

А.А. Поваляева, Е.А. Пигарова, А.А. Романова,
Л.К. Дзеранова, А.Ю. Жуков, Л.Я. Рожинская



Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии,
Москва, Российская Федерация

Витамин D-связывающий белок как многофункциональный компонент сыворотки крови

Витамин D-связывающий белок (vitamin D-binding protein, DBP) был открыт более полвека назад в качестве полиморфного белка сыворотки крови. Поскольку в последующем было обнаружено, что сайты связывания стероидов заняты лишь у 1–2% от общего количества циркулирующего DBP, инициировано активное изучение других потенциальных биологических ролей этого белка. Данный обзор посвящен рассмотрению основных известных биологических функций DBP, а именно его основной функции (транспорт метаболитов витамина D) и ряда других важных свойств — участие в утилизации актина внутри сосудов, связывание жирных кислот, активация макрофагов, участие в хемотаксисе. Продемонстрированное многообразие функций DBP свидетельствует о том, что данная молекула может не только дать ценную информацию при оценке статуса витамина D, но и стать новым биохимическим маркером при различных патологических состояниях. Подробно обсуждаются особенности полиморфизмов DBP, обуславливающие структурную неоднородность его циркулирующих форм и формирование фактора активации макрофагов (DBP-MAF). Также освещаются информация о регуляции синтеза DBP и способах измерения его концентрации в сыворотке крови, основные результаты многообещающих исследований DBP-MAF в качестве терапевтического агента.

Ключевые слова: витамин D-связывающий белок, витамин D, транспортные белки, воспаление, хемотаксис

Для цитирования: Поваляева А.А., Пигарова Е.А., Романова А.А., Дзеранова Л.К., Жуков А.Ю., Рожинская Л.Я. Витамин D-связывающий белок как многофункциональный компонент сыворотки крови. *Вестник РАМН.* 2021;76(1):103–110. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1396>

103

Введение

Витамин D-связывающий белок был обнаружен в 1960-е гг. в качестве полиморфного белка сыворотки крови с генетически predeterminedными небольшими различиями в электрофоретической активности. Ему было дано название «группоспецифический компонент» (group-specific component, GC). Примерно в это же время был обнаружен транспортный белок метаболитов витамина D в сыворотке (vitamin D-binding protein, DBP). В середине 1970-х гг. несколькими лабораториями независимо было установлено, что GC и DBP — один и тот же белок [1–3].

DBP является слабогликозилированным (0,5–1%) α 2-глобулином с молекулярной массой 52–59 кДа. Ген, кодирующий DBP, относится к мультигенному кластеру, который также включает гены, кодирующие альбумин, α -фетопроtein и α -альбумин/афамин, и расположен на длинном плече хромосомы 4 в локусе 4q11–q13. Все четыре гена экспрессируются преимущественно в печени и имеют гомологичную трехдоменную структуру, предположительно возникшую в результате трипликации 192-аминокислотной последовательности в гене-предшественнике [4]. Для DBP характерно большое количество полиморфизмов, что подтверждается историей его

A.A. Povaliaeva, E.A. Pigarova, A.A. Romanova, L.K. Dzeranova, A.Yu. Zhukov, L.Ya. Rozhinskaya

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

Vitamin D-Binding Protein: Multifunctional Component of Blood Serum

Vitamin D-binding protein (DBP) was discovered more than half a century ago as a polymorphic serum protein. Since it was discovered that only 1–2% of the total circulating DBP have occupied steroid binding sites, a vigorous study of other potential biological roles of DBP was initiated. This review focuses on the main known biological functions of DBP, namely, its major function (transport of vitamin D metabolites) and a number of other important properties — involvement in the intravascular actin utilization, binding of fatty acids, activation of macrophages, participation in chemotaxis. The demonstrated variety of DBP functions indicates that this molecule can not only provide valuable information in assessing the vitamin D status, but also become a new biochemical marker in various pathological conditions. The features of DBP polymorphisms, which determine the structural heterogeneity of its circulating forms and the formation of the macrophage activating factor (DBP-MAF), are discussed in detail. We also highlight information on the regulation of DBP synthesis and methods for measuring its concentration in serum, as well as the main results of promising studies of DBP-MAF as a therapeutic agent.

Keywords: vitamin D-binding protein, vitamin D, carrier proteins, inflammation, chemotaxis

For citation: Povaliaeva AA, Pigarova EA, Romanova AA, Dzeranova LK, Zhukov AYu, Rozhinskaya LYa. Vitamin D-Binding Protein: Multifunctional Component of Blood Serum. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2021;76(1):103–110. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1396>

открытия и изучения. До признания роли этого белка в качестве переносчика метаболитов витамина D полиморфизмы DBP использовались популяционными генетиками для отслеживания различных популяций, при этом исследователи ссылались на белок под названием «Gc-глобулин». Более 120 вариантов описано на основе электрофоретических свойств, к настоящему моменту в базе данных NCBI числится уже более 1200 полиморфизмов. Из этих вариантов наиболее распространены DBP1F и DBP1S (локус rs7041) и DBP2 (локус rs4588). DBP1F и DBP1S включают два полиморфизма, один по аминокислоте 432 (416 в зрелом DBP) и один в положении 436 (420 в зрелом DBP). Аллель 1F кодирует последовательность между 432 и 436 как DATPT, аллель 1S — как EATPT (рис. 1). Это небольшое различие обуславливает разницу в заряде молекулы, в силу чего DBP1F движется быстрее, чем DBP1S, во время электрофореза. Аллель DBP2 кодирует последовательность как DATPK, который при электрофорезе движется еще медленнее. Дополнительное различие вариантов DBP1 и DBP2 связано с особенностями гликозилирования молекулы. Треонин (Т) в DBP1 связывает N-ацетилгалактозамин (GalNAc), с которым, в свою очередь, в тандеме связываются галактоза и сиаловая кислота. Лизин (К) в аналогичном положении в DBP2 не гликозилирован. Это влияет на преобразование DBP в фактор активации макрофагов (DBP-MAF), заключающееся в частичном дегликозилировании с удалением галактозы и сиаловой кислоты за счет последовательного действия сиалидазы и β-галактозидазы Т- и В-клеток [5]. Биологическое значение данной трансформации описано ниже. Таким образом, циркулирующий в кровотоке DBP является смесью немодифицированных и О-гликозилированных молекул: две из трех самых распространенных изоформ DBP (DBP1S и DBP1F) могут быть гликозилированы по треонину в 420-й позиции трисахаридом, состоящим из GalNAc с двумя разветвленными остатками сахаров галактозы и сиаловой кислоты.

Географические различия во встречаемости аллелей DBP ассоциированы с пигментацией кожи и воздействи-

ем солнечного излучения: в популяциях со светлой кожей относительно реже встречается аллель DBP1F и чаще (до 60%) — аллель DBP1S, в популяциях с африканским происхождением широко распространена аллель DBP1F, а среди лиц европеоидной расы — DBP2 [6].

Регуляция синтеза

Синтез DBP является эстроген-зависимым процессом и происходит в гепатоцитах. Максимальная концентрация DBP определяется в кровотоке, однако он может быть обнаружен и в других биологических жидкостях (моче, грудном молоке, асцитической, спинномозговой, семенной жидкостях, слюне) [7]. Как и в случае со многими вырабатываемыми печенью белками, транскрипция гена DBP регулируется ядерными факторами гепатоцитов (hepatic nuclear factors) HNF1α и 1β, однако, в отличие от альбумина, HNF1α повышает экспрессию гена DBP, а HNF1β снижает [8].

Эстрогены повышают экспрессию гена DBP, что отмечено при таких состояниях, как беременность и прием оральных контрацептивов, для которых характерно повышение уровня DBP [9, 10]. Сниженные концентрации DBP сыворотки крови выявлены у пациентов с циррозом печени, синдромом мальабсорбции, различными болезнями почек, при состояниях, приводящих к потере DBP с мочой, а также при генетической или приобретенной утрате мегалина или кубулина — белков, функционирующих как карго-рецепторы для реабсорбции белков после их фильтрации в клубочках нефронов [11].

Дексаметазон и некоторые интерлейкины (например, ИЛ-6) повышают продукцию DBP, что предположительно обуславливает наблюдаемое при травмах и нарушении функции печени повышение уровня DBP, тогда как фактор роста опухоли β (TGFβ) снижает его продукцию [12]. Первичный гиперпаратиреоз ассоциирован со сниженными уровнями DBP, что может обуславливать низкие уровни 25(OH)D у этих пациентов [13]; на основании отрицательной корреляции между уровнями паратгормо-

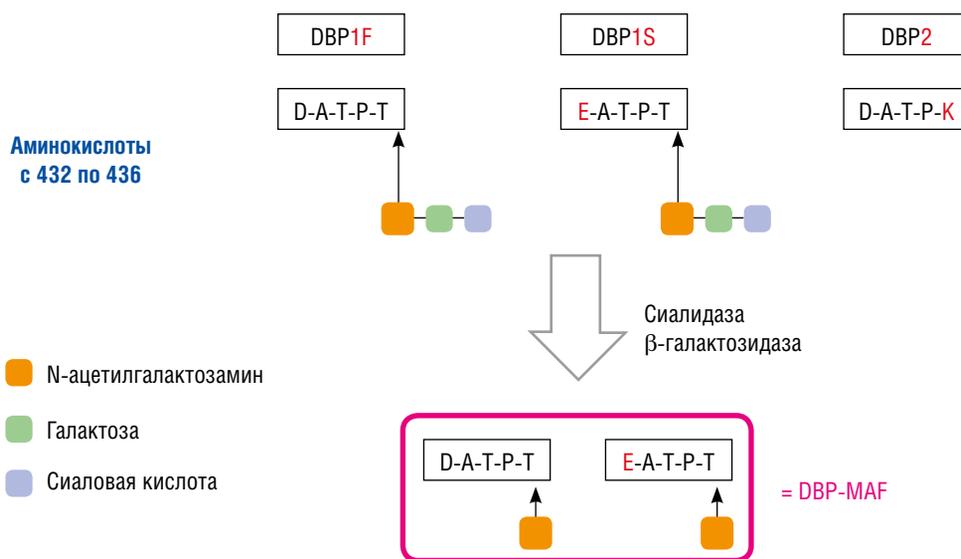


Рис. 1. Различия в структуре самых распространенных изоформ DBP и образование DBP-MAF. Аллель 1F кодирует последовательность между аминокислотами 432 и 436 как DATPT, аллель 1S — как EATPT, аллель 2 — как DATPK. Две из трех указанных изоформ (DBP1F и DBP1S) могут быть гликозилированы по треонину в 420-й позиции трисахаридом. Частичное дегликозилирование с удалением галактозы и сиаловой кислоты за счет последовательного действия сиалидазы и β-галактозидазы Т- и В-клеток приводит к образованию из DBP фактора активации макрофагов (DBP-MAF).

на и как DBP, так и альбумина сделано предположение, что высокий уровень интактного паратгормона может снижать синтез DBP. У пациентов с сахарным диабетом I типа наличие альбуминурии и потеря DBP с мочой могут приводить к снижению концентрации DBP сыворотки крови [14, 15], которое, в свою очередь, может оказывать прямое или не прямое влияние на аутоиммунную деструкцию β -клеток поджелудочной железы. Небольшое повышение DBP при акромегалии отмечено в одном исследовании [16]. Метаболиты витамина D не регулируют продукцию DBP самостоятельно [17].

DBP является острофазным белком сыворотки крови и повышается при инфекционных процессах или больших травмах. При значительной травме (например, переломе бедра) или тяжелом состоянии (например, у пациентов в реанимации) может наблюдаться снижение DBP более чем на 10%; точный патогенез этого явления не вполне ясен [18]. Небольшое влияние на концентрацию DBP в сыворотке крови оказывает генотип DBP: у гомозигот с генотипом DBP2 уровни DBP ниже примерно на 10% по сравнению с носителями DBP1 [19].

Измерение концентрации DBP

В норме концентрация DBP в сыворотке крови человека соответствует микромолярному диапазону. Указываемые лабораториями средние концентрации DBP находятся в диапазоне от 200 до 600 мг/л; эти различия по большей части обусловлены использованием различных методов определения DBP, а также отсутствием их стандартизации. Концентрации DBP достаточно высоки для применения иммунохимических методов. Более ранние используемые методы включают радиоиммунный анализ и однонаправленную простую электроиммунодиффузию. В последние годы применяются также турбидиметрия, нефелометрия, иммуноферментный анализ (ИФА) и высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) [20–23]. Преимуществом последней является возможность одномоментного определения различий в изоформах DBP.

Функции DBP

Транспорт метаболитов витамина D

DBP является основным транспортным белком для всех метаболитов витамина D: в норме около 85% циркулирующих в кровотоке метаболитов связаны с DBP, тогда как альбумин связывает практически 15% оставшихся метаболитов, и менее 1% метаболитов находится в кровотоке в несвязанном виде [6]. Нужно отметить, что для DBP характерен примерно в 300 раз меньший суточный объем продукции в сравнении с альбумином. Период полужизни DBP в сыворотке составляет около 1,7 сут, что значительно меньше периода полужизни 25(OH)D — основного циркулирующего метаболита витамина D; период полужизни альбумина в сыворотке сопоставим с периодом полужизни 25(OH)D. В отличие от альбумина, который имеет несколько низкоаффинных сайтов связывания, у DBP только один сайт связывания для всех метаболитов, расположенный в домене А.

Большинство исследований, посвященных изучению аффинности различных метаболитов витамина D к DBP, указывают на то, что для 25(OH)D-лактонов характер-

на самая высокая аффинность, также достаточно высокая — для 25(OH)D ($\sim 1,5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ при температуре 37 °C), 24R,25(OH)₂D и 25S,26(OH)₂D; аффинность DBP к 1,25(OH)₂D примерно в 10–100 раз меньше, чем к 25(OH)D; наконец, минимальная аффинность наблюдается к нативному витамину D. Между метаболитами D₃ и D₂ отмечены небольшие различия в аффинности — до 20% различий между 25(OH)D₃ и 25(OH)D₂. Имеющиеся на настоящий момент данные позволяют предположить, что генотип DBP не оказывает значимого влияния на аффинность к 25(OH)D [18].

Концентрация DBP в кровотоке в разы больше, чем сумма всех метаболитов витамина D: референсный диапазон DBP лежит в микромолярном интервале, тогда как концентрация основного метаболита витамина D (25(OH)D) в сыворотке крови, как правило, ниже 100 нмоль/л. В связи с этим лишь небольшая фракция DBP (менее 5%) представлена комплексом DBP и метаболита витамина D, и практически весь DBP циркулирует как апопротеин; эта ситуация отлична от большинства остальных транспортных белков лигандов ядерных рецепторов. Такой значительный молярный избыток DBP может иметь несколько биологических функций: защита от токсического действия избытка витамина D и резервуар для формы, являющейся «депо» витамина D, — 25(OH)D [24].

DBP необходим для утилизации витамина D, образующегося в коже в результате воздействия УФ-излучения. На животных моделях было показано, что в отсутствие DBP УФ-излучение не способно скорректировать низкие уровни витамина D, несмотря на нормальную продукцию витамина D в коже [25].

Свободные 25(OH)D и 1,25(OH)₂D могут быть рассчитаны на основании концентрации DBP и аффинности метаболитов к DBP; концентрация свободного 25(OH)D также может быть измерена напрямую, для чего первоначально использовался метод ультрафильтрации [26], однако на смену ему пришел более простой метод ИФА [27].

В силу ряда обстоятельств в настоящее время не вполне ясно, являются ли свободные 25(OH)D и 1,25(OH)₂D более точной характеристикой состояния здоровья в соответствии с гипотезой «свободного гормона», утверждающей, что связанные с белком гормоны биологически неактивны, тогда как биологические функции реализует свободная фракция. Вероятно, особое значение определение прямых метаболитов приобретает при состояниях, связанных с отклонениями от нормы концентрации DBP или его аффинности к лигандам. Прогностическая ценность расчетных значений свободных метаболитов витамина D неизвестна в силу отсутствия стандартизации определения концентрации DBP и точного значения константы аффинности к DBP при 37 °C. В норме отмечена сильная положительная корреляция между измеренным напрямую и расчетным свободным 25(OH)D, а также обеих величин с общим 25(OH)D [28, 29]. Кроме того, поскольку отсутствует корреляция между уровнем общего 25(OH)D и DBP [30], предполагается, что уровень свободного 25(OH)D не регулируется по принципу обратной связи.

В ряде исследований *in vitro* показано, что присутствие DBP снижает доступность и функцию метаболитов витамина D [31], что выступает в пользу применимости теории «свободного гормона» к витамину D. В отличие от 25(OH)D, уровень общего 1,25(OH)₂D положительно коррелирует с уровнем DBP [30, 32], что способствует поддержанию неизменной концентрации свободного ак-

тивного метаболита витамина D в сыворотке. Однако расчетная концентрация свободного $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ($\pm 10^{-13}$ M) на несколько порядков ниже, чем концентрация связанного с рецептором витамина D метаболита (константа диссоциации равна 10^{-10} M) [33], что также является аргументом при критике теории «свободного гормона».

Связывание с рецептором мегалина-кубулина

Поддержание стабильной концентрации $25(\text{OH})\text{D}$ в сыворотке крови и превращение $25(\text{OH})\text{D}$ в $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ регулируется мегалин-опосредованным эндоцитозом комплексов $25(\text{OH})\text{D}$ и DBP в клетках проксимальных почечных канальцев нефронов [11]. Мегалин является мембранным рецептором и экспрессируется преимущественно в клетках почечных канальцев, располагаясь на апикальной (просветной) мембране. Используя кубулин в качестве корецептора, он связывает большое количество низкомолекулярных белков в просвете почечного канальца, тем самым предотвращая потерю важных для организма веществ с мочой [34]. Поскольку CYP27B1 (фермент, превращающий $25(\text{OH})\text{D}$ в $1,25(\text{OH})_2\text{D}$) имеет доступ к $25(\text{OH})\text{D}$ не только с апикальной стороны клеток почечных канальцев, но и с базальной (где преимущественное значение играет свободный $25(\text{OH})\text{D}$), предполагается, что мегалин-опосредованный путь не является незаменимым для синтеза активной формы витамина D в почках. На мышинных моделях было показано, что при полном отсутствии как мегалина [35], так и DBP [36] не развивается рахит при условии полной компенсации пищевыми источниками потерь метаболитов витамина D с мочой. Интернализация DBP вне почек, вероятно, может происходить и мегалин-независимым путем, как показано в В- и Т-лимфоцитах [37]. В 2019 г. был описан первый случай истинного полного дефицита DBP у 58-летней канадской женщины с очень низкими сывороточными концентрациями $25(\text{OH})\text{D}$ и $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ и неопределяемым уровнем DBP (все измерения проводились методом ВЭЖХ-МС/МС) [38]. Несмотря на выявленные лабораторные отклонения, у пациентки не было рахита в анамнезе или признаков остеомаляции, сывороточные концентрации кальция и ПТГ были нормальными. При обследовании была обнаружена гомозиготная делеция всей области гена *GC* и части соседнего гена *NPFFR2*.

Связывание и утилизация внеклеточного актина

При обширном поражении тканей и клеточной гибели в кровотоке попадает значимое количество актина — высококонсервативного белка, в большом количестве представленного в клетках эукариотов. Полимеризованная форма актина (F-актин) в ассоциации с фактором коагуляции Va участвует в запуске синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), приводящего к полиорганной недостаточности. Система утилизации внутриклеточного актина, состоящая из гельзолина и DBP, противостоит указанным процессам коагуляции: гельзолин разрезает и деполимеризует филаменты актина, а DBP, обладая высокой аффинностью к глобулярному актину (G-актину), предотвращает его реполимеризацию. Комплексы G-актина и DBP быстро захватываются и утилизируются клетками печени, легких и селезенки [39]: период полувыведения связанного с актином DBP составляет около 30 мин, тогда как свободного DBP — 12–24 ч [40].

Важная роль системы утилизации актина продемонстрирована при тяжелом сепсисе [41], болезнях печени

[42], дыхательной недостаточности [43], преэклампсии [44, 45], обширных ожогах [46]. При острых состояниях отмечается падение концентрации DBP в сыворотке крови [47, 48] с повышением концентрации комплексов актина и DBP [49–51]. Способность к повышению уровня DBP в ответ на травму коррелирует с выживанием [52].

Связывание жирных кислот

DBP связывает жирные кислоты, при этом, в отличие от альбумина, имеет единственный сайт связывания и более низкую аффинность (константа аффинности равна 10^5 – 10^6 M⁻¹) [53]. Большинство связанных с DBP жирных кислот являются мононенасыщенными и лишь 5% — полиненасыщенными; при этом только полиненасыщенные жирные кислоты, такие как арахидоновая и линолевая, конкурируют с метаболитами витамина D за связывание с DBP [54, 55]. Этот факт позволяет предположить, что жирные кислоты не конкурируют напрямую с метаболитами витамина D за связывание с DBP, а способны различным образом изменять конфигурацию DBP, что, в свою очередь, оказывает влияние на его связывание с метаболитами витамина D. Роль DBP в транспорте жирных кислот представляется ограниченной.

DBP и фактор активации макрофагов

Еще одна важная функция DBP — способность активировать макрофаги, которую DBP приобретает в результате сайт-специфического селективного дегликозилирования ферментами β -галактозидазы и сиалидазы, локализованными на клеточных мембранах активированных В- и Т-лимфоцитов соответственно. В результате образуется активный белок DBP-MAF, содержащий остаточный сахар N-ацетилгалактозамин с освободившимися от галактозы и сиаловой кислоты сайтами связывания [56]. В одной из более поздних работ, однако, поставлена под сомнение способность β -галактозидазы дегликозировать DBP [57]. Как было сказано ранее, образование DBP-MAF возможно только из изоформ DBP1S и DBP1F, которые имеют гликозилированную фракцию. Полное дегликозилирование DBP под действием фермента N-ацетилгалактозаминидазы (нагалазы) приводит к разрыву связи N-ацетилгалактозамина с треонином, и таким образом нагалаза блокирует конверсию DBP в DBP-MAF [58].

DBP-MAF и его 14-аминокислотная синтетическая производная, содержащая сайт гликозилирования, обладают анаболическим эффектом в отношении костной ткани, что может быть использовано при лечении остеопороза и других костных болезней [59]. Также на животных моделях продемонстрирована способность DBP-MAF независимо от связывания $25(\text{OH})\text{D}$ активировать остеокласты, в результате чего терапия DBP-MAF может частично корректировать скелетные нарушения при остеопетрозе [53].

В ряде экспериментальных работ *in vitro* и *in vivo*, а также в клинических испытаниях показана неординарная эффективность DBP-MAF при лечении опухолевых заболеваний и ВИЧ-инфекции [60, 61]. Предполагается, что противоопухолевый эффект DBP-MAF обусловлен несколькими механизмами, такими как активация макрофагов, прямое ингибирование пролиферации, миграции и метастазирования опухолевых клеток, а также подавление неоангиогенеза в опухолевой ткани [62]. У пациентов с раком наблюдается повышенная про-

дукция нагалазы печени [63], а обратная корреляция между активностью нагалазы и концентрацией DBP позволяет предположить, что полное дегликозилирование DBP нагалазой и блокирование образования DBP-MAF являются значимыми механизмами иммуносупрессии у этих пациентов [63, 64].

Многие из указанных исследований выполнены в лаборатории Yamamoto, ряд статей которого был отозван после публикации с формулировкой «некорректно проведенные клинические испытания и некорректно оформленная документация, сопровождающая эти испытания». Несмотря на это, противоопухолевые свойства DBP-MAF продолжают активно изучаться во многих странах. В Японии DBP-MAF как лекарственная форма разрешен для практического применения: на базе клиники Saisei Mirai (Токио) пролечено более 3 тыс. больных различными формами рака с использованием интегративной иммунотерапии, одним из компонентов которой является DBP-MAF [62]. В Израиле завершена первая фаза клинических испытаний DBP-MAF [65].

Участие в хемотаксисе

Появляется все больше свидетельств того, что DBP играет важную роль в работе иммунной системы, участвуя в комплемент-опосредованном привлечении нейтрофилов при воспалении. Комплекс, состоящий из DBP, CD44 (гликопротеин, расположенный на клеточной мембране нейтрофилов и обладающий функцией мембранного рецептора) и аннексина A2, способен усиливать эффекты компонентов комплемента — хемоаттрактантов: C5a и его стабильной формы, не имеющей C-концевого аргинина (C5a дез-Arg) [66]. Еще один гликопротеин, происходящий из тромбоцитов, — тромбоспондин-1 способствует усилению DBP C5a-опосредованного хемотаксиса нейтрофилов, связываясь со своими рецепторами CD36 и CD47 [67]. Данная функция DBP в отношении лейкоцитов является специфической, так как он не способен усиливать другие C5a-опосредованные функции лейкоцитов, такие как образование активных форм кислорода и дегрануляцию [68]. При этом DBP может усиливать активность других хемоаттрактантов, например CXCL1 [69]. Метаболиты витамина D (по некоторым данным, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, но не $25(\text{OH})\text{D}$ [70]) конкурентно связываются с DBP и тем самым оказывают ингибирующее влияние на хемотаксис [71].

Заключение

Имеющиеся результаты исследований свидетельствуют о том, что помимо своей основной функции — транспорта метаболитов витамина D — DBP обладает рядом других важных свойств: способствует утилизации актина внутри сосудов, связывает жирные кислоты, активирует макрофаги, участвует в хемотаксисе. Измеренная концентрация DBP может не только дать ценную информацию при оценке статуса витамина D, но и стать новым биохимическим маркером при различных патологических состояниях, в связи с чем требуется стандартизация методов определения DBP. Вызывают интерес исследования, указывающие на связь между полиморфизмами гена DBP и подверженностью различным заболеваниям.

Способность организма реагировать на повреждение путем увеличения выработки DBP коррелирует с выживанием и заставляет задуматься об использовании DBP в терапевтических целях. Исследования DBP-MAF являются многообещающими, однако необходимо проведение рандомизированных контролируемых исследований, чтобы оценить перспективы данной молекулы в клинической практике.

Дополнительная информация

107

Источник финансирования. Поисково-аналитическая работа осуществлена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-15-00243).

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов. Романова А.А. — сбор и анализ источников литературы, формирование дизайна статьи, основных разделов публикации; А.А. Поваляева — написание статьи, визуализация, формулирование заключения, оформление текста в соответствии с требованиями журнала; А.Ю. Жуков — редакция текста в соответствии с нормами русского языка, орфографическая, синтаксическая и пунктуационная корректура; Е.А. Пигарова, Л.К. Дзеранова — проверка и редактирование текста, придание смыслового единства; Л.Я. Рожинская — стилистический контроль научной публикации. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили итоговую версию до публикации.

ЛИТЕРАТУРА

- Bouillon R, van Haelen V, Rombauts W, de Moor P. The purification and characterisation of the human-serum binding protein for the 25-hydroxycholecalciferol (transcalciferin) identity with group-specific component. *Eur J Biochem.* 1976;66(2):285–291. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1976.tb10518.x>
- Imawari M, Kida K, Goodman DS. The transport of vitamin D and its 25 hydroxy metabolite in human plasma. Isolation and partial characterization of vitamin D and 25 hydroxyvitamin D binding protein. *J Clin Invest.* 1976;58(2):514–523. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI108495>
- Haddad JG, Hillman L, Rojanasathit S. Human serum binding capacity and affinity for 25-hydroxyergocalciferol and 25-hydroxycholecalciferol. *J Clin Endocrinol Metab.* 1976;43(1):86–91. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem-43-1-86>
- Song YH, Naumova AK, Liebhaber SA, Cooke NE. Physical and meiotic mapping of the region of human chromosome 4q11-q13 encompassing the vitamin D binding protein DBP/Gc-globulin and albumin multigene cluster. *Genome Res.* 1999;9(6):581–587.
- Bikle DD, Schwartz J. Vitamin D binding protein, total and free vitamin D levels in different physiological and pathophysiological conditions. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:317. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00317>
- Speeckaert M, Huang G, Delanghe JR, Taes YEC. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clin Chim Acta.* 2006;372(1–2):33–42. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.03.011>
- Delanghe JR, Speeckaert R, Speeckaert MM. Behind the scenes of vitamin D binding protein: More than vitamin D binding. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2015;29(5):773–786. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.06.006>
- Song YH, Ray K, Liebhaber SA, Cooke NE. Vitamin D-binding protein gene transcription is regulated by the relative abundance of hepa-

- cyocyte nuclear factors 1 α and 1 β . *J Biol Chem*. 1998;273(43):28408–28418. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.273.43.28408>
9. Zhang JY, Lucey AJ, Horgan R, et al. Impact of pregnancy on vitamin D status: A longitudinal study. *Br J Nutr*. 2014;112(7):1081–1087. doi: <https://doi.org/10.1017/S0007114514001883>
 10. Møller UK, Streyrn S, Jensen LT, et al. Increased plasma concentrations of vitamin D metabolites and vitamin D binding protein in women using hormonal contraceptives: A cross-sectional study. *Nutrients*. 2013;5(9):3470–3480. doi: <https://doi.org/10.3390/nu5093470>
 11. Nykjaer A, Dragun D, Walther D, et al. An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D₃. *Cell*. 1999;96(4):507–515. doi: [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80655-8](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80655-8)
 12. Guha C, Osawa M, Werner PA, et al. Regulation of human Gc (vitamin D-binding) protein levels: Hormonal and cytokine control of gene expression *in vitro*. *Hepatology*. 1995;21(6):1675–1681.
 13. Wang X, Shapses SA, Al-Hraishawi H. Free and bioavailable 25-hydroxyvitamin D levels in patients with primary hyperparathyroidism. *Endocr Pract*. 2017;23(1):66–71. doi: <https://doi.org/10.4158/EP161434.OR>
 14. Thrailkill KM, Fowlkes JL. The role of vitamin D in the metabolic homeostasis of diabetic bone. *Clin Rev Bone Min Metab*. 2014;11(1):28–37. doi: <https://doi.org/10.1007/s12018-012-9127-9>
 15. Anderson RL, Ternes SB, Strand KA, Rowling MJ. Vitamin D homeostasis is compromised due to increased urinary excretion of the 25-hydroxycholecalciferol-vitamin D-binding protein complex in the Zucker diabetic fatty rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299(6):959–967. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00218.2010>
 16. Altinova AE, Ozkan C, Akturk M, et al. Vitamin D-binding protein and free vitamin D concentrations in acromegaly. *Endocrine*. 2016;52(2):374–379. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-015-0789-1>
 17. Björkhem-Bergman L, Torefall E, Ekström L, Bergman PL. Vitamin D binding protein is not affected by high-dose vitamin D supplementation: A post hoc analysis of a randomised, placebo-controlled study. *BMC Res Notes*. 2018;11(1):619. doi: <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3725-7>
 18. Bouillon R, Schuit F, Antonio L, Rastinejad F. Vitamin D binding protein: a historic overview. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;10:910. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00910>
 19. Bouillon R. Genetic and racial differences in the vitamin D Endocrine System. *Endocrinol. Metab Clin North Am*. 2017;46(4):1119–1135. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2017.07.014>
 20. Houghton MA, Mason RS. Immunonephelometric assay of vitamin D-binding protein. *Clin Chem*. 1992;38(9):1796–1801.
 21. Jørgensen CS, Christiansen M, Nørgaard-Pedersen E, et al. Gc globulin (vitamin D-binding protein) levels: An inhibition ELISA assay for determination of the total concentration of Gc globulin in plasma and serum. *Scand J Clin Lab Invest*. 2004;64(2):157–166. doi: <https://doi.org/10.1080/00365510410001149>
 22. Henderson CM, Lutsey PL, Misialek JR, et al. Measurement by a novel LC-MS/MS methodology reveals similar serum concentrations of vitamin D binding protein in blacks and whites. *Clin Chem*. 2017;62(1):179–187. doi: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2015.244541>
 23. Kilpatrick LE, Phinney K.W. Quantification of total vitamin-D-binding protein and the glycosylated isoforms by liquid chromatography – isotope dilution mass spectrometry. *J Proteome Res*. 2017;16(11):4185–4195. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00560>
 24. Cooke NE, Haddad JG. Vitamin D binding protein (GC-globulin). *Endocr. Rev*. 1989;10(3):294–307. doi: <https://doi.org/10.1210/edrv-10-3-294>
 25. Duchow EG, Cooke NE, Seeman J, et al. Vitamin D binding protein is required to utilize skin-generated vitamin D. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2019;116(49):24527–24532. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1915442116>
 26. Bikle DD, Gee E, Halloran B, et al. Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin. *J Clin Endocrinol Metab*. 1986;63(4):954–959. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem-63-4-954>
 27. Heureux N, Lindhout E, Swinkels L. A direct assay for measuring free 25-hydroxyvitamin D. *JAOAC Int*. 2017;100(5):1318–1322. doi: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0084>
 28. Nielson CM, Jones KS, Chun RF, et al. Free 25-hydroxyvitamin D: impact of vitamin D binding protein assays on racial-genotypic associations. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(5):2226–2234. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2016-1104>
 29. Nielson CM, Jones KS, Bouillon R, et al. Role of assay type in determining free 25-hydroxyvitamin D levels in diverse populations. *N Engl J Med*. 2016;374(17):1695–1696. doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMc1513502>
 30. Bouillon R, van Assche FA, van Baelen H, et al. Influence of the vitamin D-binding protein on the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. Significance of the free 1,25-dihydroxyvitamin D₃ concentration. *J Clin Invest*. 1981;67(3):589–596. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI110072>
 31. Chun RF, Lauridzen AL, Suon L, et al. Vitamin D-binding protein directs monocyte responses to 25-hydroxy- and 1,25-dihydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(7):3368–3376. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2010-0195>
 32. Zella LA, Shevde NK, Hollis BW, et al. Vitamin D-binding protein influences total circulating levels of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ but does not directly modulate the bioactive levels of the hormone *in vivo*. *Endocrinology*. 2008;149(7):3656–3667. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2008-0042>
 33. Chun RF, Peercy BE, Orwol ES, et al. Vitamin D and DBP: The free hormone hypothesis revisited. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014;144 (Pt A):132–137. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.09.012>
 34. Nykjaer A, Fyfe JC, Kozyraki R, et al. Cubilin dysfunction causes abnormal metabolism of the steroid hormone 25(OH) vitamin D₃. *Proc. Natl. Acad Sci U S A*. 2001;98(24):13895–13900. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.241516998>
 35. Leheste JR, Melsen F, Wellner M, et al. Hypocalcemia and osteopathy in mice with kidney-specific megalin gene defect. *FASEB J*. 2003;17(2):247–249. doi: <https://doi.org/10.1096/fj.02-0578fje>
 36. Safadi FF, Thornton P, Magiera H, et al. Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *J Clin Invest*. 1999;103(2):239–251. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI5244>
 37. Kongsbak M, Von Essen MR, Levring TB, et al. Vitamin D-binding protein controls T cell responses to vitamin D. *BMC Immunol*. 2014;15:35. doi: <https://doi.org/10.1186/s12865-014-0035-2>
 38. Henderson CM, Fink SL, Bassyouni H, et al. Vitamin D-binding protein deficiency and homozygous deletion of the GC gene. *N Engl J Med*. 2019;380(12):1150–1157. doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1807841>
 39. Dueland S, Nenseter MS, Drevon C. Uptake and degradation of filamentous actin and vitamin D-binding protein in the rat. *Biochem J*. 1991;274(1):237–241. doi: <https://doi.org/10.1042/bj2740237>
 40. Dahl B, Schiødt FV, Gehrchen PM, et al. Gc-globulin is an acute phase reactant and an indicator of muscle injury after spinal surgery. *Inflamm Res*. 2001;50(1):39–43.
 41. Horváth-szalai Z, Kustán P, Szirmay B, et al. Predictive value of serum gelsolin and Gc globulin in sepsis — a pilot study. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(8):1373–1382. doi: <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0782>
 42. Gressner OA, Gao C, Siluscsek M, et al. Inverse association between serum concentrations of actin-free vitamin D-binding protein and the histopathological extent of fibrogenic liver disease or hepatocel-

- lular carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009;21(9):990–995. doi: <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e3283293769>
43. Lind SE, Smith DB, Janmey PA, Stossel TP. Depression of gelsolin levels and detection of gelsolin-actin complexes in plasma of patients with acute lung injury. *Am Rev Respir Dis*. 1988;138(2):429–434. doi: <https://doi.org/10.1164/ajrccm/138.2.429>
 44. Tannetta DS, Redman CW, Sargent IL. Investigation of the actin scavenging system in pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014;172(100):32–35. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2013.10.022>
 45. Behrouz GF, Farzaneh GS, Leila J, et al. Presence of auto-antibody against two placental proteins, annexin A1 and vitamin D binding protein, in sera of women with pre-eclampsia. *J Reprod Immunol*. 2013;99(1–2):10–16. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2013.04.007>
 46. Dinsdale RJ, Hazeldine J, Al Tarrah K, et al. Dysregulation of the actin scavenging system and inhibition of DNase activity following severe thermal injury. *Br J Surg*. 2020;107(4):391–401. doi: <https://doi.org/10.1002/bjs.11310>
 47. Madden K, Feldman HA, Chun RF, et al. Critically ill children have low vitamin D binding protein, influencing bioavailability of vitamin D. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12(11):1654–1661. doi: <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201503-160OC>
 48. Waldron JL, Ashby HL, Cornes MP, et al. Vitamin D: A negative acute phase reactant. *J Clin Pathol*. 2013;66(7):620–622. doi: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2012-201301>
 49. Wang HH, Cheng BL, Chen QX, et al. Time course of plasma gelsolin concentrations during severe sepsis in critically ill surgical patients. *Crit Care*. 2008;12(4):R106. doi: <https://doi.org/10.1186/cc6988>
 50. Dahl B, Schiødt FV, Rudolph S, et al. Trauma stimulates the synthesis of Gc-globulin. *Intensive Care Med*. 2001;27(2):394–399. doi: <https://doi.org/10.1007/s001340000837>
 51. Schiødt FV, Ott P, Bondesen S, Tygstrup N. Reduced serum Gc-globulin concentrations in patients with fulminant hepatic failure: association with multiple organ failure. *Crit Care Med*. 1997Aug;25(8):1366–1370. doi: <https://doi.org/10.1097/00003246-199708000-00025>
 52. Leaf DE, Waikar SS, Wolf M, et al. Dysregulated mineral metabolism in patients with acute kidney injury and risk of adverse outcomes. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013;79(4):491–498. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.12172>
 53. Swamy N, Ray R. Fatty acid-binding site environments of serum vitamin D-binding protein and albumin are different. *Bioorg Chem*. 2008;36(3):165–168. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2008.02.002>
 54. Ena JM, Esteban C, Perez MD, et al. Fatty acids bound to vitamin D-binding protein (DBP) from human and bovine sera. *Biochem Int*. 1989;19(1):1–7.
 55. Bouillon R, Xiang DZ, Convents R, van Baelen H. Polyunsaturated fatty acids decrease the apparent affinity of vitamin D metabolites for human vitamin D-binding protein. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1992;42(8):855–861. doi: [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(92\)90094-y](https://doi.org/10.1016/0960-0760(92)90094-y)
 56. Ravensborg T, Olsen DT, Thysen AH, et al. The glycosylation and characterization of the candidate Gc macrophage activating factor. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1804(4):909–917. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.12.022>
 57. Borges CR, Rehder DS. Glycan structure of Gc protein-derived macrophage activating factor as revealed by mass spectrometry. *Arch Biochem Biophys*. 2016;606:167–179. doi: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.08.006>
 58. Mohamad SB, Nagasawa H, Uto Y, Hori H. Tumor cell alpha-N-acetylgalactosaminidase activity and its involvement in GcMAF-related macrophage activation. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2002;132(1):1–8. doi: [https://doi.org/10.1016/s1095-6433\(01\)00522-0](https://doi.org/10.1016/s1095-6433(01)00522-0)
 59. Schneider GB, Grecco KJ, Safadi FF, Popoff SN. The anabolic effects of vitamin D-binding protein-macrophage activating factor (DBP-MAF) and a novel small peptide on bone. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2003;13(2–4):277–284. doi: <https://doi.org/10.1615/critrevukaryotgeneexpr.v13.i24.190>
 60. Saburi E, Saburi A, Ghanei M. Promising role for GcMAF in cancer immunotherapy: From bench to bedside. *Casp J Intern Med*. 2017;8(4):228–238. doi: <https://doi.org/10.22088/cjim.8.4.228>
 61. Yamamoto N, Ushijima N, Koga Y. Immunotherapy of HIV-Infected patients with gc protein-derived macrophage activating factor (GcMAF). *J Med Virol*. 2009;81(1):16–26. doi: <https://doi.org/10.1002/jmv.21376>
 62. Останин А.А., Кирикович С.С., Долгова Е.В., и др. Тернистый путь макрофаг-активирующего фактора (GcMAF): от открытия к клинической практике // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. — 2019. — Т. 23. — № 5. — С. 624–631. [Ostanin AA, Kirikovich SS, Dolgova EV, et al. A thorny pathway of macrophage activating factor (GcMAF): from bench to bedside. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii*. 2019;23(5):624–631. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.18699/VJ19.535>
 63. Yamamoto N, Naraparaju VR, Urade M. Prognostic utility of serum alpha-N-acetylgalactosaminidase and immunosuppression resulted from deglycosylation of serum Gc protein in oral cancer patients. *Cancer Res*. 1997;57(2):295–299.
 64. Yamamoto N, Naraparaju VR. Vitamin D3-binding protein as a precursor for macrophage activating factor in the inflammation-primed macrophage activation cascade in rats. *Cell Immunol*. 1996;170(2):161–167. doi: <https://doi.org/10.1006/cimm.1996.0148>
 65. Safety Study of EF-022 (Modified vitamin D binding protein macrophage activator) in subjects with advanced solid tumors [Internet]. ClinicalTrials.gov: National Library of Medicine (US) [updated 2017 Jun 20; cited 2020 Jul 11]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02052492?term=NCT02052492&draw=2&rank=1>
 66. McVoy LA, Kew RR. CD44 and annexin A2 mediate the C5a chemotactic cofactor function of the vitamin D binding protein. *J Immunol*. 2005;175(7):4754–4760. doi: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.7.4754>
 67. Trujillo G, Zhang J, Habel DM, et al. Cofactor regulation of C5a chemotactic activity in physiological fluids. Requirement for the vitamin D binding protein, thrombospondin-1 and its receptors. *Mol Immunol*. 2011;49(3):495–503. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2011.09.024>
 68. Binder R, Kress A, Kan G, et al. Neutrophil priming by cytokines and vitamin D binding protein (Gc-globulin): Impact on C5a-mediated chemotaxis, degranulation and respiratory burst. *Mol Immunol*. 1999;36(13–14):885–892. doi: [https://doi.org/10.1016/s0161-5890\(99\)00110-8](https://doi.org/10.1016/s0161-5890(99)00110-8)
 69. Trujillo G, Habel DM, Ge L, et al. Neutrophil recruitment to the lung in both C5a- and CXCL1-induced alveolitis is impaired in vitamin D-binding protein deficient-mice. *J Immunol*. 2013;191(2):848–856. doi: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202941>
 70. Shah AB, DiMartino SJ, Trujillo G, Kew RR. Selective inhibition of the C5a chemotactic cofactor function of the vitamin D binding protein by 1,25(OH)2 Vitamin D3. *Mol Immunol*. 2006;43(8):1109–1115. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2005.07.023>
 71. Raymond MA, Désormeaux A, Labelle A, et al. Endothelial stress induces the release of vitamin D-binding protein, a novel growth factor. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;338(3):1374–1382. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.10.105>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Поваляева Александра Александровна [*Alexandra A. Povaliaeva*, MD]; адрес: 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova str., 117036, Moscow, Russia]; e-mail: a.petrushkina@yandex.ru, SPIN-код: 1970-2811, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-5457>

Пигарова Екатерина Александровна, д.м.н. [*Ekaterina A. Pigarova*, MD, PhD]; e-mail: kpigarova@gmail.com, SPIN-код: 6912-6331, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6539-466X>

Романова Анастасия Александровна [*Anastasia A. Romanova*, MD]; e-mail: svetassetikova1535@gmail.com, SPIN-код: 3959-5866, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7112-5896>

Дзеранова Лариса Константиновна, д.м.н. [*Larisa K. Dzeranova*, MD, PhD]; e-mail: dzeranovalk@yandex.ru, SPIN-код: 2958-5555, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0327-4619>

Жуков Артем Юрьевич [*Artem Yu. Zhukov*, MD]; e-mail: zhukovartem@yahoo.com, SPIN-код: 8513-7785, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2729-9386>

Рожинская Людмила Яковлевна, д.м.н., профессор [*Liudmila Ya. Rozhinskaya*, MD, PhD, Professor]; e-mail: lrozhinskaya@gmail.com, SPIN-код: 5691-7775, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7041-0732>