из проявлений возрастных изменений в стенке аорты. Клинически данный амилоидоз не проявляется.

В настоящем кратком обзоре мы не будем останавливаться на всех амилоидозах. Такие амилоидозы, как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона, достаточно хорошо рассмотрены в соответствующих обзорах и руководствах [13]. Другие амилоидозы встречаются достаточно редко, и их этиопатогенезы в значительной степени подобны вышеописанным.

ДИАГНОСТИКА И ТЕРАПИЯ АМИЛОИДОЗОВ

Классический вирховский амилоидоз с массивным поражением паренхиматозных органов в настоящее время встречается редко. Диагностика этого вто-

ричного амилоидоза и раньше не представляла труда, так как обычно сопровождалась развитием почечной недостаточности с летальным исходом. Что касается других амилоидозов, то их диагностика осложнена целым рядом обстоятельств. Главной особенностью первичных амилоидозов является слабо выраженный объемный процесс. Даже при аутопсиях макроскопически амилоидозы этого типа обнаружить часто невозможно. Для диагностики необходим либо биопсийный, либо аутопсийный материал и специальные методики окраски. Наиболее часто используется окраска Конго красным или тιοфлавином Т. Двойное лучепреломление окрашенных Конго красным препаратов указывает на наличие амилоидных отложений. К сожалению, наличие в образцах амилоида не дает возможности установить его белковую природу. Для уточнения белковой составляющей амилоида можно использовать клиническую симптоматику, а для уточнения – иммуногистохимический анализ, позволяющий выявить природу амилоидогенного белка. Окончательный диагноз может быть поставлен либо путем анализа самого амилоида биохимическими методами (выделение и идентификация белковой составляющей), либо в случае наследственных амилоидозов путем сканирования нуклеотидной последовательности гена предполагаемого белка, детерминирующего развитие амилоидоза. Современные подходы позволяют достаточно быстро и точно с минимальными затратами материала исследовать как белок (например, масс-спектрометрически), так и ДНК пациента. Мы не останавливаемся на клинических аспектах диагностики, которая в любом случае предшествует всем видам анализа.

Несмотря на интенсивные поиски средств лечения амилоидозов [9, 44], достаточно эффективных способов терапии до сих пор не существует. В группу амилоидозов входят заболевания с наиболее серьезными прогнозами. Такие патологии, как прионовые болезни, болезнь Альцгеймера, другие нейродегенеративные амилоидозы и сердечные формы амилоидозов, относятся все еще к фатальным. Исследование закономерностей аномального фибриллогенеза и выяснение непосредственных причин развития амилоидозов, как полагают, может дать толчок для разработки адекватных методов терапии. Из существующих способов лечения амилоидозов в первую очередь следует отнести симптоматическую помощь. Для нейродегенеративных амилоидозов показана нестероидная противовоспалительная терапия. При болезни Альцгеймера такое лечение способствует замедлению прогрессирования болезни. Показано также, что эти лекарства *in vitro* снижают образование Альцгеймеровских пептидов. Такой же эффект оказывают статины, по-видимому, в результате подавления синтеза холестерина.

Исходя из патогенеза амилоидозов, терапия должна включать коррекцию основных стадий формирования амилоида и детоксикацию промежуточных образований. Так как часто главная причина кроется в увеличении концентрации амилоидогенного белка или, точнее, конформеров, то снижение их концентраций может составить один из моментов патогенетической терапии. Снижение концентрации может достигаться разными путями – от пересадки органов при наследственных амилоидозах (транстриетиновый амилоидоз) и выбора соответствующей терапии основного заболевания (вторичные амилоидозы) до применения современных подходов, направленных на подавление экспрессии соответствующих генов. Для иммуноглобулиновых амилоидозов применяются цитостатики, которые угнетают клетки – продуценты амилоидогенных цепей.

Другим направлением является предотвращение собственно фибриллогенеза. Для этого могут быть использованы препараты, дестабилизирующие фибриллы или препараты, подавляющие нуклеацию. Фибриллогенез, связанный с протеолизом белков-предшественников, может корректироваться путем подавления активности соответствующих протеаз или угнетением их синтеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В кратком обзоре представлено современное понимание этиопатогенеза особой группы заболеваний, известных как амилоидозы. Как показывает практика, амилоидозы не являются редкой патологией. Если учесть тяжесть клинического проявления многих амилоидозов и часто фатальный исход, то проблема этих заболеваний представляется весьма актуальной как с теоретической, так и с практической точки зрения. Следует признать, что амилоидозы – это группа конформационных заболеваний со сходным патогенезом на молекулярном уровне. В то же время каждый амилоидоз является четко очерченной нозологической единицей со своей клиникой и этиологией. Классификация амилоидозов строится на двух принципах: этиопатогенетическом и клиническом. Этиопатогенетический включает молекулярные и генетические аспекты: нозологическая форма определяется белком, из которого, главным образом, состоит амилоид, для наследственных амилоидозов крайне важен точный диагноз с идентификацией мутации. Клиническая классификация включает форму амилоидоза, первичность или вторичность в отношении основного заболевания, если таковое имеется, локализацию процесса, клиническую разновидность проявлений. Необходимость полного диагноза объясняется отличительными особенностями прогноза и терапии разных амилоидозов.

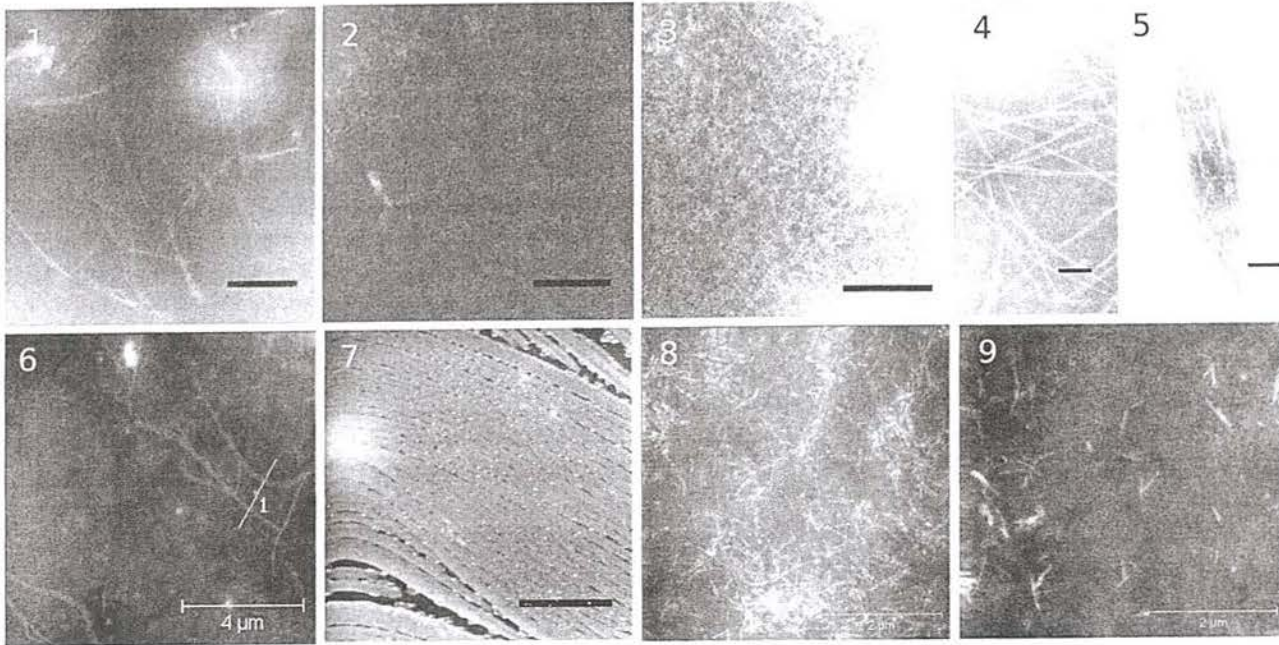


Рис. 3. Электронная и атомно-силовая микроскопия полученных *in vitro* фибрилл природных и рекомбинантных белков:

1. Электронная микроскопия фибрилл лизоцима. Масштабная шкала соответствует 100 нм.
2. Электронная микроскопия фибрилл рекомбинантного транстиретина (L55P). Масштабная шкала соответствует 200 нм.
3. Электронная микроскопия фибрилл нормального транстиретина человека. Масштабная шкала соответствует 200 нм.
4. Электронная микроскопия фибрилл рекомбинантного бета2-микроглобулина. Масштабная шкала соответствует 100 нм.
5. Электронная микроскопия фибрилл рекомбинантного белка слияния бета2-микроглобулина с зеленым флуоресцентным белком суперфолдером. Масштабная шкала соответствует 100 нм.
6. Атомно-силовая микроскопия фибрилл рекомбинантного белка слияния транстиретина (L55P) с зеленым флуоресцентным белком суперфолдером.
7. Атомно-силовая микроскопия фибрилл рекомбинантного транстиретина (L55P). Масштабная шкала соответствует 8 мкм.
8. Атомно-силовая микроскопия фибрилл рекомбинантного бета2-микроглобулина.
9. Атомно-силовая микроскопия фибрилл рекомбинантного белка слияния бета2-микроглобулина с зеленым флуоресцентным белком суперфолдером

Автор благодарит за совместные исследования: Алейникову Т.Д., Груднину Н.А., Морозову И.В., Полякова Д.С. и Соловьева К.В. (НИИ ЭМ СЗО РАМН), Егорова В.В. и Сироткина А.К. (НИИ гриппа СЗО РАМН), Гудкову А.Я. (СПб. государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова)

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00788.

Литература

1. Егоров В.В., Гармай Ю.П., Соловьев К.В. и др. Амилоидогенный пептид, гомологичный участку β -домена α -лактальбуминов // ДАН «Биохимия, биофизика, молекулярная биология». 2007. Т. 414. № 6. С. 1–33.
2. Покровский В.И., Киселев О.И., Черкасский Б.Л. Прионы и прионные болезни. М.: Изд-во РАМН, 2004. С. 385.
3. Семернин Е.Н., Шавловский М.М., Костарева А.А. и др. Наследственный амилоидоз с поражением сердечно-сосудистой системы // Артериальная гипертензия. 2008. Приложение № 2. Т. 14. № 2. С. 89–93.
4. Соловьев К.В., Гастева А.А., Егоров В.В. и др. Роль С-концевого фрагмента транстиретина человека в аномальном фибрилlogenезе // Биохимия. 2006. Т. 71. С. 672–680.
5. Ando Y., Nakamura M., Araki S. Transthyretin-related familial amyloidotic polyneuropathy // Arch. Neurol. 2005. Vol. 62. P. 1057–1062.
6. Assenat H., Calemard E., Charra B. et al. Haemodialyse syndrome du canal carpien et substance amyloide // Presse Med. 1980. Vol. 9. P. 1715.
7. Bardin T., Vasseur M., de Vernejoul M.C., Raymond P. et al. Prospective study of articular involvement in patients on hemodialysis for 10 years // Rev. Rhum. Mal. Osteo-artic. 1988. Vol. 55. P. 131–133.
8. Bardin T., Zingraff J., Shirahama T. et al. Hemodialysis-associated amyloidosis and β 2-microglobulin. Clinical and immunohistochemical study // Am. J. Med. 1987. Vol. 83. P. 419–424.
9. Bartolini M., Andrisano V. Strategies for the Inhibition of Protein Aggregation in Human Diseases // ChemBioChem 2010. Vol. 11. P. 1–19.
10. Berggard, I., Beam A. G. Isolation and properties of a low molecular weight B2-globulin occurring in hu-

- man biological fluids // *J. Biol. Chem.* 1968. Vol. 243. P. 4095–4103.
11. Bhat A., Selmi C., Naguwa S. M. et al. Currents Concepts on the Immunopathology of Amyloidosis // *Clin. Rev. Allerg. Immunol.* 2010. Vol. 38. P. 97–106.
 12. Bindi P., Chanard J. Destructive spondyloarthropaty in dialysis patients: an overview // *Nephron.* 1990. Vol. 55. P. 104–109.
 13. Brorsson A.C., Kumita J.R., MacLeod I. et al. Methods and models in neurodegenerative and systemic protein aggregation diseases // *Front Biosci.* 2010. Vol. 15. P. 373–396.
 14. Buxbaum J.N. Animal models of human amyloidoses: Are transgenic mice worth the time and trouble? // *FEBS Letters.* 2009. Vol. 583. P. 2663–2673.
 15. Calabrese M.F., Miranker A.D. Formation of a Stable Oligomer of β -2 Microglobulin Requires only Transient Encounter with Cu(II) // *J. Mol. Biol.* 2007. Vol. 367. P. 1–7.
 16. Carrell R.W., Lomas D.A. Conformational disease // *Lancet.* 1997. Vol. 350. P. 134–138.
 17. Drüecke T.B. β 2-Microglobulin and amyloidosis // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000. Vol. 15 (Suppl. 1). P. 17–24.
 18. Egorov V.V., Solovyov K.V., Grudinina N.A. et al. Atomic force study of peptides homologous to beta-domain of alpha-lactalbumin // *Protein and Peptide Letters.* 2007. Vol. 14. P. 471–474.
 19. Felding P., Fex G. Cellular origins of prealbumin in the rat // *Biochem. Biophys. Acta.* 1982. Vol. 716. P. 446–449.
 20. Gejyo F., Homma N., Suzuki Y. Serum levels of β 2-microglobulin as a new form of amyloid protein in patients undergoing long-term hemodialysis // *N. Engl. J. Med.* 1986. Vol. 31. P. 4585–4586.
 21. Gejyo F., Narita I. Current clinical and pathogenetic understanding of β 2-microglobulin amyloidosis in long-term haemodialysis patients // *Nephrology.* 2003. Vol. 8. P. S45–S49.
 22. Häggqvist B., Näslund J., Sletten K. et al. Medin: An integral fragment of aortic smooth muscle cell-produced lactadherin forms the most common human amyloid // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 96. P. 8669–8674.
 23. Hellman U., Alarcon F., Lundgren H.E. et al. Heterogeneity of penetrance in familial amyloid polyneuropathy, ATTR Val30Met, in the Swedish population // *Amyloid.* 2008. Vol. 15. № 3. P. 181–186.
 24. Huang X., Atwood C.S., Hartshorn M.A. et al. The Ab peptide of Alzheimer's disease directly produces hydrogen peroxide through metal ion reduction // *Biochemistry.* 1999. Vol. 38. P. 7609–7616.
 25. Huang X., Cuajungco M.P., Atwood C.S. et al. Cu(II) potentiation of Alzheimer Ab neurotoxicity // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P. 37111–37116.
 26. Ihse E., Ybo A., Suhr O. et al. Amyloid fibril composition is related to the phenotype of hereditary transthyretin V30M amyloidosis // *J. Pathol.* 2008. Vol. 216. № 2. P. 253–261.
 27. Jadoul M., Garbar C., Noël H. et al. Histological prevalence of beta 2-microglobulin amyloidosis in hemodialysis: a prospective post-mortem study // *Kidney Int.* 1997. Vol. 51. № 6. P. 1928–1932.
 28. Jahn T., Tennent G.A., Radford S.E. A common β -sheet architecture underlies in vitro and in vivo β 2-microglobulin amyloid fibrils // *J. Biol. Chem.* 2008. Vol. 283. № 25. P. 17279–17286.
 29. Krebs M.R.H., Bromley E.H.C., Rogers S.S. et al. The Mechanism of Amyloid Spherulite Formation by Bovine Insulin // *Biophys. J.* 2005. Vol. 88. P. 2013–2020.
 30. Lashuel H.A., Wurth C., Woo L., Kelly J.W. The most pathogenic transthyretin variant, L55P, forms amyloid fibrils under acidic conditions and protofilaments under physiological conditions // *Biochemistry.* 1999. Vol. 38. P. 13560–13573.
 31. Linke R.P., Hampl H., Lobeck H. et al. Lysine-specific cleavage of β 2-microglobulin in amyloid deposits associated with hemodialysis // *Kidney Int.* 1989. Vol. 36. P. 675–681.
 32. Mishra R., Sörgjerd K., Nyström S. et al. Lysozyme amyloidogenesis is accelerated by specific nicking and fragmentation but decelerated by intact protein binding and conversion // *J. Mol. Biol.* 2007. Vol. 366. P. 1029–1044.
 33. Ohashi K., Hara M., Kawai R. et al. Cervical discs are most susceptible to beta 2-microglobulin amyloid deposition in the vertebral column // *Kidney Int.* 1992. № 41. P. 1646–1652.
 34. Picken M.M. Amyloidosis – where are we now and where are we heading? // *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2010. Vol. 134. P. 545–551.
 35. Rokitsansky C. Die speckige Leber. In *Handbuch der speciellen pathologischen Anatomie* / Ed. C. Rokitsansky. Wien. Braumuller und Seidel. 1842. P. 311–312.
 36. Saito A., Gejyo F. Current Clinical Aspects of Dialysis-Related Amyloidosis in Chronic Dialysis Patients // *Therapeutic Apheresis and Dialysis.* 2006. Vol. 10. № 4. P. 316–320.
 37. Santos M., Clevers H., de Sousa M. et al. Adaptive response of iron absorption to anemia, increased erythropoiesis, iron deficiency, and iron loading in B2-microglobulin knockout mice // *Blood.* 1998. Vol. 91. P. 3059–3065.
 38. Saraiva M.J.M., Birken S., Costa P. et al. Family studies of the genetic abnormality in transthyretin (prealbumin) in Portuguese patients with familial amyloidotic polyneuropathy // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1984. Vol. 435. P. 86–100.
 39. Schwarzman A.L., Gregori L., Vitek M.P.S. et al. Transthyretin sequesters amyloid β protein and prevents amyloid formation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994. Vol. 91. P. 8368–8372.
 40. Schwarzman A.L., Tsiper M., Wente H. et al. Amyloidogenic and anti-amyloidogenic properties of re-

- combinant transthyretin variants // *Amyloid*. 2004. Vol. 11. P. 1–9.
41. Sideras K., Gertz M.A. Amyloidosis // *Adv. Clin. Chem.* 2009. Vol. 47. P. 1–44
42. Sunde M., Blake C.C.F. From the globular to the fibrous state: protein structure and structural conversion in amyloid formation // *Q. Rev. Biophys.* 1998. Vol. 31. P. 1–39.
43. Surguchev A., Surguchov A. Conformational diseases: Looking into the eyes // *Brain Res. Bull.* 2010. Vol. 81. P. 12–24.
44. Tillement J.-P., Lecanu L., Papadopoulos V. Amyloidosis and Neurodegenerative Diseases: Current Treatments and New Pharmacological Options // *Pharmacology*. 2010. Vol. 85. P. 1–17.
45. Ventura S., Villaverde A. Protein quality in bacterial inclusion bodies // *Trends Biotechnol.* 2006. Vol. 24. P. 179–185.
46. Virchow R. Über den Gang der amyloiden Degeneration // *Archiv. Path. Anat. Physiol. Klin. Med.* 1854. H. 8. P. 364–368.
47. Virchow R. Über eine im Gehirn und Rückenmark des Menschen aufgefundene Substanz mit der chemischen Reaction der Cellulose // *Archiv. Path. Anat. Physiol. Klin. Med.* 1854. H. 6. P. 135–138.
48. Wang L., Maji S.K., Sawaya M.R. et al. Bacterial inclusion bodies contain amyloid-like structure // *PLoS Biol.* 2008. Vol. 6. P. e195.
49. Westermark P., Benson M.D., Buxbaum J.N. et al. A primer of amyloid nomenclature // *Amyloid*. 2007. Vol. 14. № 3. P. 179–183.
50. Wyatt A., Yerbury J., Poon S. et al. The Chaperone Action of Clusterin and Its Putative Role in Quality Control of Extracellular Protein Folding // *Adv. in Canc. Res.* 2009. P. 89–114.