

## ЗАОЧНАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

© ТИТОВ В.Н., ШОЙБОНОВ Б.Б., 2016

УДК 577.115.3

Титов В.Н.<sup>1</sup>, Шойбонов Б.Б.<sup>2</sup>

### ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОГЛОЩЕНИЯ КЛЕТКАМИ НЕЭТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ; АЛЬБУМИН, КАВЕОЛИН, КЛАТРИН И ЛИПИДСВЯЗУЮЩИЕ БЕЛКИ ЦИТОПЛАЗМЫ (ЛЕКЦИЯ)

<sup>1</sup>ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, Москва;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина» РАН, Москва

*С позиций филогенетической теории общей патологии ожирение и метаболический синдром являются патологией жировых клеток, однако первое – это патология филогенетически ранних висцеральных жировых клеток (ВЖК) сальника; они обеспечивают субстратами энергии реализацию биологических функций трофологии, гомеостаза, эндоэкологии и адаптации. ВЖК сальника не имеют рецепторов к инсулину, адаптивно синтезируют лептин и для них не характерна биологическая реакция пролиферации. Ожирение – патология поздних в филогенезе подкожных адипоцитов; они инсулинзависимы и обеспечивают субстратами энергии реализацию одной биологической функции локомоции – движения за счет сокращения поперечнополосатых миоцитов. Адипоциты в плане адаптации синтезируют гуморальный медиатор адипонектин и активно реализуют биологическую реакцию пролиферации. При обоих афизиологичных состояниях возрастает пассивное, по градиенту концентрации поглощение клетками не связанных с альбумином свободных жирных кислот (СЖК) в неионизированной форме в составе мицелл. Пассивное, афизиологичное поглощение клетками СЖК, которые при внутриклеточной компартментализации не окисляют митохондрии, приводит к синтезу, накоплению триглицеридов (ТГ) в цитоплазме клеток, которые физиологично этого не делают. Афизиологичное поглощение клетками СЖК, этерификация их в ТГ, в частности в филогенетически поздних β-клетках островков и столь же поздних кардиомиоцитах, которые жирные кислоты de novo не синтезируют, приводит к формированию афизиологичных процессов и нарушению функции. С позиций биологии эти клетки in vivo подвержены гибели по типу апоптоза. Образование телец апоптоза нарушает биологическую функцию эндоэкологии, активируя биологическую реакцию воспаления.*

**Ключевые слова:** жирные кислоты; неэтерифицированные жирные кислоты; свободные жирные кислоты; альбумин; кавеолы; клатрин.

**Для цитирования:** Титов В.Н., Шойбонов Б.Б. Физико-химические, биологические основы поглощения клетками неэтерифицированных жирных кислот; альбумин, кавеолы, клатрин и липидсвязующие белки цитоплазмы (лекция). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (3): 155-166.

DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-3-155-166.

Titov V.N.<sup>1</sup>, Shoibonov B.B.<sup>2</sup>

THE PHYSICAL CHEMICAL, BIOLOGICAL BASICS OF CELLS ABSORPTION OF UNESTERIFIED FATTY ACIDS; ALBUMIN, CAVEOLIN, CLATHRIN AND LIPID-BINDING PROTEINS OF CYTOPLASM (THE LECTURE)

<sup>1</sup>The Russian cardiologic R&D production complex of Minzdrav of Russia, 121552 Moscow, Russia; <sup>2</sup>The P.K. Anokhin research institute of normal physiology of the Russian academy of sciences, Moscow

*From a position of phylogenetic theory of general pathology, obesity and metabolic syndrome are pathology of fatty cells. However, the first is a pathology of phylogenetically early visceral fatty cells of omentum. They supply with substratum of energy realization of biologic function of trophology, homeostasis, endoecology and adaptation. The visceral fatty cells of omentum have no receptors to insulin and synthesize adaptively insulin and they are not characterized by biologic reaction of proliferation. The obesity is a pathology of late in phylogenesis subcutaneous adipocytes. They are insulin-dependent and supply with substratum of energy realization of one biologic function of locomotion - movement at the expense of constriction of cross-striated miocytes. The adipocytes in terms of adaptation synthesize humoral mediator adiponectin and actively implement biologic function of proliferation. Under both aphysiologic conditions increases passive by gradient of concentration, absorption by cells albumin-unbound free fatty acids in unionized form in micellae's composition. The passive aphysiologic absorption of free fatty acids by cells which under intracellular compartmentalization don't oxidize mitochondria results in synthesis, accumulation of triglycerides in cytoplasm of cells which don't implement it physiologically. The aphysiologic absorption of free fatty acids by cells, their etherification in triglyceride, in particular, in phylogenetically late β-cells of islets and either late cardiomyocytes which fatty acids don't synthesize de novo results in development of aphysiologic processes and disorder of function. From position of biology, these cells in vivo are subjected to loss similar to apoptosis. The formation of corpuscles of apoptosis compromise biologic function of endoecology activating biologic reaction of inflammation.*

**Key words:** fatty acids; unesterified fatty acids; free fatty acids; albumin; caveolin; clatrin

Для корреспонденции: Титов Владимир Николаевич, д-р мед. наук, проф., руководитель лаборатории клинической биохимии липопротеинов Института клинической кардиологии ФГБУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздрава РФ, 121552, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15-а, e-mail: vn\_titov@mail.ru

**For citation:** Titov V.N., Shoibonov B.B. The physical chemical, biological basics of cells absorption of unesterified fatty acids; albumin, caveolin, clathrin and lipid-binding proteins of cytoplasm (the lecture). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2016; 61 (3): 155-166. (in Russ.)*

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-3-155-166.

**For correspondence:** Titov V.N., doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of clinical cardiology of Institute of clinical cardiology of The Russian cardiologic R&D production complex of Minzdrav of Russia. e-mail: vn\_titov@mail.ru

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Financing.** The study had no sponsor support.

Received 19.11.2015

Accepted 15.12.2015



Согласно предложенной нами филогенетической теории общей патологии, биологическая реакция эндоцитоза, сформированная на самых ранних ступенях филогенеза, на аутокринном (клеточном) уровне, явилась далее основой реализации клетками, паракринно регулируемые сообществами клеток, органами и организмом многих биологических функций: трофологии (питания), биологической функции гомеостаза, биологической функции эндоэкологии и функции адаптации. У клеток-экзотрофов, начиная с древних архей, биологическая реакция эндоцитоза (поглощение из внеклеточной среды) является основой обеспечения их как субстанциями для построения клеточных структур, так и субстратами для наработки клетками биологически трансформируемой энергии в форме аденозинтрифосфата, в реакции  $ATP \rightarrow ADP \rightarrow ATP$ . Трудно представить, что столь ранние в филогенезе биологические реакции, как внеклеточное пищеварение, составляют основу патогенеза афизиологических процессов *in vivo* у высших животных, приматов и вида *Homo sapiens*. Нарушение биологической функции трофологии, функции питания является основой формирования всех «метаболических пандемий», болезней цивилизации. И если частота неинфекционного заболевания в популяции превышает 5–7%, основой патогенеза таких процессов (нозологических форм заболеваний) является нарушение биологических функций и биологических реакций, которые сформировались на ранних ступенях филогенеза. Это в полной мере относится ко всем «метаболическим пандемиям», болезням цивилизации.

Трудно составить представление о последовательности всех вариантов эндоцитоза, которые реализованы клетками последовательно на ступенях филогенеза в течение миллионов лет. Согласно методологическому приему общей биологии – преимственности становления биологических

функций и биологических реакций, основное внимание уделено совершенствованию того, что сформировано на более ранних ступенях филогенеза. Наиболее ранним субстратом, который начали поглощать самые древние клетки архей с целью наработки энергии, можно полагать, стала уксусная кислота – неорганический ацетат, циклический диацетат и в конечном итоге в клетке – ацетил-КоА. Позже на ступенях филогенеза субстратом для наработки энергии в митохондриях архей стали гидрофильные метаболиты масляной кислоты – кетонные тела (ацетоацетат и  $\beta$ -гидроксипутират). В то же время уже  $C_4$  масляная кислота является гидрофобной, не говоря о коротко-, средне- и длинноцепочечных жирных кислотах (ЖК), для переноса которых в гидрофильной, межклеточной среде необходимы белки-переносчики. Они доставляют ЖК к клеткам; преодолеть же бислой полярных фосфолипидов (ФЛ) плазматической мембраны клеток ЖК помогают белки-транспортеры. Все биохимические и физико-химические реакции *in vivo* в полной мере определены индивидуальными параметрами каждой из ЖК. На самых ранних ступенях филогенеза, на уровне древних архей, полных экзотрофов, «речи» о глюкозе еще многие миллионы лет не было.

Какими бы ни были варианты поглощения клетками ЖК в полярной форме незатерифицированных ЖК (НЭЖК), в ионизированном или неионизированном состоянии, алгоритм поглощения и окисления ЖК митохондриями является единым. 1. Белки-переносчики в межклеточной (внешней) среде доставляют НЭЖК к плазматической мембране клеток, связывая ЖК с мембраной. 2. Белок-транспортер формирует переход ионизированной НЭЖК через бислой полярных ФЛ в цитоплазму клеток. 3. Белки-переносчики доставляют НЭЖК в клетках от плазматической мембраны к митохондриям. 4. Индивидуальные ЖК с разной константой скорости реакции, физико-химически и с биохимической активацией, проходят внутреннюю мембрану митохондрий.

Эти параметры индивидуальные физико-химические особенности каждой из ЖК и определяют производительность, эффективность, количество нарабатанного в цикле Кребса и дыхательной цепи макроэргического АТФ. Различают 3 типа эндоцитоза: а) жидкофазный, жидкостный; б) неспецифичный сорбционный и в) специфичный рецепторный. Согласно филогенетической теории общей патологии, для преодоления бислоя полярных ФЛ плазматической мембраны первой на ступенях филогенеза последовательно отработана: а) система эндоцитоза – фагоцитоза – пиноцитоза (рис. 1); б) позже – система кавеолинами опосредованного эндоцитоза и в) миллионами лет позже – специфичный, высокоэффективный рецепторный эндоцитоз; обусловлен он функцией филогенетически позднего белка клеток клатрина. При жидкофазном эндоцитозе в кавеоле и эндосоме находилась межклеточная среда с растворенными (взвешен-

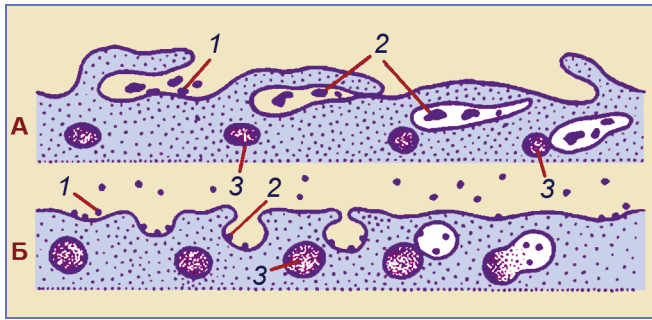


Рис. 1. Биологическая реакция эндоцитоза.

*a* – эндоцитоз с переходом ферментов из лизосом в образованные вакуоли с поглощенными частицами; *б* – эндоцитоз и слияние эндосом с лизосомами. 1 – связывание липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) с плазматической мембраной гепатоцитов; 2 – погружение в цитоплазму; 3 – первичные лизосомы.

ными) макромолекулами; со стенками «впячивания» они не взаимодействовали. При кавеолярном эндоцитозе субстраты связывались с внутренней поверхностью эндосомы силами гидрофобного взаимодействия и при рецепторном, клатринзависимом эндоцитозе это стало взаимодействием лиганд – рецептор.

*Филогенетически ранний кавеолярный, дорецепторный эндоцитоз.* Кавеолины – группа белков, ассоциированная с мембраной клеток, которая обеспечивает ранний в филогенезе не рецепторный, не столь специфичный, но все-таки эффективный эндоцитоз. У позвоночных животных выявлены 3 типа кавеолина со сходной структурой: кавеолин-1, кавеолин-2 и кавеолин-3. В мембране клеток кавеолин, не будучи интегральным протеином, собирается в олигомеры, связывает спирт холестерин (ХС) и гидрофобные ФЛ (сфинголипиды) в локальных участках клеточной мембраны, в структуре рафтов, плотов. Это фрагменты плазматической мембраны, которые бактериальные клетки в процессе симбиотического слияния «приватизировали» от древних архей. На ранних ступенях филогенеза одновременно произошла «приватизация» бактериальными клетками: а) фрагментов плазматической мембраны митохондрий – выражено гидрофобных рафтов с системами поглощения ЖК, как CD36; б) митохондрий с биохимическими реакциями цикла Кребса и физико-химическими реакциями дыхательной цепи вместе с митохондриальным геномом и в) семейства белков – переносчиков ЖК в цитоплазме клеток. Выражено гидрофобные плоты, рафты в клеточной мембране располагаются между наружным и внутренним монослоями полярных ФЛ.

У филогенетически ранних кавеол белки кавеолины обеспечивают инвагинацию плазматической мембраны, «захват» переносимых субстратов путем изменения состава липидов в мембране, а не путем специфичного окружения протеинами; это характерно для более позднего в филогенезе клатринового эндоцитоза. Вероятно, кавеолины принимают участие в оптимизации структуры липидов в составе ранних рафтов от архей при взаимодействии с функци-

ональными липидами мембран – фосфатидилхолином (ФХ) и полярным спиртом ХС. «Отшнуровывание» кавеосомы от плазматической мембраны производит белок динамин. После этого кавеолы доставляют содержимое в кавеосому, сходную с эндосомой, либо путем транцитоза переносят на противоположный конец функционально полярной клетки. Кавеосома может далее сливаться с другой кавеосомой или с первичной эндосомой. Таким эндо+экзо в итоге транцитозом происходит, к примеру: а) перенос альбумина в эпителии проксимальных канальцев нефрона и б) интернализация рецепторов к инсулину в подкожных адипоцитах.

Кавеолы формируют плазматические везикулы на мембране всех клеток. Изменение кривизны кавеол отражает разные этапы инвагинации эндосом. Кавеолы – динамичные структуры мембраны, которые изменяют форму в ответ на связывание субстрата и формируют в итоге жидкостный эндоцитоз. Кавеолы осуществляют эндоцитоз макромолекул белка, гликопротеинов и ионов. Пока не найдено маркеров, которые позволили бы специфично охарактеризовать этот филогенетически ранний вариант жидкостного эндоцитоза. Кавеолы при эндоцитозе позволяют клеткам поглощать и низкомолекулярные вещества, в частности витамины, тоже часто ассоциированные с альбумином. Кавеолы задействованы и в функции АТФ-зависимых, рециркуляторных каскадных АВС-транспортеров.

Кавеолы транспортируют в клетки малые молекулы и ионы; действие кавеолина можно нарушить, если сорбировать полярный спирт ХС из наружного монослоя мембраны. Это доказывает важную роль ХС в формировании гидрофобного стriaрного (исчерченного) покрытия – белков кавеолинов. Инкубация клеток с филлипином или нистатином приводит

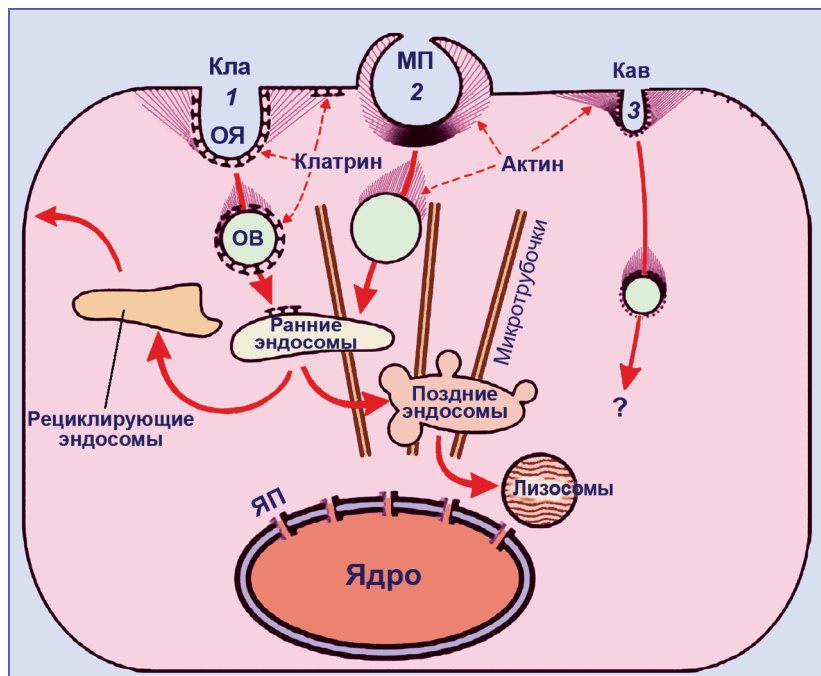


Рис. 2. Схема основных путей эндоцитоза.

1 – клатринзависимый эндоцитоз (Кла); 2 – макропиноцитоз (МП), фагоцитоз с участием нитей актина; 3 – кавеолинзависимый эндоцитоз (Кав) – альтернативный вариант поглощения субстратов. Кавеолы – гидрофобные домены мембраны при действии белка клатрина. ОВ – окаймленные клатриновые везикулы. ЯП – поры в мембране ядра. Лизос. – лизосомы.



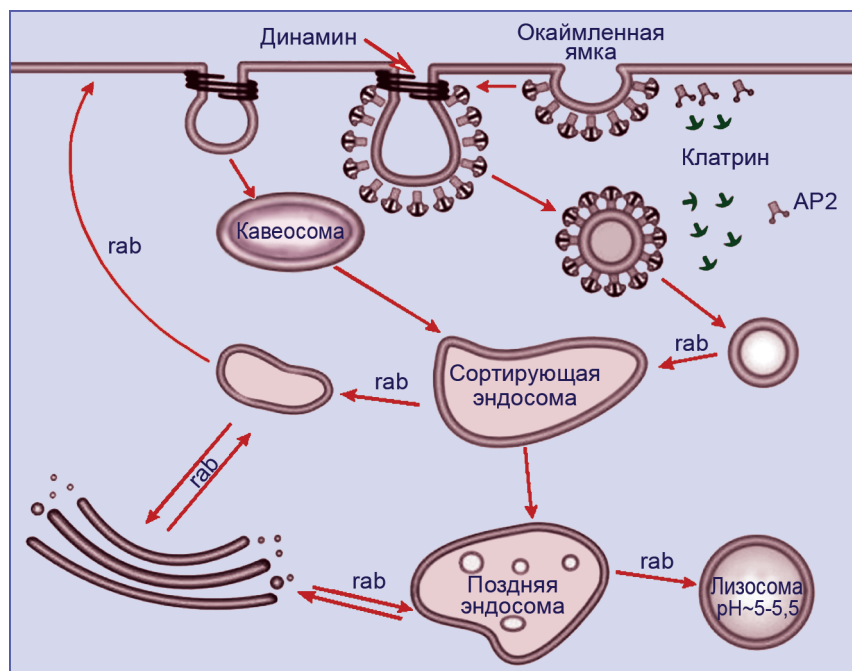


Рис. 3. Строение кавеолы, «впячивание» плазматической мембраны и расположение специфического белка клатрина. rab – комплекс протеинов с неясной функцией и микротрубочек.

к полной деструкции кавеол на поверхности плазматической мембраны. Одновременно в этих условиях ни клатриновое покрытие, ни актин, ни другие структуры клеточной мембраны при сорбции ХС из мембраны структуры не меняют. В кавеолах располагаются специфические, заякоренные в рафтах плазматической мембраны белки, которые функционально связаны с трансмембранными протеинами и реализуют специфические функции (рис. 2).

Кавеолы формируются в структуре более гидрофобных, филогенетически ранних доменов (рафтов, плотов), от архей, которые содержат кавеолин. Этот вид эндоцитоза является менее изученным; функциональной особенностью кавеол является то, что они не «зациклены» на переносе поглощенных клеткой субстратов только в лизосомы. Вероятно, сочетанно это функциональные пути поглощения, формирования филогенетически ранних структур в клетках, которые призваны исполнять и ранние физиологические функции трофологии, гомеостаза, реализовать биологическую функцию эндоцитологии и адаптации, в частности биологическую реакцию внеклеточного пищеварения.

Кавеолы связывают, поглощают и эндосомы, которые иные клетки путем экзоцитоза выводят (секретируют) в кровотока. Подобные экзо-эндосомы могут переносить и регуляторную информацию для иных клеток; эндосомы могут содержать гуморальные, гормональные медиаторы, как это происходит в синапсах вегетативной нервной системы, а также микроформы ДНК. Эндосомы рассматривают как один из возможных, наиболее ранних вариантов общения клеток в рамках паракринно регулируемых сообществ. Некоторые авторы именуют такую гипотетическую регуляторную функцию эндосом термином «бутылочная почта».

*Филогенетически поздний клатриновый, рецепторный эндоцитоз.* Клатрин – консервативный фибриллярный белок (мол. масса 180 кД), который вместе с другим полипептидом (мол. масса 35 кД) формирует по сути многогранный «че-

хол» на поверхности окаймленных везикул. Основным структурным компонентом его служит трехвалентный белковый комплекс (трискелион); состоит он из трех цепей полипептида клатрина и трех меньших по размеру полипептидов. Трискелионы образуют на поверхности окаймленных пузырьков сетки из шести- и пятиугольников. Остальные белки, входящие в состав мембраны окаймленных пузырьков, видимо, отвечают за связывание клатриновой оболочки разных специфических рецепторов на окаймленных ямках и эндосомах из клеточной мембраны (рис. 3).

Филогенетически более поздний, клатринзависимый эндоцитоз характеризует то, что связующими субстраты компонентами при формировании кавеол и действии клатринов являются специфические рецепторы, которые связывают столь же специфические лиганды. Начинается процесс эндоцитоза с инвагинацией плазматической мембраны, формирования окаймленных клатрином ямок и последующего обособления окаймленных клатриновых везикул при действии белка динамина. В эндоцитозе задействованы и нити фибриллярного белка актина. Макропиноцитоз характеризует формирование впячиваний мембраны с активным участием нитей фибрина. После инвагинации плазматической мембраны поглощенные везикулы переносят субстраты к первичным эндосомам. После этого поглощенный субстрат может быть: а) выведен в межклеточную среду при действии рециркулируемых эндосом или б) перенесен в поздние эндосомы и далее лизосомы для утилизации. Направленное перемещение субстратов в цитоплазме обеспечивают микротрубочки цитоплазмы и вспомогательные протеины (рис. 4).

Несмотря на изложение многих сведений, до сих пор не описаны функционально-кинетические свойства ни для одного из белков плазматической мембраны, которые связывают ЖК. Все полученные сведения относятся к характеристике структур, а не функции. Белки-транспортёры реально связывают ЖК, но не катализируют химические изменения в молекуле; они обеспечивают необходимую стабильность гидрофобных веществ во вне- и внутриклеточном пространствах и перемещение их между органеллами клеток. Большинство транспортных систем подвержены адаптивной регуляции: гормоны регулируют транспорт субстратов через мембрану, в частности аминокислот, путем экспрессии синтеза переносчиков с большей мерой специфичности и аффинности. Гормоны изменяют интенсивность транспорта субстратов при гиперполяризации мембран – повышение проницаемости для  $K^+$  и снижение – для  $Na^+$ . Такой же результат проявляется при воздействии на активность клеточной помпы –  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФазы. Часть экзогенных субстратов и медиаторов попадает в клетки в заряженной форме. Распределение их между клеткой и средой зависит от величины трансмембранного потенциала. Приведенные данные указывают и на транспорт в клетку ксенобиотиков путем пассивной облегченной диффузии. Эти системы наиболее чувствительны к действию ингибиторов биохимических реакций.

Транспорт ЖК через плазматическую мембрану перво-

начально рассматривали как пассивную диффузию. Однако измерение кинетических параметров прояснило, что транспорт длинноцепочечных ЖК в клетках осуществляют белки-транспортёры. Выделены и охарактеризованы 5 белков плазматической мембраны, которые с высокой аффинностью связывают ЖК. Полагают, что эти белки участвуют и в транспорте ЖК через мембрану; из них удалось клонировать: а) белок плазматической мембраны, связывающий ЖК; б) интегральную транслокасу ЖК и в) белок, переносящий ЖК в цитоплазму.

CD36-транслоказа ЖК состоит из двух доменов: один – с короткой цепью, расположен в цитоплазме, второй – с большим гликированным, внеклеточным доменом в форме петли; вероятно, он «втягивает» ЖК в мембрану «как бы петлей». Этот интегральный белок плазматической мембраны связывает длинноцепочечные ЖК с высоким сродством, перенося их через плазматические мембраны; однако это не активный, а только активированный транспортоблегченная диффузия. Последовательность остатков аминокислот белка в рецепторах к липопротеинам (ЛП) частично гомологична CD36; поэтому он может быть и рецептором для ЛП, а также медиатором адгезии и агрегации тромбоцитов. Аминокислотная последовательность его идентична аспаратаминотрансферазе митохондрий. Это, вероятно, пример того, как один белок на разных ступенях филогенеза может быть задействован в реализацию разных функций в зависимости от его локализации в разных компартаментах клеток. Белки – переносчики ЖК имеют разные N-концы, среди которых выделяют 5 групп и единый консервативный домен, обращенный в цитоплазму.

Белки, переносящие ЖК в форме полярных НЭЖК в межклеточной среде. Структурное сходство альбумина, который с высокой аффинностью связывает в межклеточной среде насыщенные ЖК (НЖК) и мононенасыщенные ЖК (МЖК),  $\alpha$ -фетопропротеина, который более активно ассоциирует ненасыщенные ЖК (ННЖК) и полиненасыщенные ЖК (ПНЖК) и витамин D-связывающего белка, а в равной мере и их ге-

нов, которые экспрессируют синтез, указывает, что они члены одного семейства функциональных протеинов. Витамин D-связывающий белок взаимодействует с мембраной клеток, включая субпопуляции Т- и В-лимфоцитов. Во всех трех белках тиоэфирные связи (S-S) расположены почти одинаково. У крыс при генетически обусловленном отсутствии альбумина в крови постоянно высок уровень спиртов – ХС, триглицеридов (ТГ) и ЛПВП; содержание в плазме крови апоВ-100 также повышено. На ступенях филогенеза становление функциональной активности этих протеинов произошло сочетанно.

При анальбуминемии в крови увеличивается содержание ТГ и ЭХС – эфиров ЖК со спиртом глицерином и спиртом ХС. У крыс линии Nagase при отсутствии альбумина основную массу ЖК к клеткам в форме полярных НЭЖК переносят ЛП, включая апоЕ/А-I ЛПВП у части видов животных. Одновременно при врожденной гипоальбуминемии синтез и секреция гепатоцитами секретируемого фермента – лецитинхолестеринацилтрансферазы (ЛХАТ) повышена. Не исключено, что в афизиологических условиях в переносе ЖК к клеткам компенсаторно вовлечены и полярные ФЛ фосфатидилхолины (ФХ) с образованием лизофосфатидилхолинов.

У крыс линии Nagase при отсутствии *in vivo* инсулина перенос в крови НЖК и МЖК блокирован на уровне гидролиза ТГ, на этапе липолиза. Содержание в плазме крови ТГ повышено в 7 раз, ХС – в 4 раза, ФЛ – в 7 раз; в большей мере это выражено у самок. Одновременно в несколько раз повышена в плазме крови концентрация аполипопротеина апоА-I, апоЕ и апоВ-100. Особенно велико в крови содержание ЛП очень низкой плотности (ЛПОНП); физиологично в ЛП низкой плотности (ЛПНП) превращается лишь небольшая часть апоВ-100 ЛПОНП. Если физиологично отношение ХС/ТГ в ЛПНП составляет 16–18, при гипоальбуминемии – только 4–6. Это следствие нарушения переноса к клеткам НЖК+МЖК в составе ЛПОНП при блокаде действия, в первую очередь, постгепариновой липопротеинлипазы (ЛПЛ). При этом уровень фракционного катаболизма ЛПОНП не нарушен; активность ЛПЛ сохранена, но нет акцептора продуктов реакции; некому связывать НЭЖК, что физиологично и осуществляет альбумин. При этом способность апоЕ/В-100-рецепторов на плазматической мембране инсулинзависимых клеток также сохранена. Причиной накопления в крови пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП и гипертриглицеридемии является только ан- или гипоальбуминемия (рис. 4).

Отсутствие белка создает определенные проблемы и со связыванием лизоФХ, акцептором которого тоже является альбумин. Потенциально он является активным детергентом с выраженным гемолитическим действием; высокое содержание лизоФХ в крови инициирует гемолитическую анемию. При анальбуминемии снижено в крови количество эритроцитов; отсутствие альбумина – причина анемии и повышения у крыс проницаемости эритроцитов для  $K^+$ . Выраженного гемолиза все-таки не проис-

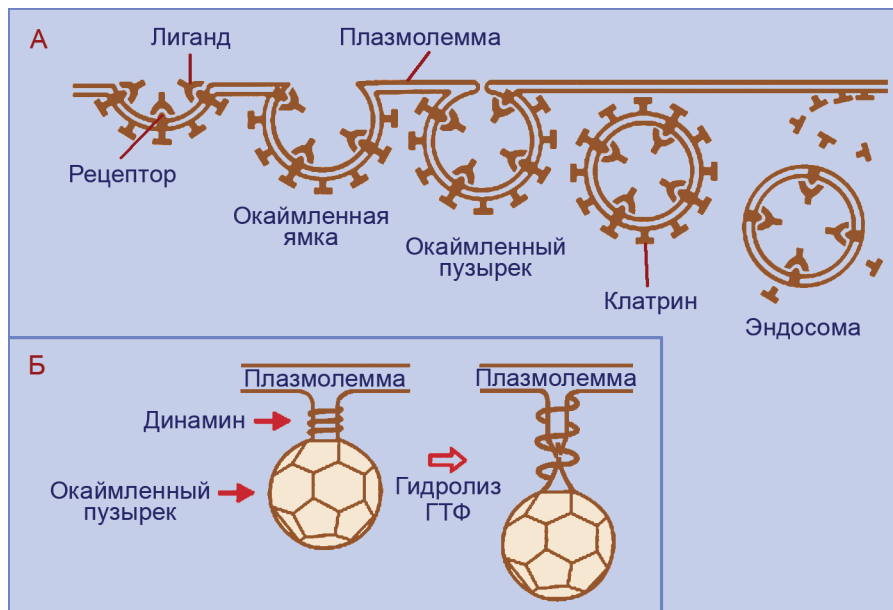


Рис. 4. Рецепторное поглощение клетками лигандов с образованием последовательно окаймленной ямки, пузырька и эндосомы. Образование структуры трискелиона и функция белка динамина.

ГТФ – гуанозинтрифосфат.

ходит; полярный лизоФХ, образуемый при действии ЛХАТ при синтезе моноэфиров ХС (моно-ЭХС), компенсаторно связывают ЛПВП.

Важно оценивать одновременно весь комплекс нарушений переноса НЖК+МЖК и ННЖК при отсутствии в крови альбумина. Повышение в крови ТГ указывает на нарушение переноса НЖК+МЖК в составе ЛПОНП, а гиперхолестеринемия – на блокаду поглощения клетками и накопление в крови пальмитиновых ЛПНП, которых в крови физиологично не бывает. Этерификация холестерином ПНЖК, как и перенос их из ЛПВП в состав ЛПОНП, не нарушена. Физиологично этерифицированные спиртом ХС полиеновые ЖК (поли-ЭХС) переходят в линолевые и линоленовые ЛПОНП. При этом большое количество НЭЖК связываются с ЛПНП. Добавление альбумина увеличивает перенос поли-ЭХС из ЛПВП в состав ЛПНП более значительно, чем у контрольных животных.

В отсутствие альбумина ЖК встраиваются и в поверхностный монослой ФЛ + ХС в ЛПОНП. Увеличение заряда ЛПОНП способствует формированию тройственного ассоциата (ЛПВП + белок, переносящий полиеновые эфиры ХС, + ЛПОНП) и переходу поли-ЭХС по градиенту концентрации из ЛПВП в линолевые и линоленовые ЛПОНП. При анальбуминемии содержание поли-ЭХС в ЛПНП увеличено. Спонтанная модель анальбуминемии раскрывает биологический вариант компенсаторного переноса ЖК в условиях дефекта генов. Несмотря на то что в межклеточной среде нет альбумина, гидролиз ТГ все-таки происходит. Освобожденные НЭЖК встраиваются в монослой полярных липидов в составе ЛП, а образованные диглицериды переходят в полярные по структуре ЛПВП. В составе ЛПВП диглицериды гидролизует диглицеролгидролаза. В составе ЛПВП раздельно (компартиментализованно) происходит этерификация: а) экзогенных ПНЖК с образованием неполярной их формы – поли-ЭХС и б) эндогенного спирта ХС с образованием неполярной его формы – моно-ЭХС; этерификации ННЖК со спиртом ХС в ЛПВП не происходит.

В межклеточной среде основную массу экзогенных эссенциальных ПНЖК ко всем клеткам переносят вначале ЛПВП, а далее у большинства видов животных ЛПНП; у некоторых видов животных ЛПВП. Усиление встраивания НЭЖК в состав ЛПНП изменяет их заряд, создавая условия более быстрого передвижения ЛП в электрическом поле. Одновременно отсутствие альбумина *in vivo* приводит к афизиологичным изменениям: развиваются отеки, явления миопатии и остеомалации как симптомы врожденной патологии. У части пациентов с анальбуминемией формируется роговичная дуга – свидетельство сниженной активности ЛХАТ и нарушения оттока от клеток спирта ХС.

Для альбумина характерен полиморфизм генов: описано более 100 вариантов врожденно обусловленных изменений в первичной структуре. По частоте мутаций альбумин занимает 2-е место *in vivo* вслед за гемоглобином. Позитивно заряженные аминокислоты электростатически взаимодействуют с отрицательным зарядом карбоксильных групп ЖК. Формируются фракции афизиологичного альбумина и при воздействии двухвалентных катионов кадмия; это, как действие «химического оружия пищевого», обуславливает развитие «пивной» гиперлиппротеинемии (ГЛП) типа V по Д. Фредриксону. Гетерогенность альбумина, которую выявляют при зональном электрофорезе на разных поддерживающих средах, происходит по причине: а) ассоциации альбумина с небелковыми компонентами двухвалентными катионами; б)

таутомерии в молекуле альбумина при наличии третичной структуры и в) полимеризации белка, формирования ди- и тримеров.

*Поступление в клетку НЖК и МЖК из ассоциатов с альбумином.* Взаимодействие альбумина с мембраной является этапом в поглощении клетками НЖК+МЖК; в большей мере это относится к гепатоцитам. Альбумин стимулирует поглощение клетками олеиновой МЖК при всех отношениях ее с белком-переносчиком. Кинетические параметры поглощения клетками олеиновой МЖК зависят от насыщенности ею альбумина и количества олеиновой МЖК, которое не связано с альбумином. При этом одновременно функционируют 2 процесса: активный и пассивный транспорт в клетки полярных НЖК + МЖК: первый – в связи с альбумином и второй – вне связывания. Последний процесс – поступление в клетки ЖК без заряда клетки регулировать не могут; нередко поступление оказывается пассивным и всегда афизиологичным. Меченые ЖК связываются с мембраной насыщаемым и ненасыщаемым способами. Клетки поглощают олеиновую МЖК в ассоциации с альбумином и в пуле не связанных с альбумином свободных ЖК (СЖК) в форме мицелл.

Поглощение клетками олеиновой ЖК – результат контакта альбумина с белками плазматической мембраны; наружный монослой ФЛ+полярный ХС активируют диссоциацию с альбумином олеиновой МЖК. Кавеолы – место связывания клетками разных лигандов, перед тем как они будут поглощены путем эндоцитоза. Кавеолы связывают и альбумин, в отсутствие кавеолина клетки альбумин не связывают; механизмы этого окончательно не установлены. Связывание альбумина гепатоцитами, кардиомиоцитами, монослоем эндотелия является насыщаемым. «Рецепторы» к альбумину найдены на клетках монослоя эндотелия; они вовлечены в эндоцитоз альбумина + ЖК при взаимодействии его с филогенетически ранними кавеолинами.

Кавеолы обеспечивают преодоление плазматической мембраны при поглощении клетками длинноцепочечных ЖК путем диффузии через бислой полярных ФЛ. Взаимодействие с кавеолином характерно для связанных с альбумином ЖК; это не происходит только при гидрофобной ассоциации с мембраной мицелл СЖК. Взаимодействие альбумина с кавеолином не нарушает ни целостность, ни свойства мембраны; процесс характерен для поглощения МЖК+НЖК всеми филогенетически поздними миоцитами. Когда из миокарда морской свинки выделили белок, связывающий ЖК, при электрофорезе в геле агарозы он имел 4 полосы. Белок опосредованно влияет на активность АТФ/АДФ транслоказы митохондрий и микросомальной ацил-КоА-синтазы. Все субстраты для наработки энергии, которые поглощены кардиомиоцитами, поступают в митохондрии при функции филогенетически ранних белков цитоплазмы, которые переносят ЖК.

Гепатоциты физиологично поглощают только те ЖК, которые связаны с альбумином. Это происходит при транзитном связывании альбумина с аффинными местами на поверхности кавеол; диссоциация альбумина из ассоциата с филогенетически поздним клартином определена скоростью, с которой гепатоциты поглощают ЖК. Полагают, что синусоиды в печени являются специфичными структурами, в которых происходит быстрое поглощение гепатоцитами ЖК при активированной диссоциации альбумина. Вероятно, в ассоциации альбумин – мембрана и происходит диффузия ЖК в наружный монослой ФЛ. Возможно, в кавеоле диссоциация и преодоление мембраны осуществлены и в более специфичных условиях. Когда кролику одновременно внутри-



венно инъецировали альбумин и витамин D-связывающий белок, второй протеин более быстро покидал плазму крови по сравнению с альбумином; период полувыведения альбумина составляет 5 дней. В отличие от альбумина витамин D-связывающий белок более быстро подвергается экскреции с мочой. В моче метка альбумина найдена во фракции низкомолекулярных пептидов. Витамин D-связывающий белок – глобулин с мол. массой 58 кД, он имеет одно высокоаффинное место связывания.

В физиологических условиях альбумин с высокой аффинностью связывает пальмитиновую, стеариновую НЖК, а также олеиновую МЖК; с ННЖК альбумин взаимодействует с меньшей аффинностью. Повышение в плазме крови уровня НЭЖК происходит при новообразованиях, сахарном диабете, ишемических нарушениях и гипоксии, при активном иммунном ответе и метаболическом синдроме. Повышение содержания в плазме крови НЭЖК ингибирует цитотоксичность Т-лимфоцитов. Связываясь с мембраной, альбумин приобретает иную конформацию; это инициирует фазовый, конформационный переход, обеспечивая диссоциацию ЖК с альбумина.

Структурной особенностью эндотелиальных пространств Диссе в печени является наличие специфичного эндотелия с фенестрированной базальной мембраной; эти клетки обеспечивают непосредственный контакт крови с оседлыми, филогенетически поздними, функционально специализированными макрофагами Купфера. Это функционально важная специализация; она ускоряет поглощение макрофагами Купфера эндогенных флогогенов (биологического «мусора»), экзогенных инфекционных патогенов и их быструю утилизацию. Надо сказать, что основную массу сформированных в кровотоке афизиологичных безлигандных пальмитиновых ЛПНП утилизируют тоже макрофаги Купфера в печени при реализации биологической функции эндозологии – поддержания «чистоты» межклеточной среды *in vivo*.

В условиях «относительного биологического совершенства» *in vivo* одновременно функционируют филогенетически поздняя утилизация эндогенных флогогенов специализированными оседлыми макрофагами печени и филогенетически более ранняя, менее совершенная утилизация биологического «мусора» в интимах артерий эластического типа. Ее совместно реализуют филогенетически ранние, немногочисленные специализированные оседлые макрофаги интимы артерий эластического типа и многочисленные филогенетически поздние, функционально слабо специализированные моноциты гематогенного происхождения; они *ex tempore in situ* в короткие сроки становятся функциональными моноцитами → макрофагами.

*Особенности поглощения ЖК филогенетически поздними кардиомиоцитами.* На плазматической мембране кардиомиоцитов функциональные комплексы альбумин + ЖК в кавеолах подвергаются диссоциации. В миокарде альбумин взаимодействует с относительно высокоаффинными местами связывания на сарколемме клеток. Это взаимодействие обеспечивает диссоциацию ЖК с альбумина и поглощение их клетками. Поглощение кардиомиоцитами НЭЖК из комплексов с альбумином (вместе с альбумином) заслуживает особого внимания; обусловлено это тем, что клетки синцития кардиомиоцитов сами ЖК *in situ de novo* из ацетил-КоА практически не синтезируют, но обеспечение энергией для сокращения происходит за счет образования АТФ при окислении митохондриями главным образом ЖК. Поглощение ЖК клетками определяют многие факторы: а) диффузия

ЖК с альбумина, которая определена потребностью клеток в энергии, АТФ, ЖК; б) содержание семейства белков – переносчиков ЖК в цитоплазме миоцитов; в) параметры диссоциации МЖК и НЖК с альбумина и ассоциации с клатрином кавеол плазматической мембраны; г) соотношение активированной и пассивной диффузии в условиях быстрого связывания мембраной освобожденных НЭЖК; д) ассоциация со специфичным носителем, которым является белоксвязывающий альбумин. Наличие «рецепторов» к альбумину на сарколемме кардиомиоцитов – условие активного поглощения ЖК. Можно полагать, что поглощение клетками ЖК на ступенях филогенеза претерпело несколько этапов биологического совершенства, которое в кардиомиоцитах завершилось формированием функциональной системы, во многом сходной с рецепторным поглощением клетками субстратов.

При физиологической концентрации альбумина и ЖК кардиомиоциты переносят через плазматическую мембрану только связанные с альбумином ЖК; при низкой концентрации альбумина возможно формирование и афизиологичных вариантов эндоцитоза. В поглощение клетками пальмитиновой НЖК вовлечена ассоциация альбумина со связывающими доменами на мембране; во всех случаях это жидкостный эндоцитоз. В экстракте кардиомиоцитов выявлены 2 белка с мол. массой 18 и 31 кД. Альбуминсвязывающий белок взаимодействует с лигандом от разных видов животных и с альбумином, обработанным формальдегидом. Белок кардиомиоцитов, связывающий альбумин с меньшей аффинностью, взаимодействует с  $\alpha$ -фетопротеином и белком, переносящим витамин D.

В течение всего пренатального периода в крови плода и ребенка доминирует  $\alpha$ -фетопротеин; высокоаффинно переносит он ННЖК; концентрация альбумина невысока. В пренатальном периоде нет проблем с реализацией биологической реакции термогенеза: мама греет. Сразу после рождения ответственность за поддержание температуры тела ложится на ребенка, в то время как аффинность связывания  $\alpha$ -фетопротеином НЖК и МЖК невелика. В течение трех недель после рождения гепатоциты новорожденного прекращают синтез секреторного белка  $\alpha$ -фетопротеина и начинают экспрессировать синтез альбумина, средство которого к НЖК и МЖК существенно выше.

На поверхности сарколеммы кардиомиоцитов происходит диссоциация комплекса: ЖК диффундируют через плазматическую мембрану; альбумин уходит в кровоток. В кардиомиоцитах комплекс ЖК + цитоплазматический белок переносящий ЖК, переходит в цитозоль. После связывания комплекса с сарколеммой освобожденные ЖК диффундируют через латеральную мембрану, в цитоплазме их связывают белки-переносчики, которые доставляют их к митохондриям. Окисление ЖК на 70% обеспечивает энергетические потребности миокарда; образование ацетил-КоА из глюкозы, из пирувата происходит в основном при гипоксии и недостаточном количестве  $O_2$  для окисления ЖК.

Важно понять механизмы, которыми филогенетически поздние кардиомиоциты раздельно поглощают коротко- и длинноцепочечные МЖК и НЖК и доносят их до митохондрий. Какие факторы приводят к формированию дилатационной кардиомиопатии при хроническом дефиците в клетках субстрата для выработки энергии, к дефициту биоэнергетически обратимого АТФ и недостаточности кровообращения. На сарколемме кардиомиоциты связывают альбумин с существенно большей мерой аффинности по сравнению с гепа-

тоцитами. Возможно, что за ассоциацией комплекса ЖК + альбумин с мембраной следует облегченная диффузия освобожденной ЖК в цитоплазму кардиомиоцитов.

*Физико-химические аспекты действия альбумина на мембране клеток.* Миоциты поглощают ЖК и в отсутствие альбумина; это подтверждено на модели диффузии. При этом действие ЖК как биологического детергента изменяет физико-химические свойства мембраны, увеличивая ее жидкостность. Олеиновая МЖК в форме СЖК в концентрации 20 мкМ в межклеточной среде нарушает функцию кардиомиоцитов. С14:0 миристиновая и С12:0 лауриновая НЖК в концентрации 5 и 10 мкМ *in vitro* усиливают окисление ЖК в митохондриях. Создается впечатление, что биологическая потребность в альбумине в первую очередь обусловлена тем, чтобы при переносе через мембрану большого количества ЖК постоянно предотвращать реально деструктивное действие полярных НЭЖК как эндогенных детергентов на полярную, бислойную структуру плазматической мембраны.

В поздних в филогенезе кардиомиоцитах не происходит ни элонгации, ни десатурации ЖК. Миристиновая ЖК в концентрации 5 мкМ на четверть ингибирует окисление миоцитами глюкозы. Вероятно, альбумин доносит ЖК до мембраны эндотелия; далее белок с мол. массой 40 кД проводит ЖК через бислойную мембрану эндотелия и затем белок, связывающий ЖК, переносит ЖК в цитоплазме к митохондриям. В тубулярных везикулах синцития кардиомиоцитов находят много альбумина, но нет иных белков плазмы крови.

Наличие высокоаффинных мест связывания для альбумина на плазматической мембране отмечено в филогенетически поздних клетках миокарда, подкожных адипоцитах и перипортальных гепатоцитах. Попытки найти подобные места на мембране эпителия проксимальных канальцев успешными назвать нельзя; в филогенетически ранних клетках нефрона доминирует более ранний кавеоларный эндоцитоз. Пептид на поверхности гепатоцитов может связывать и альбумин, который полимеризован при действии бифункционального реагента – глутарового диальдегида. Белок сохраняет способность связывать альбумин после гель-электрофореза с SDS-Na, при электроблоттинге на нитрате целлюлозы и в присутствии восстановителей S-S-связей. Ассоциация происходит как с мономером, так и с полимерами альбумина. Поглощение кардиомиоцитами ЖК зависит от длины цепи и числа ДС. Поглощение миоцитами ЖК состоит из насыщаемого и ненасыщаемого компонентов. Накопление в миоцитах ЖК является логарифмической функцией их длины. Ингибирование поглощения пальмитиновой НЖК при действии V $\gamma$ -пальмитата свидетельствует о функции белков-транспортеров. Применение гомолога миристиновой С14:0 НЖК также нарушает поглощение клетками ЖК. Однако температурная зависимость переноса ЖК через мембрану более характерна для пассивной диффузии.

При нефротическом синдроме в составе ЛП происходят в большей мере количественные, чем качественные нарушения; липидурия обусловлена экскрецией с мочой, фильтрацией через базальную мембрану ЛПВП и апоА-I. Уровень гипоальбуминурии коррелирует с нарушением переноса через мембрану ЖК. Кинетические параметры указывают на усиление продукции и ингибирование гидролиза ТГ в ЛПОНП. В модельных экспериментах все ЖК от С12:0 лауриновой НЖК до  $\phi$ -6 С20:4 арахидоновой ПНЖК (Арахис) в неионизированной форме проникают через бис-

лой ФЛ. ЖК, освобожденные при действии фосфолипазы А<sub>2</sub> также быстро переходят из наружного монослоя везикул во внутренний. Поведение ионизированных ЖК меняется в бислое при добавлении валиномицина. В присутствии специфического антибиотика ЖК могут преодолевать бислой ФЛ и в неионизированной форме. Холиевой кислоте преодолеть бислой плазматической мембраны сложнее, чем более гидрофобным дезокси- и хеноксихолеовой желчным кислотам. Конъюгаты ЖК с таурином не могут проходить через бислой ФЛ.

Встраиваясь в мембрану клеток, НЭЖК изменяют функцию сигнальных систем, активируют калиевые каналы, повышают активность Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазы, модифицируют поглощение клетками ЛП. При инфаркте миокарда повышение концентрации ЖК, особенно пула СЖК, нарушает электрофизиологические параметры кардиомиоцитов. ЖК могут проникать путем пассивной диффузии, при действии переносчиков, а возможно, и при функции обоих механизмов. Снижение pH среды активирует проникновение в везикулы НЭЖК в неионизированной форме. В ионизированной форме ЖК проходят бислой быстро; они медленно продвигаются в неионизированной форме. Добавление ЖК в форме калиевых солей быстро приводит к появлению их в везикулах. Арахис-ПНЖК также могут проникать в везикулы, используя вариант флип-флоп (рис. 5).

При действии фосфолипазы А<sub>2</sub> освобожденная Арахис оказывается внутри везикул. При ишемии активность фосфолипазы и проникновение в клетки ЖК возрастает. Быстрое встраивание в наружный монослой мембраны большого количества СЖК в неионизированной форме при ацидозе приводит к градиенту pH на мембране и повреждению клеток. Происходит это путем формирования гидрофильных, длительно существующих пор из СЖК, которые формируются спонтанно и независимо от клеток. Валиномицин можно рассматривать как один из агентов, который одновременно, вероятно сочетанно, активирует поступление в клетки не только K<sup>+</sup>, но и ЖК.

При клонировании ДНК найден белок (646 аминокислотных остатков, мол. масса 22 кД), который может переносить через мембрану длинноцепочечные ЖК как интегральный протеин. Полагают, что он задействован в транспорте ЖК; возможно, что для ЖК существуют и транспортные системы, как для аминокислот. Это подтверждает быстрое,

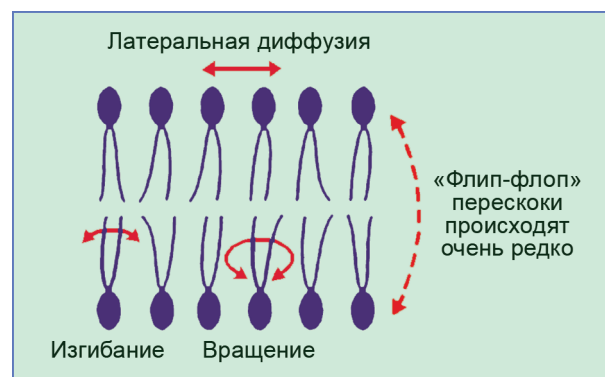


Рис. 5. Процессы латеральной диффузии, вращения, флип-флоп-переходов, которые характеризуют преодоление ЖК плазматической мембраны.



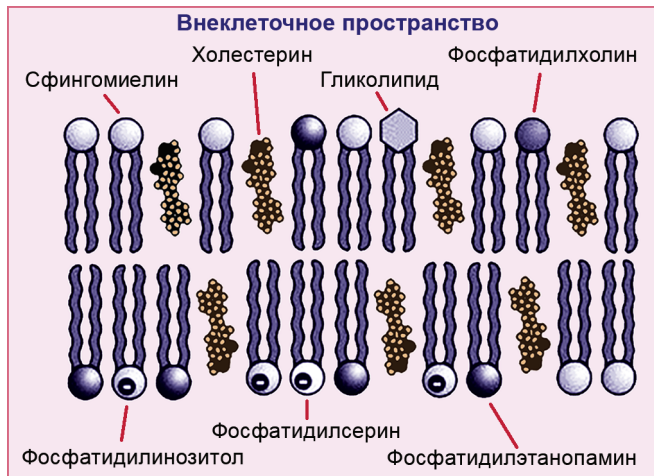


Рис. 6. Встраивание (конденсирование) полярного спирта ХС между полярными молекулами ФЛ в бислой плазматической мембраны.

насыщаемое проникновение ЖК в клетки; поток ЖК можно остановить путем преинкубации клеток с проназой. При экспрессии белка, поглощение ЖК клетками возрастает. Возможно, поглощение ЖК филогенетически поздними, дифференцированными и ранними клетками рыхлой соединительной части (РСТ) происходит по-разному. Кардиомиоциты и адипоциты имеют специфичный интегральный белок, который переносит в клетку ЖК. Экспрессия его синтеза происходит при поглощении адипоцитами ЖК и синтезе ТГ. Он же увеличивается в миоцитах при активной мышечной работе. Поглощение миоцитами ЖК нарушено при ишемии, гипертрофии миокарда, сахарном диабете и сердечной недостаточности.

Опосредованный белком транспорт ЖК установлен для гепатоцитов, подкожных адипоцитов, кардиомиоцитов и поперечнополосатых мышц, гладких миоцитов тонкого кишечника. Транспортный белок с мол. массой 43 кД изолирован из всех перечисленных клеток. Зависимое от альбумина поглощение гепатоцитами ЖК показано как при перфузии печени, так на культуре и в суспензии клеток. Поглощение гепатоцитами ЖК включает две составляющие: насыщаемое поглощение и ненасыщаемое. В физиологических условиях альбуминзависимое поглощение составляет более 90% НЖК и МЖК. При сахарном диабете насыщаемым путем в клетки поступает только половина ЖК: каждая вторая ЖК диффундирует через мембрану вне состояния ионизации, вне ассоциации с альбумином и афизиологично.

Имеется достаточно оснований говорить о двух пулах жировых клеток: а) филогенетически ранние, активные, многофункциональные висцеральные жировые клетки (ВЖК) сальника; рецепторов к инсулину на мембране они не имеют, склонны к гипертрофии и не подвержены пролиферации и б) филогенетически поздние подкожные адипоциты, которые призваны обеспечивать субстратами для выработки энергии клетки при реализации одной биологической функции локомоции, склонны не только к гипертрофии, но активно реализуют и биологическую реакцию пролиферации. Активация синтеза ТГ в жировых клетках происходит: а) при активном поступлении в клетки экзогенных ЖК в форме неполярных ТГ и б) синтезе ЖК *in situ de novo* из ацетил-

КоА. Эти же адипоциты усиленно поглощают глюкозу и реагируют на регуляторное действие инсулина. Не исключено, что все это может оказывать влияние и на неконтролируемую диффузию в клетки НЖК и МЖК и развитие афизиологичного липоидоза – запасаения ЖК в форме ТГ в клетках, которые филогенетически для этого не предназначены.

Используя антитела к белку, переносящему ЖК, можно ингибировать поглощение клетками длинноцепочечных ЖК (С16 и более); на поступление в клетки среднецепочечных ЖК (С10–С14) антитела действия не оказывают. Олеиновая МЖК ингибирует поглощение клеткой аналога, меченного флуорофором, но не оказывает влияния на поглощение С11:0 афизиологичных ЖК. Следовательно, поглощение клетками длинно- и среднецепочечных ЖК происходит по-разному. Вероятно, этими физико-химическими параметрами определено и различие ЖК, которые депонированы в филогенетически ранних ВЖК сальника и в поздних в филогенезе подкожных адипоцитах. У свиней в ВЖК депонированы среднецепочечные лауриновая и миристиновая НЖК, в то время как в подкожных адипоцитах доминируют длинноцепочечные МЖК и НЖК. Поэтому при реализации филогенетически ранних биологических функций гомеостаза, функции эндокнологии и биологической функции адаптации все клетки *in vivo* поглощают в первую очередь среднецепочечные ЖК, в то время как при реализации биологической функции локомоции инсулинзависимые клетки поглощают, а митохондрии окисляют преимущественно длинноцепочечные ЖК.

*Функция кавеол в поглощении клетками ЖК.* Пятьюдесятью годами ранее при электронной микроскопии выявлены структурные компоненты клеток, названные кавеолами. Исследования показали, что существуют морфологические особенности кавеол в зависимости от типа клеток; количество кавеол в клетках варьирует. Их много в подкожных адипоцитах, эндотелиоцитах, альвеоцитах, фибробластах, клетках гладкой и поперечнополосатой мускулатуры; некоторые клетки, напротив, практически лишены кавеол: это нейроны центральной нервной системы, лимфоциты. Причины такой вариативности связывают со специфичными функциями клеток и затратами энергии. Кавеолы – места деформации (вдавнения) на мембране клеток; они имеют специфичное покрытие и краевую каемку с морфологически видимой исчерченностью. Если в инкубационную среду добавить вещества, связывающие ХС, кавеолы уплощаются и происходит деструкция полосатого покрытия, именуемого кавеолином.

Добавленная в инкубационную среду олеиновая МЖК быстро появляется в липосомах из ФХ; так же быстро она встраивается в монослой ФЛ+ХС. Ионизированные ЖК переходят из наружного монослоя липидов во внутренний путем флип-флоп-перемещения. Добавление в среду олеиновой моно-ЖК предотвращает ее дальнейшее встраивание в мембрану. Для транспорта ЖК в модельных системах требуется 2 с, а катиона ЖК с отрицательным зарядом – 30 с.

Важно то, что в кардиомиоцитах митохондрии окисляют только те ЖК, которые клетки поглотили в ассоциации с альбумином. При повышении в плазме крови содержания ЖК в форме НЭЖК активность окисления их в митохондриях зависит от величины отношения альбумин/ЖК. Не найдено корреляции между содержанием в крови СЖК и скоростью окисления ЖК в клетках. Пассивная диффузия ЖК через плазматическую мембрану низкая, и она не может служить способом поглощения их клетками. Если в среде возрастает содержание пальмитиновой НЖК в ассоциации с альбуми-

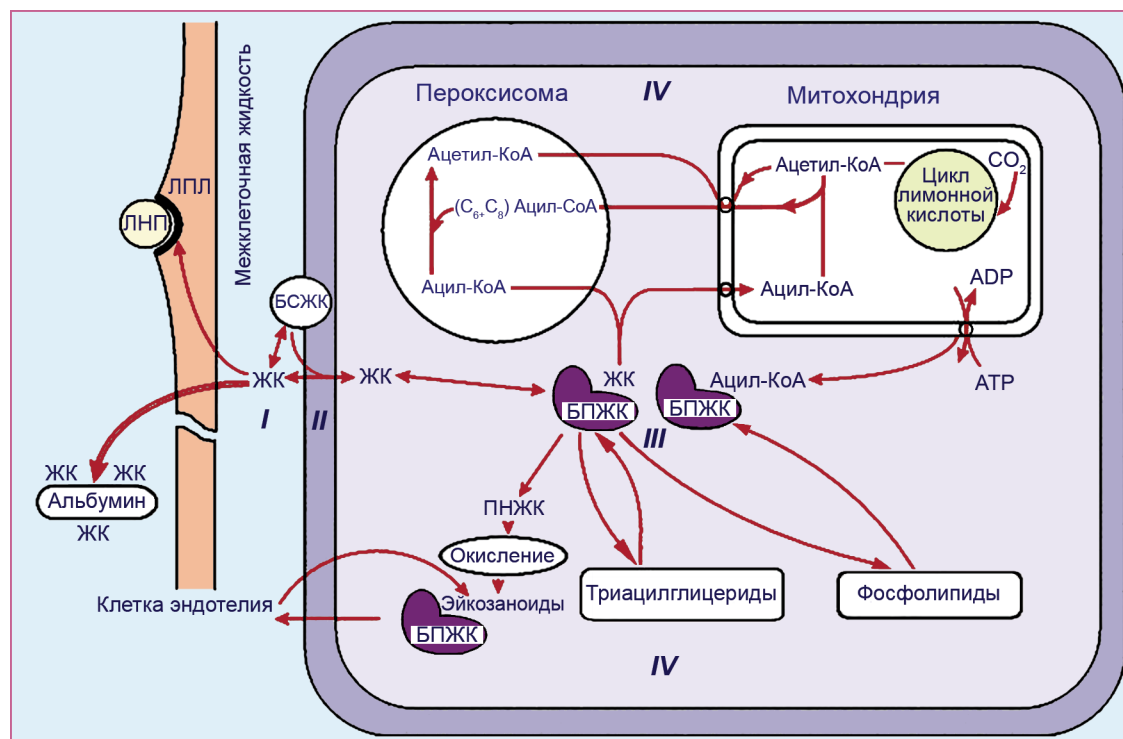


Рис. 7. Участие специфических протеинов в переносе ЖК при метаболизме.

*I* – перенос в межклеточной среде; *II* – транспорт через плазматическую мембрану клеток; *III* – перенос между субклеточными органеллами.

ном, клетки увеличивают их поглощение. В то же время содержание пальмитиновой НЖК в форме СЖК в крови может длительно оставаться высоким.

Удаление (экстракция) полярного ХС из наружного монослоя мембраны приводит к деструкции caveол и нарушению жидкостного эндоцитоза. Филлипин ингибирует связывание с клетками инсулина и альбумина в культивируемом монослое клеток эндотелия. Проницаемость эпителия легочных альвеол для альбумина уменьшается при снижении в мембране содержания спирта ХС. Caveолин формирует и сквенджер-эндоцитоз конформационно измененных молекул альбумина, образование эндосом, их поглощение, слияние с лизосомами и деградацию белка. Нистатин и дигитонин обладают сходным действием. В то же время эндоцитоз и деградация α<sub>2</sub>-макроглобулина не зависит от содержания ХС в мембране, поскольку поглощение его клетками является клатринзависимым. При действии филлипина в эндотелиальных клетках нарушается caveолинзависимый транцитоз инсулина. Селективное ингибирование caveолинзависимого поглощения позволяет дифференцировать caveолярный и клатриновый варианты поглощения клетками субстратов. Уменьшение содержания ХС в плазматической мембране клеток нежелательно (рис. 6).

Caveолы при эндоцитозе переносят в клетки не только ЖК, но и низкомолекулярные соединения, такие как аминокислоты и дисахариды; этот процесс суммированно именуют поточитозом. Переход комплекса альбумин + ЖК, инсулина и других субстанций через эндотелий и поглощение клетками происходит путем транцитоза; основу его составляют caveолы. Caveолярное поглощение клетками ЖК происходит во всех миоцитах. При этом ХС является гидрофобным компонентом стрийного покрытия caveол и необходимым для

формирования везикул и жизнеобеспечения клеток. Вероятно, поэтому наружный монослой клеточной мембраны содержит ≈90% всего ХС в клетке.

Белки, которые присутствуют в стрийных структурах caveол и которые активно связывают альбумин, именуют албондином. Антитела, специфичные к албондину, ингибируют связывание клетками комплекса альбумин + ЖК, но не оказывают влияния на альбумин, молекулы которого имеют иную конформацию. Только ассоциация с ЖК позволяет альбумину запустить процесс эндоцитоза. После поглощения клетками комплекса альбумин + коллоидное золото более 90% альбумина покинуло клетку путем экзоцитоза без золота в форме свободного белка. Вероятно, поглощения НЭЖК в ассоциатах с альбумином является классической филогенетически ранней технологией АТФ-зависимого кассетного транспортера – АВС-транспортера. Технология проста: альбумин с ЖК заходит в клетку; оставляет ЖК и уходит пустым, готовым к следующему циклу переноса.

Возможно caveолин- и клатринопосредованные варианты эндоцитоза, который реализуют клетки, реально имеют функциональное большее значение, чем мы полагаем. Используя вариант АВС-транспортеров, клетки переносят разные субстраты не только через плазматическую мембрану, но и через моно- и бислоиные мембраны внутриклеточных органелл при caveолинреализуемом эндоцитозе. Возможно, эндоцитоз включает челночный механизм переноса от одной мембраны к другой. Инвагинация мембраны, образование везикул могут происходить и на внутриклеточных мембранах. Этот процесс может быть задействован в эндоцитозе, экзоцитозе, транцитозе и в синаптической передаче сигнала; все это происходит по-

разному, на ступенях филогенеза на основании единого механизма.

*Функциональное различие белков-переносчиков и транспортеров ЖК.* Белки, связывающие ЖК, можно обоснованно разделить на 3 группы: а) апобелки внеклеточной среды, которые переносят ЖК; б) белки, которые транспортируют ЖК через мембраны; в) цитоплазматические белки, которые переносят ЖК между внутриклеточными органеллами (рис. 7).

НЭЖК в комплексе с альбумином или в форме СЖК – мицелл контактируют с клеточной мембраной. После прохождения через мембрану ЖК связывают внутриклеточные белки-переносчики и доставляются к местам метаболизма. Внутриклеточные белки-переносчики также участвуют в переносе в цитозоле промежуточных продуктов метаболизма ЖК – неполярных КоА-эфиров ЖК. Белки мембраны, связывающие ЖК, участвуют и в поглощении ЖК клетками. В настоящее время белки – переносчики ЖК исследуют как регуляторы метаболизма липидов в организме и как маркеры развития *in vivo* афизиологических процессов. Так, присутствие определенных белков-переносчиков в плазме крови и моче служит маркером, в частности ишемической болезни сердца.

Внутриклеточные белки – переносчики ЖК найдены около 30 лет назад в тканях крысы и человека при гель-фильтрации протеинов цитоплазмы, которые предварительно инкубированы с [<sup>14</sup>C]ЖК. Охарактеризованы как минимум 6 разных по структуре типов внутриклеточных белков-переносчиков. Известны цитоплазматические белки-переносчики в печени, кишечнике, сердце, почках и жировой ткани. Все они имеют сравнительно низкую мол. массу (14–16 кД) и состоят из 127–133 остатков аминокислот. Они связывают в основном длинноцепочечные ЖК и присутствуют в клетках в ощутимых количествах; в миокарде на их долю приходится ≈5% всех белков цитоплазмы. Эти белки рассматривают как составную часть ЖК в депо, которые может поставлять в субклеточные органеллы.

Анализ первичной структуры белков выявляет высокую гомологичность (> 80 %) белков из одного и того же органа у разных млекопитающих. Сравнение же белков печени и кишечника, к примеру, выявляет 25–30% гомологии. В то же время не удалось выявить гомологию между внутриклеточными белками-переносчиками и белками, переносящими ЖК во внеклеточном пространстве (альбумин и α-фетопроtein). Это указывает, что на ступенях филогенеза внутриклеточные белки – переносчики ЖК стали функционировать на значительно более ранних ступенях филогенеза, чем стал происходить перенос ЖК в межклеточной среде между клетками в паракринно регулируемых сообществах. Внутриклеточные белки-переносчики специфичны в отношении отдельных ЖК; имеют они, как правило, один домен связывания.

На модельных системах присутствие белков-переносчиков внутри клетки может увеличить скорость метаболизма тех ЖК, которые они переносят. Так, скорость метаболизма ЖК в присутствии белков-переносчиков увеличивается на порядок. Наличие белка-переносчика в кардиомиоцитах увеличивает доступность ЖК в 700 раз и увеличивает скорость переноса ЖК в митохондриях к сарколемме (внутренней мембране митохондрий) в 17 раз по сравнению с физиологичным уровнем. В целом количество белков – переносчиков ЖК в тканях животных соответствует скорости их метаболизма.

Пища с высоким содержанием жиров увеличивает количество белков – переносчиков ЖК в печени, в сердце по принципу индукции субстратом; прием тестостерона снижает содержание переносчиков в печени, но увеличивает

их концентрацию в сердце и скелетных миоцитах. Внутриклеточные белки-переносчики моделируют включение ЖК в состав ФЛ, перенос ЖК в митохондрии для β-окисления и в эндоплазматическую сеть для этерификации со спиртами – глицерином и ХС. Экспрессия белков в фибробластах увеличивает содержание ТГ и эфиров ЖК со спиртом ХС; содержание ФЛ же остается неизменным. Это указывает на специфичное участие в процесс формирования внутриклеточных белков-переносчиков в переносе ЖК, функциональное предназначение которых является разным. И самое главное – становление этих процессов произошло на разных ступенях филогенеза.

И ожирение, и метаболический синдром являются патологией жировых клеток, однако метаболический синдром – это патология филогенетически ранних ВЖК сальника с нарушением биологических функций трофологии, гомеостаза, биологических функций эндоэкологии и адаптации. Ранние в филогенезе ВЖК сальника не имеют рецепторов к инсулину и адаптивно синтезируют лептин, и для них не характерна биологическая реакция пролиферации.

Ожирение является патологией поздних в филогенезе подкожных адипоцитов; они инсулинзависимы и предназначены для реализации одной биологической функции локомоции – движения за счет сокращения поперечнополосатых скелетных миоцитов. Адипоциты в плане адаптации синтезируют гуморальный медиатор адипонектин и обладают выраженной способностью активировать биологическую реакцию пролиферации – увеличивать число подкожных адипоцитов.

Однако при афизиологических состояниях в разной мере возрастает пассивное, по градиенту концентрации поглощение всеми клетками *in vivo* не связанных с альбумином СЖК в неионизированной форме в составе мицелл; формируются они в плазме крови и межклеточной среде. Пассивное, афизиологичное поглощение клетками СЖК, которые в силу особенностей внутриклеточной компартиментализации не окисляют митохондрии, приводит к синтезу, депонированию ТГ в цитоплазме клеток, которые функционально для этого не предназначены; они не имеют активных гормонзависимых липаз и избавиться от ТГ не могут.

Афизиологичное пассивное поглощение клетками СЖК, этерификация их в ТГ, в частности в филогенетически поздних β-клетках островков и столь же поздних кардиомиоцитах, которые ЖК *de novo* не синтезируют, ТГ не образуют и не депонируют, приводит к формированию афизиологичных процессов, при которых функциональная активность независимо от аутокринной регуляции клеток оказывается нарушенной. Такие клетки *in vivo* с позиций биологии подвержены запрограммированной гибели по типу апоптоза; *in vivo* это и происходит. Образование телец апоптоза нарушает биологическую функцию эндоэкологии, активируя биологическую реакцию воспаления. Казалось бы, поврежденные клетки убрали и все в порядке, но способность филогенетически поздних клеток к пролиферации является низкой. Поэтому постепенно при высоком содержании в крови СЖК, не ассоциированных с альбумином, формируется дилатационная кардиомиопатия и медленно развивается сахарный диабет 1-го типа, инсулинзависимый диабет.

Вопросы для самоконтроля

1. В чем состоит специфичная роль альбумина в переносе насыщенных и мононенасыщенных ЖК в форме полярных НЭЖК к клеткам в межклеточной среде и в крови?

2. Какие факторы определяют соотношение в плазме кро-



ви НЭЖК, физиологично ассоциированных с альбумином, и НЭЖК в афизиологичной форме свободных ЖК в составе мицелл?

3. В силу каких условий кардиомиоциты в митохондриях окисляют только те НЖК и МЖК, которые клетки поглотили в форме ассоциатов с альбумином; какова роль альбумина как транспортера ЖК в клатриновом эндоцитозе?

4. Каково различие филогенетически ранней кавеоларной формы эндоцитоза от филогенетически более позднего клатринового варианта поглощения клетками ЖК в форме НЭЖК? Каковы те условия *in vivo*, которые инициировали превращение на ступенях филогенеза кавеоларного эндоцитоза в клатриновый?

5. Каковы те изменения метаболизма, которые происходят *in vivo* при врожденном состоянии анальбуминемии; чем обусловлена гетерогенность фракции альбумина на электрофореграмме белков плазмы крови?

#### РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ткачук В.А., ред. *Клиническая биохимия: Учебное пособие для вузов*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2002.
2. Титов В.Н., ред. *Лабораторные и инструментальные исследования в диагностике*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2004.
3. Титов В.Н. *Клиническая биохимия жирных кислот, липидов и липопротеинов*. Москва–Тверь: ООО «Издательство «Триада»; 2008.

4. Шойбонов Б.Б., Кравченко М.А., Баронец В.Ю., Толпыго С.М., Костырева М.В., Шабалина А.А. и др. Определение атерогенности иммунных комплексов, содержащих модифицированные липопротеины, в тесте связывания комплемента. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2014; 58 (4): 133–8.
5. Генис Р. *Биомембраны. Молекулярная структура и функции*. М.: Издательство «Мир»; 1997.

Поступила 19.10.15

#### REFERENCES

1. Tkachuk V.A., Ed. *Clinical Biochemistry: Textbook for High Schools. [Klinicheskaya biokhimiya: Uchebnoe posobie dlya vuzov]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2002. (in Russian)
2. Titov V.N., Ed. *Laboratory and Instrumental Tests in Diagnostics. [Laboratornye i instrumental'nye issledovaniya v diagnostike]*. Moscow: GEOTAR-Media; 2004. (in Russian)
3. Titov V.N. *Clinical Chemistry Fatty Acids, Lipids and Lipoproteins. [Klinicheskaya biokhimiya zhirnykh kislot, lipidov i lipoproteinov]*. Moscow–Tver': OOO «Izdatel'stvo «Triada»; 2008. (in Russian)
4. Shoybonov B.B., Kravchenko M.A., Baronets V.Yu., Tolpygo S.M., Kostyreva M.V., Shabalina A.A. et al. Determination atherogenic immune complexes containing modified lipoproteins in complement fixation test. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2014; 58 (4): 133–8. (in Russian)
5. Gennis R. *Biomembranes. The Molecular Structure and Function. [Biomembrany. Molekulyarnaya struktura i funktsii]*. Moscow: Izdatel'stvo «Mir»; 1997. (in Russian)

Received 19.10.15