



УДК 577.112.824:615.917

О ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ АЛЬБУМИНА

© 2015 г. Н. В. Гончаров*, **, #, Д. А. Белинская*, А. В. Разыграев***, А. И. Уколов**

*ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН
194223 Россия, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44

**ФГУП “НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека” ФМБА России, Санкт-Петербург

***ФГБУ “Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта”
Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук

Поступила в редакцию 04.06.2014 г. Принята к печати 13.08.2014 г.

Молекула альбумина, в отличие от молекул многих других плазменных белков, не покрыта углеводной оболочкой и играет важнейшую роль в поддержании коллоидно-осмотического давления крови, может связывать и транспортировать различные молекулы эндогенного и экзогенного происхождения. В обзоре представлены примеры ферментативной активности альбумина, существование которой большинством исследователей пока еще воспринимается скептически; рассматривается история вопроса, при этом особое внимание уделено эстеразной активности альбумина. Приведены кинетические и термодинамические характеристики взаимодействия альбумина с некоторыми субстратами, рассмотрена возможность отнесения альбумина к определенным классам и номенклатуре ферментов.

Ключевые слова: ферменты, альбумин, эстеразы, тиолпероксидазы, фосфорорганические соединения, докинг.

DOI: 10.7868/S0132342315020049

ВВЕДЕНИЕ

Об альбумине, казалось бы, известно все. Уже хотя бы потому, что это главный белок крови млекопитающих, где его концентрация составляет 500–700 мкМ. Первые публикации, посвященные исследованию сывороточного альбумина, датируются концом XIX века [1, 2]. К середине XX века ежегодно публиковали десятки работ, в 1960-х – сотни, а в 1970-х их счет перевалил за тысячу. Удивительно при этом, что трехмерная структура альбумина сыворотки крови человека была исследована с высоким разрешением довольно поздно, лишь в 1990-х [3, 4]. И если со структурой этого общеизвестного белка оказалось не все так просто и быстро, стоит ли удивляться проблемам, связанным с его функциональной активностью, которые являются предметом нашего исследования и обсуждаются в

Для начала общие сведения. Альбумин синтезируется в печени со скоростью примерно 0.7 мг в час (т.е. 10–15 мг в день), период полураспада сывороточного альбумина человека (HSA) составляет 19–20 сут [5]. Молекула альбумина образована одной полипептидной цепью, состоящей из 585 а. о., имеет 17 дисульфидных связей и один остаток цистеина со свободной SH-группой (Cys34). Три гомологичных домена (I, II, III), каждый состоящий из двух субдоменов (A, B), образуют трехмерную структуру альбумина, которая достаточно лабильна, так что при взаимодействии молекулы альбумина с разными веществами имеют место такие эффекты, как кооперативность и аллостерическая модуляция, обычно присущие мультимерным белкам [6, 7]. Молекула альбумина не покрыта углеводной оболочкой и может связывать самые разные молекулы и атомы: воду и катионы металлов (Ca^{2+} , Na^+ , K^+), свободные жирные кислоты и жирорастворимые гормоны, неконъюгированный билирубин, соли желчных кислот, трансферрин, окись азота, аспирин, варфарин, фенилбутазон, клофибрат, фенитоин и т.д. [8]. Связывая лекарства и токсические

Сокращения: АХЭ – ацетилхолинэстераза, БХЭ – бутирилхолинэстераза, КЭ – карбоксилэстераза, ФОВ – фосфорорганические отравляющие вещества, ФОС – фосфорорганические соединения, ДТТ – дитиотреитол, HSA – сывороточный альбумин человека, NPA – *n*-нитрофенилацетат.

Автор для связи (тел. 8 (921) 905-89-10; эл. почта: ngoncharov@gmail.com).

вещества, альбумин в значительной степени определяет их фармако- и токсикокинетику, транспортируя к тканям-мишеням или местам их биотрансформации. Связывание происходит по двум первичным сайтам и нескольким вторичным, количество которых зависит от физико-химических свойств веществ и состояния молекулы альбумина. Так, для жирных кислот – основного лиганда альбумина – имеется 7 сайтов связывания, причем связавшиеся жирные кислоты изменяют полярность и объем сайтов связывания лекарственных препаратов [9].

Однако альбумин является не только пассивным, но и активным участником фармако- или токсикокинетических процессов. В первую очередь нас интересует взаимодействие альбумина с эфирами. В многочисленных экспериментах была показана эстеразная или псевдоэстеразная активность альбумина по отношению к α -нафтил-ацетату и *n*-нитрофенилацетату (NPA) [10–12], эфирам жирных кислот [13], аспирину [14], глюкурониду кетопрофена [15], циклофосфамиду [16], эфирам никотиновой кислоты [17], октаноилгредлину [18], нитроацетанилиду [19], нитротрифторацетанилиду [20], фосфорорганическим пестицидам [21].

Ацетилирование – характерный пример псевдоэстеразной активности альбумина (реакция псевдопервого порядка), когда убыль эфирного субстрата обусловлена не его гидролизом, а образованием им ковалентных связей по многим аминокислотным остаткам (сайтам) молекулы альбумина. Установлено, что ацетилирование альбумина NPA может идти по 82 а.о. (сайтам), из них 59 а.о. лизина, 10 – серина, 8 – треонина, 4 – тирозина и 1 – аспартата [22]. NPA проявляет наибольшее сродство к Tug411, однако аддукты, ацетилированные по остаткам лизина, более стабильны.

Необходимо отметить, что в токсикологии наибольший интерес представляет проблема (псевдо)эстеразной активности альбумина по отношению к фосфорорганическим соединениям (ФОС) – эфирам фосфорной кислоты, и особенно по отношению к высокотоксичным фосфорорганическим отравляющим веществам (ФОВ) – эфирам фосфоновой кислоты, к которым относятся зарин, зоман, V-газы. В последние годы удалось установить два сайта образования ковалентных аддуктов ФОВ с альбумином – Tug411 и Tug150 [23, 24].

Помимо (псевдо)эстеразной активности, альбумин проявляет пероксидазную активность по отношению к гидроперекисям липидов [25–27] и

ряд других активностей, о которых пойдет речь во второй части данной статьи. Несмотря на очевидные успехи современных аналитических методов и стремление некоторых ученых доказать с помощью этих методов отсутствие у альбумина истинно эстеразной и других типов ферментативной активности, полученные результаты не позволяют однозначно решить проблему. До сих пор механизмы взаимодействия различных эфиров и других соединений с альбумином остаются нераскрытыми.

Целью настоящей работы является анализ данных, полученных на протяжении многих десятилетий, которые, наряду с результатами собственных исследований авторов, позволяют нам обосновать гипотезу о существовании у альбумина не только “псевдо”, но также истинной ферментативной активности. Собраны сведения не только об эстеразной, но и других активностях альбумина, на основании чего предлагается рассмотреть его возможное место в номенклатуре ферментов.

1. ЭСТЕРАЗНАЯ И ПСЕВДОЭСТЕРАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ АЛЬБУМИНА

Ферменты снижают энергию активации субстрата, как известно, двумя способами [28]: 1) снижая свободную энергию переходного состояния субстрата в результате его четкой пространственной фиксации, 2) изменяя путь реакции от субстрата к продукту, например, делая его многоступенчатым, с образованием ряда промежуточных продуктов. Мы исходим из того (и одновременно обосновываем это), что альбумину присущи оба способа снижения энергии активации реакции с субстратом. Но даже если бы альбумин осуществлял гидролиз эфиров исключительно вторым способом (изменение пути реакции), имеются все основания считать его ферментом. Механизм трехстадийной ферментативной реакции с образованием ковалентного аддукта в качестве промежуточного продукта реакции описан настолько давно, что уже прочно вошел в классические учебники по энзимологии (см., напр., [29]). Константа k_2 становится константой образования ковалентного аддукта (напр., ацилфермента), вводится дополнительная кинетическая константа k_3 (она же k_{cat}), которая, как правило, характеризует лимитирующую стадию ферментативной реакции, а в случае ацилирования описывает скорость собственно гидролиза, т.е. перехода ацильной группы с молекулы белка на молекулу воды (схемы 1–5) [23, 30–33].

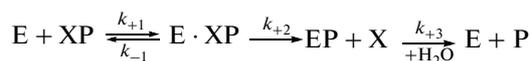


Схема 1. Взаимодействие между эстеразой (E) и фосфоэфиром XP [30].

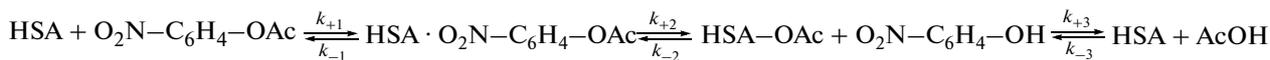


Схема 2. Взаимодействие между альбумином (HSA) и NPA [31].



Схема 3. Спонтанный и катализируемый альбумином гидролиз *n*-нитрофениловых эфиров на примере фенолацетата [32]. Здесь: k_0 – константа спонтанного гидролиза, K_s – субстратная константа (константа диссоциации фермент-субстратного комплекса), k_{cat} – каталитическая константа, k – константа деацилирования (константа диссоциации комплекса ацил-альбумин).

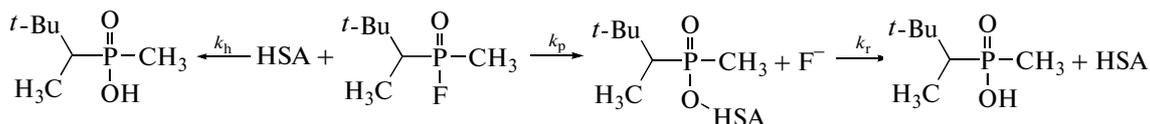


Схема 4. Спонтанный и катализируемый альбумином гидролиз зомана (3,3-диметил бутан-2-ил метилфосфонофторид, $C_7H_{16}FO_2P$) [23]. Здесь: k_h – константа спонтанного гидролиза, k_p – константа фосфонирования зомана, k_r – константа реактивирования альбумина.

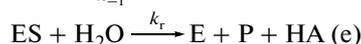
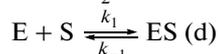
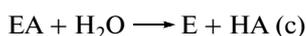


Схема 5. Схемы взаимодействия между ацетилхолинэстеразой (E) и ацетилхолином (S), с указанием всех основных этапов (а–с) и упрощенная (d–e) [33], где E – фермент (эстераза). Здесь: k_r – константа реактивирования альбумина.

Вид схемы и обозначения кинетических констант могут отличаться (схемы 3, 4), но суть от этого не меняется. Скорости ацилирования и деацилирования для разных субстратов варьируют в очень широких пределах, и было немало разговоров о той границе, начиная с которой можно говорить об “истинном” катализе (эстеразная активность), в отличие от псевдокатализа (псевдоэстеразная активность). Граница так и не была установлена, как не был наведен порядок в номенклатуре гидролаз, да и других групп ферментов. Помимо скорости, более важным фактором для отнесения ферментов к той или иной группе (класс, подкласс, подподкласс) является их субстратная специфичность, и проблемы часто возникают при наличии двух и более центров связывания/активности с разными термодинамическими и кинетическими характеристиками.

О том, что гидролиз альбумином эфиров, в частности NPA, практически ничем не отличается от “классического” гидролиза, впервые заявили Касида и Августинссон еще в 1959 г. [10]. Исследуя кинетику гидролиза NPA, они установили, что оба продукта реакции – ацетат и *n*-нитрофе-

нол – высвобождаются в соотношении, близком к эквимолярному, а после полного гидролиза одной порции NPA ферментативная активность альбумина не только не исчезает, но даже не уменьшается при добавлении следующей порции субстрата. Они также указали на то, что кинетика реакции гидролиза эфиров альбумином соответствует кинетике Михаэлиса-Ментен с образованием промежуточного комплекса [34]. Кроме того, они установили, что кажущаяся константа диссоциации комплекса альбумина с одним из исследованных эфирных субстратов, *n*-нитрофенил-*N*-метилкарбаматом, равна 1.4×10^{-4} М, подчеркивая, что эта величина соответствует величине K_s многих других эстераз [10].

Однако первая публикация, в которой было обосновано существование в молекуле альбумина по меньшей мере двух разных центров (сайтов), отвечающих за два вида активности, – “истинно” эстеразную и псевдоэстеразную, – появилась в 1972 г. [11]. Поскольку в названии статьи [11] фигурирует меркаптальбумин (белок двойного молекулярного веса, получаемый в присутствии

ртутных солей), стоит сразу отметить, что доля димера (собственно меркаптальбумина) в экспериментах составила менее 1%, и что данные, полученные с таким “меркаптальбумином”, полностью совпали с данными, полученными авторами ранее с альбумином человека (об этом говорится в разделе EXPERIMENTAL PROCEDURE [11]). Далее в работе [11] отмечается, что взаимодействие альбумина с NPA имеет двухфазный характер: в течение первых минут наблюдается “всплеск” (burst) активности, т.е. происходит быстрое образование продукта (главным образом нитрофенола), после чего система переходит в стационарный режим, но не выходит на плато. Первую фазу обеспечивают два процесса в двух разных сайтах: моноацетилирование альбумина в результате псевдоэстеразной активности одного сайта и катализируемый альбумином “истинный” гидролиз NPA во втором сайте. Вторая фаза обусловлена активностью только второго сайта. Эти две фазы легко воспроизводятся, ингибиторный анализ первой фазы с применением NPA в качестве субстрата (и, кстати, не с меркаптальбумином, а с “нормальным” альбумином сыворотки человека в качестве фермента) был недавно использован в работе Заиди с соавт. в 2013 г. [35]. В работе [11] также было установлено, что при гидролизе NPA происходит ацетилирование неких двух остатков тирозина (в то время установить номера тирозинов было технически невозможно), однако ацетилирование второго остатка не мешает каталитической активности альбумина. Авторы исследования предложили рабочую модель, согласно которой ацетилирование второго остатка тирозина происходит рядом с сайтом, ответственным за катализ, и, после того как второй остаток становится ацетилированным, ацетатная группа переходит с него сразу на молекулу воды.

Проблемы идентификации и классификации эстераз неоднократно обсуждались биохимиками, особенно в 1970–80х годах [30, 36]. Пожалуй, эстеразы имеют, как никакая другая группа ферментов, широкую субстратную специфичность. С другой стороны, одну и ту же эстеразную реакцию могут катализировать различные ферменты, порой относящиеся к другим классам, либо не относящиеся вообще ни к какому классу (тот же альбумин, хотя имеются все основания для его отнесения к эстеразам, но об этом позже). При обсуждении специфичности эстераз возникает, в частности, вопрос: какова должна быть гидролитическая активность фермента, для того чтобы его можно было причислить к “истинным” эстеразам? Например, α -химотрипсин и альдегиддегидрогеназа могут гидролизовать NPA со скоростью (число оборотов k_{cat}) 0.9 и 54 с^{-1} соответственно, однако это безусловно очень мало по сравнению с карбоксилэстеразой печени, гидролизующей NPA со скоростью $41\,000 \text{ с}^{-1}$ [30]; к тому

же у них есть специфические субстраты, с которыми они работают намного эффективнее. Было предложено считать истинной эстеразой фермент, каталитическая активность которого составляет “тысячи оборотов”, но определенная величина так и не была принята в качестве критерия [36].

Не стоит, однако, забывать о том, что классическая кинетика Михаэлиса–Ментен и Бриггса–Холдейна [34, 37] предполагает: 1) избыток свободного субстрата, 2) стационарность ($d[ES]/dt = 0$), и 3) быстрое установление равновесия между ферментом и субстратом, что возможно при $k_{cat} \ll \ll k_{-1}$ и/или $k_{cat} \leq k_{+1}$, т.е. когда значения K_m и K_s практически совпадают. Ситуация, когда $k_{cat} \gg k_{-1}$ и/или k_{+1} , или когда мы *a priori* не знаем, сколько свободного субстрата имеется в стационарном состоянии (что сплошь и рядом наблюдается при работе с “настоящими” ферментами с большим числом оборотов), означает серьезное отклонение от классической кинетики и требует применения других моделей, например, модели ван Слайка–Каллена или Моррисона [38–40].

Много ли мы знаем примеров применения альтернативных моделей? Вопрос риторический, но нам важно отметить, что кинетика взаимодействия альбумина с некоторыми субстратами в определенном диапазоне концентраций вполне соответствует классической ферментативной кинетике, может быть даже в большей степени, чем кинетика самых что ни на есть “истинных” ферментов.

60 лет назад было предложено разделить эстеразы на две группы, А и В [41, 42]. Согласно Олдридж, В-эстеразы ингибируются ФОС, карбаматами и сероорганическими соединениями, тогда как А-эстеразы не только не ингибируются ФОС, но гидролизуют их. Характерной особенностью В-эстераз является наличие серина в активном центре, поэтому их еще называют сериновыми эстеразами. А-эстеразы не столь хорошо изучены, но многие из них чувствительны к агентам, связывающим сульфгидрильные группы, поэтому их предлагали называть “цистеиновые эстеразы” [30]. Кстати, по формальным признакам альбумин можно отнести именно к группе цистеиновых А-эстераз. В пользу этого свидетельствуют данные, полученные относительно недавно, о модуляции (псевдо)эстеразной активности альбумина малоновым диальдегидом и пероксидом линоленовой кислоты [43].

Юнг и Криш отмечали в 1973 г., что с теоретической точки зрения очень трудно провести четкую границу между эстеразами, чувствительными к ФОС, и эстеразами, гидролизующими ФОС, т.к. некоторые В-эстеразы могут гидролизовать некоторые ФОС (напр., параоксон) [30]. Но главное заключение этих авторов состоит в следующем: существует одна принципиальная схема

реакции между эстеразой и эфиром (схема 1), а считать тот или иной эфир субстратом или ингибитором эстеразы (применительно к нашей проблеме — считать фермент “истинной” эстеразой или псевдоэстеразой) — зависит от соотношения скоростей образования и гидролитического расщепления ковалентного комплекса (аддукта).

Что же касается проблем эстеразной активности и возможности отнесения альбумина к эстеразам, мы полагаем, что их следует рассматривать не с точки зрения особенностей А- и В-эстераз, а с точки зрения существования у альбумина нескольких центров связывания/активности с различным значением кинетических констант. Так, гидролиз 4-нитрофенилмирилата авторы работы [44] считают псевдоферментативным гидролизом, т.к. константа деацилирования сайта Tug411 k_{+3} намного меньше константы ацилирования k_{+2} ($k_{+3} \sim 10^{-5} \text{ с}^{-1}$, $k_{+2} \sim 0.4 \text{ с}^{-1}$); при этом важно отметить, что никакие другие сайты не были исследованы. Сравнительный анализ активности альбумина по отношению к *пара*- и *орто*-нитрофениловым эфирам с различными боковыми цепями в качестве субстратов показал, что наиболее “подходящим” субстратом, свидетельствующим о наличии у альбумина эстеразной активности, является *n*-нитрофенилпропионат (схема 3): $k_{\text{cat}} = 0.166 \text{ с}^{-1}$, $K_s = 1.55 \times 10^{-4} \text{ М}$, $k_{\text{cat}}/K_s = 1079 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$ [32]. И опять в центре внимания один лишь Tug411. Здесь необходимо отметить вроде бы очевидный факт, который остается за скобками и не обсуждается в подавляющем большинстве работ: для любого сайта альбумина (сколько их в каждом конкретном случае мы не знаем) собственно первой стадией взаимодействия является образование не ковалентного аддукта, а некоего комплекса “лиганд–белок” за счет относительно слабых межмолекулярных связей: ионных, диполь-дипольных, водородных, гидрофобных, ван-дер-ваальсовых. Определить константы k_{+1} и k_{-1} для каждого отдельно взятого сайта практически невозможно, так что заслуживает особого внимания недавняя экспериментальная оценка первой стадии взаимодействия альбумина с NPA (образование некоего “обобщенного” фермент-субстратного комплекса, исходного квазиравновесного состояния, для достижения которого требуется менее чем 1.1 мс). Были получены следующие кинетические характеристики (схема 2): $k_{+1} \geq 6.8 \times 10^6 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$; $k_{-1} \geq 3.5 \times 10^3 \text{ с}^{-1}$; $K_s = (4.7 \pm 0.5) \times 10^{-4} \text{ М}$ [31]. Для полноты картины укажем другие константы, приведенные в этой статье, но относящиеся уже к конкретному сайту Tug411: $k_{+2} = (4.2 \pm 0.4) \times 10^{-1} \text{ с}^{-1}$; $k_{+2}/K_s = (8.9 \pm 0.9) \times 10^2 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$ (22°C, pH 7.5). Взяв недостающую константу $k_{+3} = 3.2 \times 10^{-6} \text{ с}^{-1}$ (при pH 8.0) из работы [22], авторы

вычисляют константу Михаэлиса: $K_m = (K_s \times k_{+3}) / (k_{+2} + k_{+3}) \sim 3 \times 10^{-9} \text{ М}$ (!) [31].

Вот какие удивительные открытия можно сделать, если одному сайту Tug411 приписать параметры обобщенного равновесного состояния всех сайтов молекулы альбумина, взаимодействующих с NPA (или другим субстратом). Теоретически, общее количество этих сайтов может достигать 82, если брать в расчет все те аминокислотные остатки, которые ацетируются при длительной инкубации альбумина со сверхнасыщающими концентрациями NPA [22]. Продолжим, однако, вычисления: $k_{+3}/K_m = 1 \times 10^3 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$. Для сравнения — аналогичные параметры, выявленные при исследовании взаимодействия ацетилхолина с ацетилхолинэстеразой (АХЭ) (схема 5): $k_1 = 6.7 \times 10^4 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$, $k_{-1} = 87.7 \text{ с}^{-1}$, $k_2 = 44.6 \text{ с}^{-1}$ [33]. Если на основании этих данных посчитать K_m , получится примерно $2 \times 10^{-3} \text{ М}$. С ацетилтиохолином в качестве субстрата получены близкие значения: $K_m = 8 \times 10^{-4} \text{ М}$ ($k_1 = 20.4 \times 10^4 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$, $k_{-1} = 52.0 \text{ с}^{-1}$, $k_2 = 12.8 \text{ с}^{-1}$). Определим каталитическую эффективность: $k_2/K_m = 2 \times 10^4 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$. Отличия от справочных данных для ацетилхолина ($K_m = 9 \times 10^{-5} \text{ М}$, $k_2/K_m = 1.6 \times 10^8 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$ [28]) обусловлены, очевидно, условиями проведения эксперимента (25°C, pH 8, ионная сила 0.11 М), но ведь и с альбумином многие данные получены в условиях [10, 22, 23, 31, 32], отличающихся от физиологических (комнатная температура, завышенный pH).

При сравнении с лизоцимом, которого с альбумином объединяет отсутствие заметных различий между K_m и K_s , k_{cat} равна 0.15 с^{-1} , K_m равна K_s с максимальным значением $9 \times 10^{-6} \text{ М}$ при pH 5, отсюда $k_{\text{cat}}/K_m = 1.7 \times 10^4 \text{ М}^{-1} \text{ с}^{-1}$ [45]. И как после этого утверждать, что кинетические характеристики альбумина как фермента радикально отличаются от характеристик “классических” ферментов?

Безусловно, нельзя не принимать во внимание тот факт, что альбумин гидролизует те или иные субстраты с небольшой скоростью, но при этом надо учитывать и другой факт: в плазме крови человека (в отличие от плазмы крови грызунов и зайцеобразных) нет карбоксилэстераз, осуществляющих этот гидролиз более эффективно [46]. Количество “неразборчивой” (promiscuous, т.е. с широкой субстратной специфичностью) параоксоназы 1 (PON1) в плазме крови человека примерно на три порядка меньше количества альбумина (по массе), да и кинетические характеристики PON1 по отношению к высокотоксичным ФОС (зоман и ряд других) не позволяют всерьез рассматривать этот фермент как средство их детоксикации при токсикологически релевантных концентрациях или дозах. В то же время, учиты-

вая огромное количество альбумина в плазме крови и принимая во внимание равновесный характер взаимодействия многих субстратов с альбумином ($k_{-1} \gg k_{+2}$) схема 2, [31]), кажущаяся константа скорости реакции псевдопервого порядка может оказаться не столь маленькой с физиологической точки зрения, а именно этот прикладной аспект является основополагающим в любых фундаментальных исследованиях.

С учетом данного аспекта, наиболее масштабное исследование кинетики взаимодействия зомана с альбумином представлено в работе [23]. Благодаря сочетанному использованию методов масс-спектрометрии (MALDI-TOF и тандемный квадрупольный масс-спектрометр), ^{31}P -ЯМР-спектроскопии, ионометрии фторид-иона, наряду с молекулярным моделированием и биохимическим исследованием ариламидазной активности альбумина, авторы работы решили систему дифференциальных уравнений и определили следующие кинетические характеристики альбумина по отношению к зоману (обозначения констант соответствуют схеме 4): бимолекулярная константа скорости фосфонирования альбумина по Tug411 $k_p = 15 \pm 3 \text{ M}^{-1} \text{ мин}^{-1}$, константа спонтанной реактивации сайта Tug411 $k_r = 0.0044 \text{ ч}^{-1} = 7.3 \times 10^{-5} \text{ мин}^{-1}$, константа спонтанного гидролиза зомана (определяли по высвобождению фторид-иона, на схеме она никак не обозначена) $k_{\text{но}} = (3.42 \pm 0.07) \times 10^{-3} \text{ мин}^{-1}$, константа “спонтанного гидролиза зомана в присутствии альбумина” (определяли также по высвобождению фторид-иона) $k_n = (7.6 \pm 5) \times 10^{-3} \text{ мин}^{-1}$. Таким образом, если сравнить константы, выделенные жирным шрифтом, “спонтанный гидролиз зомана в присутствии альбумина” ненамного, примерно в два раза, выше спонтанного гидролиза зомана в водном растворе, но в 100 раз (!) превышает по скорости реактивацию сайта Tug411.

Несмотря на довольно большое стандартное отклонение, разница в два порядка между средними величинами не дает оснований сомневаться в достоверности отличий. Вызывает недоумение другое: авторы изобразили схему таким образом, что альбумин как будто ни при чем, да и выражение “спонтанный гидролиз зомана в присутствии альбумина” само по себе довольно странное, неспроста мы его взяли в кавычки. А в тексте статьи авторы, похоже, запутались в попытках объяснить ими же обнаруженный феномен. В одном только разделе 3.2.2 они сначала пишут о том, что “альбумин создает физико-химическое окружение, которое повышает спонтанный гидролиз зомана”, затем допускают существование “катализа, который происходит в другом сайте” альбумина, чуть ниже высказывают предположение о том, что “гидролиз зомана, опосредованный альбумином, происходит по какому-то механизму без образова-

ния ковалентного интермедиата”, затем опять предполагают “неферментативную физико-химическую реакцию на границе раздела фаз” и тут же — надо отдать им должное — подводят итог в конце раздела: “мы не можем исключить существование второго активного центра”.

Как добросовестные исследователи, авторы [23] не могли не прийти к такому выводу по одной простой причине: метод MALDI-TOF, который с большой надежностью детектирует долгоживущие ковалентные аддукты, позволил зафиксировать ТОЛЬКО ОДИН АДДУКТ АЛЬБУМИНА С ЗОМАНОМ — по остатку Tug411. А потенциал молекулярного моделирования, который позволил бы более уверенно рассуждать об альтернативном механизме “истинного” гидролиза, по сути, не был использован: авторы ограничились моделированием взаимодействия зомана все с тем же остатком Tug411. В одном из последних разделов, 4.2.2, авторы снова возвращаются к “необъяснимому” феномену, подчеркивая важность ферментативного “гидролиза зомана во втором сайте ($k_n = 0.0076 \text{ мин}^{-1}$) со скоростью в 100 раз выше оборота в сайте Tug411”. Наконец, в самом последнем абзаце статьи и ее последнего раздела 4.2.3, в котором речь идет главным образом о возможных вариантах создания мутантного рекомбинатного альбумина, авторы допускают возможность того, что “наблюдаемый катализ гидролиза зомана на поверхности альбумина в сайте, отличающимся от Tug411, можно было бы усилить”.

Чтобы оценить степень необходимого усиления, в последнем разделе статьи [23] приводятся несложные, но очень важные расчеты. Как было указано выше, бимолекулярная константа скорости фосфонирования альбумина по Tug411 k_p равна $15 \pm 3 \text{ M}^{-1} \text{ мин}^{-1}$, и если концентрация альбумина в плазме составляет 600 мкМ, то для реакции зомана с альбумином (точнее, с его одним только сайтом Tug411) кажущаяся константа скорости псевдопервого порядка $k_p \times [E]$ равна $9 \times 10^{-3} \text{ мин}^{-1}$. В то же время, суммарная константа скорости псевдопервого порядка для реакции зомана с АХЭ и БХЭ равна 4.5 мин^{-1} , т.е. в 500 раз больше. Это значение получается, если концентрацию АХЭ эритроцитов в крови человека считать равной 2.5 нМ, концентрацию БХЭ — 50 нМ, отношение k_2/K_d для обоих ферментов принять равным $9 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ мин}^{-1}$. Разница в 500 раз — это очень серьезный вызов, однако напомним, что авторы в своих расчетах опираются исключительно на стехиометрические свойства одного сайта — Tug411, которые действительно трудно усилить в 500 раз. Но если учесть свойства гипотетического второго сайта, который в 100 раз быстрее, да еще и каталитически, а не стехиометрически взаимодействует с зоманом, то задача усиления этих

свойств всего лишь в 5 раз выглядит куда более выполнимой.

Может быть, самое забавное в связи с обсуждаемой проблемой состоит в том, что реальные возможности альбумина по детоксикации ФОС не являются сенсацией, это доказано изящными экспериментами испанской лаборатории под руководством Виланова [47–49]. Правда, работали исследователи не с зоманом, а с менее токсичными ФОС — параоксоном, хлорпирифосоксоном и др., также не было у них современных ЯМР и масс-спектрометров, иономеров и т.п., но это ничуть не умаляет значимость полученных результатов, скорее наоборот, т.к. данные, полученные в условиях *in vivo*, значительно ценнее теоретических расчетов, сделанных на основании работ *in vitro*. Эти авторы установили, что уровень детоксикации альбумином параоксона в токсикологически релевантных концентрациях оказался ничуть не ниже детоксикации параоксоназой, так что у нокаутных по PON1 мышей чувствительность к параоксону не отличается от контроля [48].

В этой [48] и особенно следующей работе испанских исследователей [49] недвусмысленно говорится о каталитической активности альбумина, приведены кинетические константы для исследуемых субстратов. Более того, в противоположность обсуждаемой выше работы [23], основную роль в детоксикации ФОС альбумином авторы работ [48, 49] отводят каталитическому гидролизу, а вспомогательную — стехиометрическому взаимодействию с альбумином, и это стоит процитировать: *“Мы полагаем, что наиболее вероятный механизм детоксикации этих субстратов — каталитический гидролиз. Тем не менее, мы не исключаем возможность альтернативного или одновременного механизма детоксикации, при котором определенные боковые цепи альбумина могут быть фосфорилированы или карбамилированы без каталитического оборота”* [49]. И еще одна цитата из этой же работы: *“Роль гидролитической активности альбумина недооценивали из-за его низкой каталитической эффективности, ... однако низкая каталитическая эффективность компенсируется чрезвычайно высокой концентрацией фермента (46 мг/мл, 670 мкМ)”*. Сказано как бы в унисон с работой [23], но куда более четко и определенно.

Ранее мы демонстрировали образование ковалентных аддуктов при взаимодействии ФОВ с альбумином методами масс-спектрометрии [50]. Методами молекулярного моделирования мы выявили возможные сайты взаимодействия альбумина с зоманом, причем особый интерес для нас представляли сайты иные, чем Tyr411. Структуры комплексов зомана с альбумином определяли методом молекулярного докинга, стабильность полученных комплексов рассчитывали методом молекулярной динамики. Было установлено, что

остаток Tyr150 альбумина эффективнее взаимодействует с зоманом, чем остаток Tyr411. Кроме того, данные молекулярного моделирования позволили нам предположить, что остаток Tyr150 и Ser193 альбумина могут служить сайтами каталитического взаимодействия с зоманом. Была выдвинута гипотеза о влиянии депротонирования остатка аминокислоты в одном сайте альбумина на инициирование связывания лиганда в другом сайте (аллостерическая регуляция) альбумина [51, 52].

Полученные нами результаты докинга, на первый взгляд, противоречат представлениям о том, что основным сайтом (псевдо)эстеразной активности альбумина по отношению к зоману и некоторым другим ФОС является Tyr411 [23, 53]. В то же время, наши данные не противоречат имеющимся сведениям о наличии у альбумина двух сайтов с (псевдо)эстеразной активностью, один из которых может обладать “истинно” эстеразной активностью. Более того, наши данные объясняют противоречивые экспериментальные данные, полученные в той самой лаборатории Локридж, публикации которой стали чуть ли не каноническими, по крайней мере, в части, касающейся роли и места альбумина в связывании и гидролизе разного рода эфиров [22, 23, 53].

Согласно Локридж, Tyr150 не только не фосфонилируется при взаимодействии с зоманом, но не входит в перечень ацетилированных остатков тирозина даже при “тотальном” насыщении альбумина ацетильными группами (при этом ацетируются 4 остатка тирозина: Tyr84, Tyr161, Tyr401, Tyr411) [22]. В условиях инкубации 15 мкМ альбумина с 500 мкМ NPA (5 мин при 22°C) был ацетилирован лишь один только сайт Tyr411, а для того чтобы ацетилировать все 82 сайта, потребовалась нефизиологически “жесткая” инкубация альбумина с 10 мМ (!) NPA в течение 48 ч (!). Полупериод деацетилирования остатка Tyr411 альбумина при pH 8.0 и 22°C составил 61 ± 4 ч [22]. Неудивительно поэтому, что в одном из последних обзоров [54] рассматриваются лишь два сайта-претендента на (псевдо)эстеразную активность альбумина: это Tyr411 и Lys199. Дальше — больше: сайт Tyr411 именуется тем сайтом, который отвечает за “истинный гидролиз” (real hydrolysis), поскольку субстрат (эфир) расщепляется на две молекулы, обе из которых высвобождаются, а для расщепления необходима молекула воды. В отличие от Lys199, который также отвечает за расщепление субстрата (напр., аспирина) на два продукта, лишь один из которых (салицилат) высвобождается, тогда как второй (ацетат) связывается ковалентной связью с ϵ -аминогруппой Lys199, остается связанным с ней неопределенно долго, и — что самое главное — при расщеплении аспирина молекула воды не задействована (как будто она задействована на первой стадии расщепления ФОС, NPA или другого эфира). Вот, оказывается,

каким может (или должен) быть главный критерий гидролазной активности вообще и эстеразной, в частности: участие молекулы воды в расщеплении субстрата. Так открывается Америка!

А если говорить серьезно, то поскольку вода участвует в высвобождении второй части субстрата всех эстераз, на первый план опять выходит “долгительность жизни” ковалентной связи — этого камня преткновения на пути достижения консенсуса в вопросе о каталитических свойствах альбумина.

Очевидно, одна из главных причин медленного гидролиза альбумином NPA и других эфиров — отсутствие каталитической триады и оксианионного центра [32]. Напомним, что каталитические триады — широко распространенное явление, особенно среди гидролаз и трансфераз, обеспечивающих КОВАЛЕНТНЫЙ КАТАЛИЗ, характерной особенностью которого является образование КОВАЛЕНТНОГО промежуточного продукта, который затем гидролизует, регенерируя фермент [55, 56]. В случае “классических” сериновых гидролаз речь идет об ацилировании фермента и последовательном образовании двух тетраэдрических структур (субстрат-фермент и продукт-фермент), причем второй тетраэдр (продукт-фермент) образуется при участии молекулы воды и трансацилировании продукта с серинового остатка на молекулу воды.

Даже один из наиболее быстрых ферментативных процессов — расщепление ацетилхолинэстеразой ацетилхолина ($k_{cat}/K_m = 1.6 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$ [28]) — происходит по общей схеме (схема 5): стадия ацилирования фермента протекает по механизму присоединения—отщепления через образование стабильного тетраэдрического интермедиата. При нуклеофильной атаке кислорода Ser203 фермента по карбонильному атому углерода субстрата происходит протонирование его His447, играющего роль основания в данном процессе. Протонированный остаток гистидина, в свою очередь, стабилизируется при взаимодействии с Glu334. В результате на стадии ацилирования фермента происходит образование первого тетраэдрического интермедиата, стабилизированного водородными связями с кислородами пептидных связей между остатками оксианионного центра фермента (Gly121, Gly122, Ala204), который быстро распадается под действием протонированного остатка гистидина, выступающего в качестве кислоты, до АЦИЛФЕРМЕНТА с выделением холина [57].

В первых же статьях с описанием механизма действия АХЭ был отмечен феномен субстратного ингибирования фермента, суть которого состоит в ингибировании стадии деацетилирования [58]. Так что еще раз: нет ничего нового и удивительного в образовании ковалентного аддукта

(ацилфермента), вся проблема заключается в “долговечности” его ковалентной связи, которая зависит от структуры и специализации активного центра фермента, субстрата, рН и температуры.

Безусловно, каталитической триады и оксианионного центра в том виде, как они существуют в молекуле АХЭ, в молекуле альбумина нет, однако в ряде работ подчеркивается важная роль гуанидинового остатка соседнего Arg410 для эстеразной активности альбумина в сайте Tyr411. Полагают, что Arg410 выполняет роль оксианионного центра, образуя водородную связь с карбонильной группой субстрата [32], тогда как при связывании, например, негидролиземого диазепама остаток Arg410 особой роли не играет [59]. Кроме того, для эстеразной активности альбумина (по крайней мере, по отношению к такому эфиру, как *n*-нитрофенил-4-гуанидинобензоат) необходим остаток гистидина [60], т.к. рН-профиль k_2 показал наличие двух ионизируемых каталитических групп в молекуле альбумина с pK_a около 6 и 10, что свидетельствует об ионизации имидазольного остатка гистидина и гидроксильной группы тирозина соответственно. Имидазольная группа гистидина функционирует при гидролизе как всеобщий катализатор.

Кроме того, мы предположили участие Lys414 в Садлоу-сайте II и His242 в Садлоу-сайте I альбумина в качестве акцепторов протонов от остатков тирозина Tyr411 и Tyr150 соответственно, основываясь на данных компьютерного моделирования взаимодействия зомана с альбумином [51]. Таким образом, возможно, что для гидролиза альбумином некоторых субстратов необходима каталитическая диада His-Tyr или Lys-Tyr, в которой остатки гистидина или лизина выполняют функцию кислотного остатка; такие случаи описаны в литературе с тем отличием, что два разных остатка гистидина выполняют функции кислотного и основного остатков [61]. С учетом анализа этих и других литературных данных, можно предположить, что из двух главных сайтов, взаимодействующих с NPA и ФОС, сайт Садлоу I с остатком Tyr150 проявляет “истинно” эстеразную активность, а сайт Садлоу II с остатком Tyr411 — псевдоэстеразную. Такое разделение может оказаться достаточно условным, если будет установлено, что в обоих случаях имеет место образование промежуточного ковалентного аддукта, а отличия состоят во времени жизни этого аддукта, т.е. разница состоит в константе k_3 , характеризующей реакцию дезацилирования.

2. СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ И ВОЗМОЖНОСТЬ ОТНЕСЕНИЯ АЛЬБУМИНА К ОПРЕДЕЛЕННЫМ КЛАССАМ ФЕРМЕНТОВ

В одной из последних обзорных работ Краг-Хансена [54] собраны некоторые сведения о том, какой активностью обладает и аналогом каких ферментов является альбумин. Взяв за основу эти данные, расширив библиографию и по-своему расставив акценты, мы предлагаем рассмотреть модифицированный перечень ферментативной активности альбумина.

Сначала – перечень активностей альбумина, связанных с редокс-модуляцией плазмы крови и межклеточной жидкости. Это тиозстеразная [62, 63], глутатион- и цистеинпероксидазная активности [64, 25], а также пероксидазная активность по отношению к гидроперекисям липидов [25, 26, 64, 65]. При этом отметим важную роль двух цистеиновых остатков альбумина, Cys392 и Cys438, образующих редокс-активный дисульфид в комплексе альбумина с пальмитоил-СоА [65]. Альбумин является ловушкой радикалов благодаря шести метиониновым остаткам, но особенно за счет Cys34 [66, 67]. *N*-Концевой участок альбумина человека Asp-Ala-His-Lys в комплексе с ионами меди обладает выраженной супероксиддисмутазной активностью [68]. Альбумин может стехиометрически инактивировать пероксид водорода и пероксинитрит за счет обратимого окисления остатка Cys34 до производного сульфеновой кислоты [65]. К этой группе активностей, наверно, можно отнести реакцию детоксикации цианида с образованием тиоцианата, катализируемую участками субдомена IIIA, но без участия Tyr411 [70]. Наконец, следует отметить и прооксидантные свойства альбумина: связанные с альбумином ионы меди Cu^{2+} усиливают образование аскорбат-радикала, молекулярный кислород и протоны окисляют образовавшиеся при этом ионы Cu^+ вновь до Cu^{2+} [71].

Рассмотрим подробнее тиолпероксидазные активности альбумина. Согласно данным корейских исследователей Ча и Ким [64], белок массой 65 кДа, выделенный из плазмы крови человека и идентифицированный по *N*-концевой последовательности аминокислотных остатков как сывороточный альбумин (HSA), оказался способным катализировать восстановление H_2O_2 при участии GSH в качестве косубстрата. Авторы не сообщают о кинетических характеристиках HSA по пероксиду и GSH, но отмечают, что скорость глутатионзависимого восстановления H_2O_2 в присутствии HSA в реакционной смеси является функцией концентрации альбумина и имеет характер насыщения. Оценку скорости реакции вели по убыли концентрации H_2O_2 ; начальные концентрации H_2O_2 и GSH в реакционной смеси – 0.5 и 5 мМ соответственно; pH 7.0, буфер HEPES, тем-

пература инкубации – 37°C. В вышеописанных условиях HSA (15 мкМ или 1 мг/мл) восстанавливал более 50 мкМ H_2O_2 в первые 20 мин инкубации. Ускорение окисления GSH пероксидом водорода в присутствии HSA было подтверждено оценкой скорости образования окисленного глутатиона (GSSG) в реакционной смеси, содержащей 2 мМ GSH, 0.5 мМ H_2O_2 и 15 мкМ альбумин. Полученные результаты позволяют предполагать наличие глутатионпероксидазной (GSH : H_2O_2 -оксидоредуктазной) активности у HSA, но авторы, к сожалению, ничего не сообщают о стехиометрии исследуемой реакции. Если в дальнейшем будет подтверждено, что мольное соотношение между GSH и H_2O_2 при их взаимодействии, катализируемом HSA, составляет 2 : 1, то это позволит более уверенно говорить о том, что альбумин в функциональном отношении способен быть GSH : H_2O_2 -оксидоредуктазой.

Если обратиться к данным по тиолзависимому восстановлению альбумином гидроперекисей фосфолипидов, то наличие такой тиолпероксидазной активности у него является значительно более обоснованным, чем в случае тиолзависимого восстановления H_2O_2 . Так, например, в 1999 г. Херст и соавторы [25] установили, что HSA эффективен в катализе восстановления 1-пальмитоил-2-(13-гидроперокси-*цис*-9,*транс*-11-октадекадиеноил)-*L*-3-фосфатидилхолина до соответствующего гидроксипроизводного при использовании в качестве окисляемых субстратов таких тиолов как цистеин, глутатион, цистеинилглицин и гомоцистеин (перечислены в порядке убывания их эффективности в катализируемом альбумином восстановлении гидроперекиси). HSA восстанавливал фосфолипид-гидроперекись и в отсутствие тиолового восстановителя, но с меньшей скоростью, чем с любым из них. Авторы произвели оценку стехиометрии восстановления фосфолипид-гидроперекиси в соответствующее гидроксипроизводное в присутствии альбумина и цистеина. Мольное соотношение между образующимися 1-пальмитоил-2-(13-гидрокси-*цис*-9,*транс*-11-октадекадиеноил)-*L*-3-фосфатидилхолином и цистином было близким к 1 : 1, что подтверждает гипотезу о том, что альбумин функционирует как цистеинпероксидаза, т.е. катализирует реакцию по схеме, аналогичной схеме глутатионпероксидазной реакции: $\text{ROOH} + 2\text{Cys-SH} \rightarrow \text{ROH} + \text{H}_2\text{O} + \text{Cys-SS-Cys}$, где Cys-SH – цистеин, Cys-SS-Cys – цистин, ROH – гидроксипроизводное, ROOH – гидроперекись.

Кинетические характеристики были определены по отношению к цистеину при фиксированной начальной концентрации фосфолипид-гидроперекиси (25 мкМ) и, наоборот, по отношению к фосфолипид-гидроперекиси при фиксированной начальной концентрации цистеина (250 мкМ).

Полученные значения кажущихся K_m и V_{max} по цистеину составили 600 ± 80 мкМ и $0.21 \pm \pm 0.02$ нмоль/(мин мг белка) соответственно ($M \pm \pm SD$). Те же параметры по фосфолипид-гидроперекиси — 9.23 ± 0.95 мкМ и $0.11 \pm \pm <0.01$ нмоль/(мин мг белка) [25]. Обработка альбумина дитиотреитолом (ДТТ) снижала обе кажущиеся K_m и увеличивала обе кажущиеся V_{max} , а модификация *N*-этилмалеимидом приводила к снижению как K_m , так и V_{max} . В целом, это означает, что присутствие свободных SH-групп в молекуле альбумина усиливает его каталитические свойства. Этот же вывод авторы подтверждают с использованием каптоприла, обработка которым увеличивает цистеинпероксидазную активность альбумина; при этом зависимость величины активности от концентрации каптоприла имеет характер насыщения [25]. Результаты с применением каптоприла указывают на участие Cys34 в катализе, но, по всей видимости, высвобождение дополнительных тиольных групп в молекуле альбумина при обработке ДТТ обеспечивает большую каталитическую эффективность альбумина.

Бесспорно, цистеинпероксидазная активность альбумина в отношении фосфолипидгидроперекиси невысока (а его глутатион-, цистеинилглицин- и гомоцистеинпероксидазная активности в отношении того же восстанавливаемого субстрата, по-видимому, еще ниже), но, как справедливо отмечают авторы [25], низкая активность должна компенсироваться его высоким содержанием в плазме. К тому же, цистеин — мажорный низкомолекулярный тиол плазмы крови, физиологическая концентрация которого составляет 9–12 мкМ [72]. Суммарная концентрация гидроперекисей фосфатидилхолина в плазме — 20–430 нМ [25]. Вероятно, альбумин вносит определенный вклад в катализ тиолзависимого восстановления фосфолипидгидропероксидов в плазме крови совместно с другими пероксидазами. Во всяком случае, о наличии цистеинпероксидазной (цистеин:фосфолипидгидропероксид-оксидоредуктазной) активности у сывороточного альбумина человека можно говорить уверенно. В отличие от внутриклеточного аналога, мономерного Se-содержащего белка фосфолипидгидропероксид-глутатионпероксидазы (другое название — глутатионпероксидаза-4; аббревиатуры — РНГРх, GRx4; КФ 1.11.1.12), роль которого в защите клеток, в том числе нервных, от повреждающего действия гидроперекисей липидов трудно переоценить [73–75], а также в отличие от внеклеточной тетрамерной глутатионпероксидазы-3 (GRx3; КФ 1.11.1.9), снижение активности которой устойчиво коррелирует с развитием онкологических заболеваний [76, 77], мономерный (но мультидоменный) сывороточный альбумин не содержит селена, что позволяет нам предложить ему место в номенклатуре ферментов под номером

1.11.1.23 (<http://www.brenda-enzymes.org/>, по состоянию на август 2014 г.). Что касается функциональной роли альбумина с точки зрения предрасположенности к тем или иным заболеваниям или особенностям патогенеза, отметим одну из недавних работ, свидетельствующих о тесной взаимосвязи уровня альбумина (его ферментативная активность, к сожалению, не была предметом исследования), наряду с уровнем орозомукоида, липопротеидов очень низкой плотности и цитрата, с вероятностью летального исхода для больных вне зависимости от характера их заболевания [78].

Продолжая рассмотрение спектра активностей сывороточного альбумина, отметим его простагландин D-синтазную и другие виды активности, связанные с метаболизмом простаноидов [79–86], в частности каталитическая дегидратация 15-кето PGE₂ в сайте Arg257 с образованием 15-кето PGA₂. Довольно экзотические для альбумина активности — глюкуронидазная (например, гидролиз глюкуранида S-карпрофена, нестероидного противовоспалительного средства, с участием остатков тирозина и лизина) [15, 87, 88] и енолазная [89, 90], хотя значение последней трудно переоценить в связи с дифференциальной диагностикой доброкачественных и злокачественных опухолей.

Далее — две группы активностей альбумина, с которыми связано наибольшее количество исследований на протяжении десятков лет. Первая группа — это карбоксилэстеразная (КФ 3.1.1.1), арилэстеразная (КФ 3.1.1.2), ариламидазная (КФ 3.5.1.13) [19, 20]. Следует особо отметить последнюю из этих трех активностей альбумина, т.к. на двух субстратах (*o*-нитроацетанилид и *o*-нитротрифторацетанилид) показано, что их гидролитическое расщепление происходит при участии Tyr411, при этом оба продукта реакции (*o*-нитроанилин и ацетат/трифторацетат) *одновременно высвобождаются в среду без образования стабильного ковалентного аддукта с альбумином*. В противоположность этому, ацетилсалицилат-деацетилазная активность (КФ 3.1.1.55) [91] с большой вероятностью может оказаться исключительно псевдоэстеразной активностью [92].

Вторая группа характеризует фосфатазную активность: это фосфомоноэстеразная (КФ 3.1.3...?) [16], РНК-гидролазная или фосфодиэстеразная (КФ 3.1.4.16 ?) [93], а также фосфотриэстеразная (КФ 3.1.8.1 и 3.1.8.2) [23, 49]. К подподклассу 3.1.8 (гидролазы триэфиров фосфорной кислоты) относятся арилдиалкилфосфатаза (КФ 3.1.8.1) и диизопропилфторфосфатаза (КФ 3.1.8.2) [94, 95]. Арилдиалкилфосфатаза более известна под названием параоксоназа, среди других названий — А-эстераза, арилтрифосфатаза, эстеразаВ1, эстеразаЕ4, пиримифос-метилоксонэстераза, параоксон-гидролаза, арилтрифосфат-диалкилфос-

фогидролаза. Гидролизует эфиры трехосновной фосфорной, двухосновной фосфоновой и одноосновной фосфиновой кислот; характерной особенностью фермента является ингибирование хелатирующими агентами, т.к. для проявления активности необходимы дивалентные катионы (главным образом ионы Ca^{2+}) [96]. Карбарилаза (эстераза E4), гидролизующая карбаматы, очевидно, также идентична арилдиалкилфосфатазе [97]. Диизопропилфторфосфатаза (другие названия – DFP-аза, табуназа, зоманаза, органофосфат-ангидролаза, органофосфат-ангидраза, диизопропилфосфорофлуоридаза, диалкилфторфосфатаза, изопропилфосфорофлуоридаза, диизопропилфторфосфатдеглогеназа, диизопропилфторфосфатфторгидролаза) действует на ангидридные связи фосфора (фосфор-галиды и фосфор-цианиды), в том числе в фосфорорганических отравляющих веществах (табун, зарин, зоман). Так же как и арилдиалкилфосфатаза (КФ 3.1.8.1), требует для своей активности двухвалентные катионы. Характерно, что этот номер присвоен ферменту в 1992 г. на основании публикаций главным образом 1950-х годов, и лишь одна из них – 1989 года [98–103]. Зависимость от ионов Ca^{2+} и новые данные литературы позволяют предположить, что диизопропилфторфосфатаза и арилдиалкилфосфатаза суть один и тот же фермент, который привычнее называть параоксоназой (PON1) [104, 105]. Название “параоксоназа” дает ложное представление, будто параоксон является лучшим субстратом для этого фермента, однако PON1 гидролизует фенилацетат в 1000 раз быстрее, чем параоксон [106].

Физиологической функцией PON1 предположительно является гидролиз гомоцистеинтиолактона, что предотвращает гомоцистеинилирование белков и предупреждает развитие атеросклероза [107, 108]. Работы Фурлонга и соавторов поставили точку в длительном споре о субстратной специфичности параоксоназы, доказав, что параоксон и фенилацетат гидролизует один и тот же фермент [109, 110], так что параоксоназа работает и как арилэстераза (КФ 3.1.1.2), и как арилдиалкилфосфатаза (КФ 3.1.8.1). Остатки, обуславливающие фосфотриэстеразную и эстеразную/лактоназную активность PON1, находятся в разных местах ее активного центра [111]. Фосфотриэстеразная и эстеразная/лактоназная активность фермента настолько тесно связаны, что в современных работах обе они являются неотъемлемым атрибутом биохимического анализа крови [112–114].

Стоит процитировать слова 20-летней давности, актуальность которых ничуть за это время не уменьшилась: “Характеристика и классификация этих двух групп эстераз осложняется одной проблемой – отсутствие чистых препаратов ферментов” [116]. Таким образом, возможно, что один и

тот же белок выполняет ферментативные функции арилдиалкилфосфатазы (КФ 3.1.8.1), диизопропилфторфосфатазы (КФ 3.1.8.2), арилэстеразы (КФ 3.1.1.2), а также лактоназы (КФ 3.1.1.25). Альбумин, как было показано, обладает всеми функциями параоксоназы, но принципиальным отличием альбумина является отсутствие зависимости от ионов Ca^{2+} , что используется при дифференцированном анализе активностей этих ферментов [47–49, 116].

В 1986 г. прозвучало беспокойство по поводу того, что существующая классификация эстераз не отражает истинного положения вещей, причем в качестве примера белка, обладающего эстеразной активностью и не имеющего места в классификации, был приведен как раз альбумин [117]. К сожалению, эти слова остались не услышанными. И вот совсем свежая статья напоминает нам о проблемах классификации и призывает подавать новые сведения о ферментативной активности белков с целью корректировки существующей номенклатуры [118].

В соответствии с классификацией эстераз, гидролизующих ФОС [115], а также с учетом выявленных активностей альбумина, этот белок можно отнести к двум группам (подподклассам): гидролазам эфиров карбоновых кислот (КФ 3.1.1) и фосфотриэстеразам (КФ 3.1.8). Широкая субстратная специфичность и отсутствие зависимости от Ca^{2+} не позволяет отождествить альбумин ни с одним ферментов, имеющим свой номер в классификации, так что место альбумина в номенклатуре ферментов еще предстоит определить, а в качестве рабочей версии можно было бы предложить как минимум два номера: КФ 3.1.1.96 и 3.1.8.3 (<http://www.brenda-enzymes.org/>, по состоянию на август 2014 г.). Нет, мы не забыли: это в дополнение к уже предложенному выше номеру в классе оксидоредуктаз: КФ 1.11.1.23.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-01728а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Macwilliam J.A.* // *Br. Med. J.* 1891. V. 1. P. 837–840.
2. *Atkinson J.F.* // *J. Exp. Med.* 1899. V. 4. P. 649–654.
3. *He X.M., Carter D.C.* // *Nature.* 1992. V. 358. P. 209–215.
4. *Sugio S., Kashima A., Mochizuki S., Noda M., Kobayashi K.* // *Protein Eng.* 1999. V. 12. P. 439–446.
5. *Peters Jr. T.* All about Albumin. Biochemistry, Genetics, and Medical Applications. London: Academic Press Ltd., 1996.
6. *Ascenzi P., Bocedi. A., Notari S., Fanali G., Fesce R., Fasano M.* // *Mini Rev. Med. Chem.* 2006. V. 6. P. 483–489.

7. Ascenzi P., Fasano M. // *Biophys. Chem.* 2010. V. 148. P. 16–22.
8. Fasano M., Curry S., Terreno E., Galliano M., Fanali G., Narciso P., Notari S., Ascenzi P. // *IUBMB Life.* 2005. V. 57. P. 787–796.
9. Ghuman J., Zunszain P.A., Petitpas I., Bhattacharya A.A., Otagiri M., Curry S. // *J. Mol. Biol.* 2005. V. 353. P. 38–52.
10. Casida J.E., Augustinsson K.B. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1959. V. 36. P. 411–426.
11. Tildon J.T., Ogilvie J.W. // *J. Biol. Chem.* 1972. V. 247. P. 1265–12671.
12. Means G.E., Bender M.L. // *Biochemistry.* 1975. V. 14. P. 4989–4994.
13. Tove S.B. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1962. V. 5. P. 230–235.
14. Rainsford K.D., Ford N.L., Brooks P.M., Watson H.M. // *Eur. J. Clin. Investg.* 1980. V. 10. P. 413–420.
15. Dubois-Presle N., Lopicque F., Maurice M.H., Fournel-Gigleux S., Magdalou J., Abiteboul M., Siest G., Netter P. // *Mol. Pharmacol.* 1995. V. 47. P. 647–653.
16. Kwon C.H., Maddison K., LoCastro L., Borch R.F. // *Cancer Res.* 1987. V. 47. P. 1505–1508.
17. Salvi A., Carrupt P., Mayer J.M., Testa B. // *Drug. Metab. Dispos.* 1997. V. 25. P. 395–398.
18. De Vriese C., Hacquebard M., Gregoire F., Carpentier Y., Delporte C. // *Endocrinology.* 2007. V. 148. P. 2355–2362.
19. Manoharan I., Boopathy R. // *Arch. Biochem. Biophys.* 2006. V. 452. P. 186–188.
20. Masson P., Froment M.T., Darvesh S., Schopfer L.M., Lockridge O. // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2007. V. 22. P. 463–469.
21. Sogorb M.A., Diaz Alejo N., Escudero M.A., Vilanova E. // *Arch. Toxicol.* 1998. V. 72. P. 219–226.
22. Lockridge O., Xue W., Gaydoss A., Grigoryan H., Ding S.J., Schopfer L.M., Hinrichs S.H., Masson P. // *J. Biol. Chem.* 2008. V. 283. P. 22582–22590.
23. Li B., Nachon F., Froment M.T., Verdier L., Debouzy J.C., Brasme B., Gillon E., Schopfer L.M., Lockridge O., Masson P. // *Chem. Res. Toxicol.* 2008. V. 21. P. 421–431.
24. John H., Breyer F., Thumfart J.O., Höchstetter H., Thiermann H. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2010. V. 398. P. 2677–2691.
25. Hurst R., Bao Y., Ridley S., Williamson G. // *Biochem. J.* 1999. V. 338. P. 723–728.
26. Lee H., Cha M.K., Kim I.H. // *Arch. Biochem. Biophys.* 2000. V. 380. P. 309–318.
27. Cha M.K., Kim I.H. // *Arch. Biochem. Biophys.* 2006. V. 445. P. 19–25.
28. Berg J., Tymoczko J., Stryer L. *Biochemistry.* New York; Basingstoke: W.H. Freeman and Company, 2006.
29. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты: Пер. с англ. М.: Мир, 1982 (Dixon M., Webb E.C. *Enzymes.* New York: Academic Press, 1979).
30. Junge W., Krisch K. // *Mol. Cell. Biochem.* 1973. V. 1. P. 41–52.
31. Ascenzi P., Gioia M., Fanali G., Coletta M., Fasano M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012. V. 424. P. 451–455.
32. Sakurai Y., Ma S.F., Watanabe H., Yamaotsu N., Hirono S., Kurono Y., Kragh-Hansen U., Otagiri M. // *Pharm. Res.* 2004. V. 21. P. 285–292.
33. Zdrzilová P., Stepánková S., Vránová M., Komers K., Komersová A., Cegan A. // *Z. Naturforsch. C.* 2006. V. 61. P. 289–294.
34. Michaelis L., Menten M. // *Biochemische Zeitschrift.* 1913. V. 49. P. 333–369.
35. Zaidi N., Ajmal M.R., Rabhani G., Ahmad E., Khan R.H. // *PLoS One.* 2013. V. 8. e71422.
36. Walker C.H., Mackness M.I. // *Biochem. Pharmacol.* 1983. V. 32. P. 3265–3269.
37. Briggs G.E., Haldane J.B. // *Biochem. J.* 1925. V. 19. P. 338–339.
38. Morrison J.F. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1969. V. 185. P. 269–286.
39. Flach E.H., Schnell S. // *Syst. Biol. (Stevenage).* 2006. V. 153. P. 187–191.
40. Kuzmic P. // *Anal. Biochem.* 2009. V. 394. P. 287–289.
41. Aldridge W.N. // *Biochem. J.* 1953. V. 53. P. 110–117.
42. Aldridge W.N. // *Biochem. J.* 1953. V. 53. P. 117–124.
43. Suji G., Sivakami S. // *Toxicol. in Vitro.* 2008. V. 22. P. 618–624.
44. Ascenzi P., Fasano M. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012. V. 422. P. 219–223.
45. Banerjee S.K., Kregar I., Turk V., Rupley J.A. // *J. Biol. Chem.* 1974. V. 248. P. 4786–4792.
46. Li B., Sedlacek M., Manoharan I., Boopathy R., Duysen E.G., Masson P., Lockridge O. // *Biochem. Pharmacol.* 2005. V. 70. P. 1673–1684.
47. Sogorb M.A., Vilanova E. // *Toxicol. Lett.* 2002. V. 128. P. 215–228.
48. Sogorb M.A., Vilanova E. // *Chem. Biol. Interact.* 2010. V. 187. P. 325–329.
49. Sogorb M.A., García-Argüelles S., Carrera V., Vilanova E. // *Chem. Res. Toxicol.* 2008. V. 21. P. 1524–1529.
50. Краснов И.А., Подольская Е.П., Гончаров Н.В., Бабаков В.Н., Глашкина Л.М., Ермолаева Е.Е., Дубровский Я.А., Прокофьева Д.С., Войтенко Н.Г., Смолыхина Т.И., Поляков Н.Б., Радилов А.С., Краснов Н.В. // *Научное приборостроение.* 2008. Т. 18. С. 46–53.
51. Белинская Д.А., Шмурак В.И., Прокофьева Д.С., Гончаров Н.В. // *Токсикологический Вестник.* 2012. Т. 6. С. 13–19.
52. Белинская Д.А., Шмурак В.И., Прокофьева Д.С., Гончаров Н.В. // *Биоорганическая химия.* 2014. Т. 5. С. 541–549.
53. Li B., Ricordel I., Schopfer L.M., Baud F., Mégarbane B., Nachon F., Masson P., Lockridge O. // *Toxicol. Sci.* 2010. V. 116. P. 23–31.
54. Kragh-Hansen U. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. V. 1830. P. 5535–5544.
55. Dodson G., Wlodawer A. // *Trends Biochem. Sci.* 1998. V. 23. P. 347–352.
56. Buller A.R., Townsend C.A. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2013. V. 110. P. 653–661.
57. Zhang Y., Kua J., McCammon J.A. // *J. Am. Chem. Soc.* 2002. V. 124. P. 10572–10577.

58. Hofer P., Fringeli U.P. // *Biophys. Struct. Mech.* 1981. V. 8. P. 45–59.
59. Watanabe H., Tanase S., Nakajou K., Maruyama T., Kragh-Hansen U., Otagiri M. // *Biochem. J.* 2000. V. 349. P. 813–819.
60. Kurono Y., Miyajima M., Tsuji T., Yano T., Takeuchi T., Ikeda K. // *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)*. 1991. V. 39. P. 1292–1294.
61. Ekici O.D., Paetzel M., Dalbey R.E. // *Proteinscience: a publication of the Protein Society*. 2008. V. 17. P. 2023–2037.
62. Pedersen A.O., Jacobsen J. // *Eur. J. Biochem.* 1980. V. 106. P. 291–295.
63. Agarwal R.P., Phillips M., McPherson R.A., Hensley P. // *Biochem. Pharmacol.* 1986. V. 35. P. 3341–3347.
64. Cha M.K., Kim I.H. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996. V. 222. P. 619–625.
65. Lee H., Kim I.H. // *Free Radic. Biol. Med.* 2001. V. 30. P. 327–333.
66. Roche M., Rondeau P., Singh N.R., Tarnus E., Bourdon E. // *FEBS Lett.* 2008. V. 582. P. 1783–1787.
67. Iwao Y., Ishima Y., Yamada J., Noguchi T., Kragh-Hansen U., Mera K., Honda D., Suenaga A., Maruyama T., Otagiri M. // *IUBMB Life*. 2012. V. 64. P. 450–454.
68. Kato R., Akiyama M., Kawakami H., Komatsu T. // *Chem. Asian J.* 2014. V. 1. P. 83–86.
69. Quinlan G.J., Martin G.S., Evans T.W. // *Hepatology*. 2005. V. 41. P. 1211–1219.
70. Jarabak R., Westley J. // *J. Biochem. Toxicol.* 1991. V. 6. P. 65–70.
71. Gryzunov Y.A., Arroyo A., Vigne J.-L., Zhao Q., Tyurin V.A., Hubel C.A., Gandle R.E., Vladimirov Y.A., Taylor R.N., Kagan V.E. // *Arch. Biochem. Biophys.* 2003. V. 413. P. 53–66.
72. Blanco R.A., Ziegler T.R., Carlson B.A., Cheng P.-Y., Park Y., Cotsonis G.A., Accardi C.J., Jones D.P. // *Am. J. Clin. Nutr.* 2007. V. 86. P. 1016–1023.
73. Ursini F., Maiorino M., Roveri A. // *Biomed. Environ. Sci.* 1997. V. 10. P. 327–332.
74. Imai H., Nakagawa Y. // *Free Radic Biol Med.* 2003. V. 34. P. 145–169.
75. Yoo M.H., Gu X., Xu X.M., Kim J.Y., Carlson B.A., Patterson A.D., Cai H., Gladyshev V.N., Hatfield D.L. // *Antioxid. Redox Signal.* 2010. V. 12. P. 819–827.
76. Mohamed M.M., Sabet S., Peng D.F., Nouh M.A., El-Shinawi M., El-Rifai W. // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2014. 2014:787195.
77. Zhang X., Zheng Z., Yingji S., Kim H., Jin R., Renshu L., Lee D.Y., Roh M.R., Yang S. // *Oncol. Rep.* 2014. V. 31. P. 2587–2592.
78. Fischer K., Kettunen J., Würtz P., Haller T., Havulinna A.S., Kangas A.J., Soininen P., Esko T., Tammesoo M.L., Mägi R., Smit S., Palotie A., Ripatti S., Salomaa V., Ala-Korpela M., Perola M., Metspalu A. // *PLoS Med.* 2014. V. 11. e1001606.
79. Watanabe T., Narumiya S., Shimizu T., Hayaishi O. // *J. Biol. Chem.* 1982. V. 257. P. 14847–14853.
80. Fitzpatrick F.A., Wynalda M.A. // *J. Biol. Chem.* 1983. V. 258. P. 11713–11718.
81. Kikawa Y., Narumiya S., Fukushima M., Wakatsuka H., Hayaishi O. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1984. V. 81. P. 1317–1321.
82. Fitzpatrick F.A., Liggett W.F., Wynalda M.A. // *J. Biol. Chem.* 1984. V. 259. P. 2722–2727.
83. Yang J., Petersen C.E., Ha C.E., Bhagavan N.V. // *Protein Sci.* 2002. V. 11. P. 538–545.
84. Kimzey M.J., Yassine H.N., Riepel B.M., Tsaprailis G., Monks T.J., Lau S.S. // *Chem. Biol. Interact.* 2011. V. 192. P. 122–128.
85. Yamaguchi S., Aldini G., Ito S., Morishita N., Shibata T., Vistoli G., Carini M., Uchida K. // *J. Am. Chem. Soc.* 2010. V. 132. P. 824–832.
86. Wynalda M.A., Fitzpatrick F.A. // *Prostaglandins*. 1980. V. 20. P. 853–861.
87. Georges H., Presle N., Buronfosse T., Fournel-Gigleux S., Netter P., Magdalou J., Lapicque F. // *Chirality*. 2000. V. 12. P. 53–62.
88. Williams A.M., Dickinson R.G. // *Biochem. Pharmacol.* 1994. V. 47. P. 457–467.
89. Drmanovic Z., Voyatzi S., Kouretas D., Sahpazidou D., Papageorgiou A., Antonoglou O. // *Anticancer. Res.* 1999. V. 19. P. 4113–4124.
90. Matsushita S., Isima Y., Chuang V.T.G., Watanabe H., Tanase S., Maruyama T., Otagiri M. // *Pharm. Res.* 2004. V. 21. P. 1924–1932.
91. Gresner P., Dolnik M., Waczuliková I., Bryszewska M., Sikurová L., Watala C. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2006. V. 1760. P. 207–215.
92. Liyasova M.S., Schopfer L.M., Lockridge O. // *Biochem. Pharmacol.* 2010. V. 79. P. 784–791.
93. Gerasimova Y.V., Bobik T.V., Ponomarenko N.A., Shakirov M.M., Zenkova M.A., Tamkovich N.V., Popova T.V., Knorre D.G., Godovikova T.S. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010. V. 20. P. 1427–1431.
94. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (NC-IUBMB), The Enzyme List, Class 3 – Hydrolases, Generated from the ExplorEnz database, September. 2010.
95. Schomburg D., Schomburg I. *Springer Handbook of Enzymes. EC Number Index.* Berlin; Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 2013.
96. Курдюков И.Д., Шмурак В.И., Надеев А.Д., Войтенко Н.Г., Прокофьева Д.С., Гончаров Н.В. // *Токсикологический Вестник.* 2012. Т. 6. С. 6–13.
97. Devonshire A.L., Moores G.D. // *Pesticide Biochem. and Physiol.* 1982. V. 18. P. 235–246.
98. Augustinsson K.B., Heimburger G. // *Acta Chem. Scand.* 1954. V. 8. P. 753–761.
99. Augustinsson K.B., Heimburger G. // *Acta Chem. Scand.* 1954. V. 8. P. 762–767.
100. Augustinsson K.B., Heimburger G. // *Acta Chem. Scand.* 1954. V. 8. P. 1533–1541.
101. Cohen J.A., Warringa M.G.P.J. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1957. V. 26. P. 29–39.
102. Mounter L.A. // *The Enzymes* / Eds Boyer P.D., Lardy H., Myrback K. New York: Acad. Press, 1960. P. 541–550.
103. Reiner E., Aldridge W.N., Hoskin C.G. *Enzymes Hydrolysing Organophosphorus Compounds.* Chichester: Ellis Horwood Ltd., 1989.

104. *Davies H.G., Richter R.J., Keifer M., Broomfield C.A., Sowalla J., Furlong C.E.* // *Nat. Genet.* 1996. V. 14. P. 334–336.
105. *Aviram M., Vaya J.* // *Curr. Opin. Lipidol.* 2013. V. 24. P. 339–344.
106. *Gan K.N., Smolen A., Eckerson H.W., La Du B.N.* // *Drug. Metab. Dispos.* 1991. V. 19. P. 100–106.
107. *Jakubowski H.* // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 3957–3962.
108. *Jakubowski H., Ambrosius W.T., Pratt J.H.* // *FEBS Lett.* 2001. V. 491. P. 35–39.
109. *Furlong C.E., Richter R.J., Chaplineand C.J., Crabb W.* // *Biochemistry.* 1991. V. 30. P. 10133–10140.
110. *Hassett C., Richter R.J., Humbert R., Chapline C., Crabb J.W., Omiencinski C.J., Furlong C.E.* // *Biochemistry.* 1991. V. 30. P. 10141–10149.
111. *Khersonsky O., Tawfik D.S.* // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. P. 7649–7656.
112. *Acay A., Erdenen F., Altunoglu E., Erman H., Muderrisoglu C., Korkmaz G.G., Gelisgen R., Tabak O., Uzun H.* // *Clin. Lab.* 2013. V. 59. P. 1331–1337.
113. *Atli M.* // *Afr. Health Sci.* 2013. V. 13. P. 565–570.
114. *Kati C., Karadas S., Aslan M., Gonullu H., Duran L., Demir H.* // *J. Membr. Biol.* 2014. V. 247. P. 17–21.
115. *Walker C.H.* // *Chem. Biol. Interact.* 1993. V. 87. P. 17–24.
116. *Sogorb M.A., Carrera V., Vilanova E.* // *Arch. Toxicol.* 2004. V. 78. P. 629–634.
117. *Pen J., Beintema J.J.* // *Biochem. J.* 1986. V. 240. P. 933.
118. *McDonald A.G., Tipton K.F.* // *FEBS J.* 2014. V. 281. P. 583–592.

On the Enzymatic Activity of Albumin

N. V. Goncharov^{*, **, #}, D. A. Belinskaia^{*}, A. V. Razygraev^{***}, A. I. Ukolov^{**}

[#]Phone: +7(921) 905-89-10, e-mail: ngoncharov@gmail.com

^{*}*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences (IEPhB RAS), pr. Toreza 44, Saint-Petersburg, 194223 Russia*

^{**}*Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology (RIHOPHE), Saint Petersburg, Russia*

^{***}*Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Saint Petersburg, Russia*

Albumin molecule, unlike molecules of many other plasma proteins, is not covered with carbohydrate shell. It plays a crucial role in maintaining of colloid osmotic pressure of the blood, and is able to bind and transport various endogenous and exogenous molecules. The enzymatic activity of albumin, the existence and the role of which most researchers are still skeptical to accept, is of the main interest to us. In this review, a history of the issue is traced, with particular attention to the esterase activity of albumin. The kinetic and thermodynamic characteristics of the interaction of albumin with some substrates are adduced, and possibility of albumin being attributed to certain groups of Enzyme Nomenclature is considered.

Keywords: albumin, esterases, thiol peroxidases, organophosphorus compounds, molecular docking