

БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.13-004.6-092:612.015.3

Сажина Н.Н.¹, Евтеева Н.М.¹, Титов В.Н.²

КОНСТАНТЫ СКОРОСТИ РЕАКЦИЙ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ОЗОНА С ПАЛЬМИТИНОВОЙ, ОЛЕИНОВОЙ И ДРУГИМИ ЖИРНЫМИ КИСЛОТАМИ. РОЛЬ ОЗОНОЛИЗА В МЕТАБОЛИЗМЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

¹ФГБУН «Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля» РАН РФ, 119334, Москва, Россия;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава РФ, 121552, Москва, Россия

Измерены кинетические параметры взаимодействия озона с 13 индивидуальными насыщенными, моноеновыми, ненасыщенными и полиеновыми жирными кислотами (ЖК), которые имеют в молекулах 0–4 двойные связи (ДС). Проведена оценка констант скоростей реакций взаимодействия ЖК с озоном. Выявлена зависимость величин констант от: а) длины алифатической цепи ЖК; б) числа ДС в цепи; в) позиции ДС в цепи ЖК и з) цис-, транс- конфигурации ЖК. Наиболее высокую константу скорости реакции имеет C18 : 1 цис-ω-9 олеиновая ЖК ($2,58 \cdot 10^5$, $M^{-1}s^{-1}$). У остальных оценённых ЖК константа окисления в 1,5–3 раза ниже, в зависимости от структуры ЖК. Наибольшую роль озонлиз играет в биохимических реакциях, в физиологическом метаболизме ЖК и афизиологических реакциях модификации ЖК в составе фосфолипидов (фосфатидилхолина и аминофосфолипиды) в структуре плазматических мембран живых клеток. Мы полагаем также, что в филогенезе биологическая роль инсулина способствует превращению вышедших из океана плотоядных животных в травоядные, обеспечивает животным высокие кинетические параметры движения при реализации биологической функции локомоции, превращает in vivo малоэффективный пальмитиновый вариант метаболизма ЖК с дефицитом энергии в высокоэффективный олеиновый вариант метаболизма. В филогенезе низкая химическая активность пальмитиновой насыщенной ЖК и высокая активность олеиновой ненасыщенной ЖК in vivo – это основной этиологический фактор двух афизиологических процессов – атеросклероза и атероматоза, основа формирования ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда.

Ключевые слова: жирные кислоты; озонлиз; двойные связи; инсулин; атеросклероз; атероматоз.

Для цитирования: Сажина Н.Н., Евтеева Н.М., Титов В.Н. Константы скорости реакций взаимодействия озона с пальмитиновой, олеиновой и другими жирными кислотами. Роль озонлиза в метаболизме жирных кислот. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63(8): 460-465. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-8-460-465>

Sazhina N.N.,¹ Evteeva N.M.¹, Titov V.N.²

RATE CONSTANTS FOR INTERACTION REACTIONS OF OZONE WITH PALMITIC, OLEIC AND OTHERS FATTY ACIDS. ROLE OF OZONOLYSIS IN METABOLISM OF FATTY ACIDS

¹N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

²National Medical Research Center of Cardiology, Ministry of Health, 121552, Moscow, 121552, Russia

Kinetic parameters of the interaction between ozone with 13 individual saturated, monoenoic, unsaturated and polyenoic fatty acids (FA) which have 1-4 double bonds (DB) have been determined. Rate constants for FA reaction with ozone were estimated. It was found that the constants depend on a) aliphatic chain length, b) DB number of DB in the chain, c) DB position in the chain and d) cis- or trans- configuration of FA. The highest rate constant was recorded for C18:1 cis-ω-9 oleic FA ($2.58 \cdot 10^5$, $M^{-1}s^{-1}$). Oxidation rate constants for other FA were 1.5- to 3-fold lower depending of the FA structure. The greatest role ozonolysis is played in biochemical reactions, in physiologic metabolism of FA and also in aphysiologic reactions of modification of FA as part of phospholipids (phosphatidylcholine and aminophospholipids) in structure of plasmatic membranes of living cells. We believe also that phylogenetically the role of insulin consists in: a) promoting the conversion of carnivorous (fish-eating) animals that left the ocean into herbivorous, b) providing high kinetic parameters for realization of the biological function of locomotion, c) converting in vivo the low-efficiency palmitic pathway of FA metabolism with energy deficiency into a high-efficiency oleic pathway. During phylogenesis, low chemical activity of oleic FA in vivo is the major etiological factor of two nonphysiological processes: atherosclerosis and atheromatosis which are fundamental for the development of ischemic heart disease and myocardial infarction.

Key words: fatty acids; ozonolysis; double bonds; insulin; atherosclerosis; atheromatosis.

For correspondence: Sazhina N.N., candidate of phys.-math. sciences, senior researcher of the FGBU Institute of Biochemical Physics im. N.M. Emanuel RAS; e-mail: Natnik48s@yandex.ru

For citation: Sazhina N.N., Evteeva N.M., Titov V.N. Rate constants for interaction reactions of ozone with palmitic, oleic and others fatty acids. Role of ozonolysis in metabolism of fatty acids. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2018; 63 (8): 460-465 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-8-460-465>

Acknowledgment. The study did not have sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interests.

Received 01.06.2017

Accepted 09.06.2017

Введение. Озон (O_3) и его действие на живые организмы, химические и биологические субстраты изучены достаточно хорошо [1]. В нижних слоях атмосферы озон непосредственно взаимодействует с живыми формами и проявляет свои токсические свойства [2]. Он является сильным инициатором окисления и относится к веществам высшей категории опасности. В повышенных концентрациях O_3 отрицательно влияет на здоровье человека и животных, угнетает активность биологических процессов в растениях и их рост.

Биологические и медицинские исследования показали, что озон в высоких концентрациях может действовать как мутаген, канцероген; на нативные клетки животных озон оказывает влияние подобно ионизирующей радиации [3]. Озон разрушает и небиологические объекты, например резину, каучук, взаимодействует с металлами и иными материалами [4]. Высокую реакционную способность озона используют для очистки воздуха и воды от патогенных микроорганизмов, а также для антибактериальной обработки воды, хранения продуктов питания и т. д.

Основы, механизмы взаимодействия озона с органическими молекулами, включая и жирные кислоты (ЖК), рассмотрены в более ранних публикациях [4 – 6]. Основным химическим процессом в этом взаимодействии оказывается озонлиз – фиксация молекулы O_3 на двойной связи (ДС) между молекулами углерода в цепи ЖК с последующим разрывом ДС и образованием озонидов. Будучи неустойчивыми и химически активными, озониды быстро разлагаются [7, 8]. Процесс этот происходит быстро, с константой скорости реакции порядка 10^5 – 10^6 $M^{-1}s^{-1}$ [4]. Далее следует каскад реакций с формированием короткоживущего свободного радикала Криге и карбонила; в результате рекомбинации они быстро преобразуются во вторичные озониды. Далее происходит образование интермедиатов – промежуточных метаболитов, которые превращаются в спирты, альдегиды и карбоновые кислоты (рис. 1) [7].

Наибольшее биологическое значение озонлиз имеет в биохимических реакциях, в физиологическом метаболизме ЖК и афизиологических реакциях модификации ЖК в составе фосфолипидов (фосфатидилхолины и аминофосфолипиды) в структуре плазматических мембран живых клеток. Озон реагирует с ДС в ЖК в разных классах липидов, формируя озониды. Максимальное их количество образуется, когда в глицерофосфолипидах этерифицированы ЖК, которые имеют ДС в цепи атомов углерода. Согласно биологической классификации, которую мы используем в работах, насыщенные ЖК (НЖК), С16:0 пальмитиновая и С14:0 миристиновая ДС не имеют. Мононенасыщенные МЖК - С16:1 ω -9 пальмитолеиновая и С18:1 ω -9 олеиновая, имеют одну ДС у 9-го атома углерода, если считать от метильного конца молекулы; обе МЖК синтезируют клетки высших животных и человека *in situ de novo* из ацетата, из активированного ацетил-КоА.

Химики делят ЖК на НЖК, МЖК и полиеновые ЖК (ПНЖК), которые имеют более одной ДС в цепи атомов углерода. С позиций же биологии, С:18 ЖК с 2 – 3 ДС мы оцениваем как ненасыщенные ЖК (ННЖК); к ПНЖК же мы относим только С:20 ЖК, которые имеют 4 – 6 ДС. Определено это реальным различием биологической роли ЖК в процессах метаболизма *in vivo*. НЖК + МЖК – это субстрат для окисления клетками в составе митохондрий с целью наработки энергии в форме макроэргического аденозинтрифосфата (АТФ). ННЖК этерифицированы в составе фосфолипидов (фосфатидилхолины, аминофосфолипиды, кардиолипиды, сфингомиелины). Синтез же биологически активных гуморальных медиаторов – эйкозаноидов (эйкоза по-гречески – «двадцать») происходит только из ПНЖК, из ω -6 С20:4 арахидоновой ПНЖК, из ω -3 С20:5 эйкозапентаеновой и ω -3 С22:6 докозагексаеновой ПНЖК. Ранними в филогенезе био-

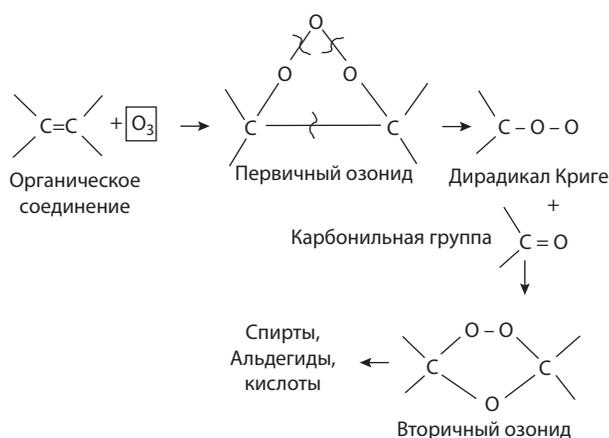


Рис. 1. Взаимодействие озона с ДС органического соединения [7].

логически активными эйкозаноидами, регуляторами метаболизма *in vivo* являются простаглицлины, простаглицлины, тромбоксаны и лейкотриены.

Характерные конечные продукты метаболизма липидов в организме – диеновые конъюгаты и малоновый диальдегид; определение содержания малонового диальдегида в биологических средах стало широко используемым методом. По концентрации диеновых конъюгатов при помощи УФ-спектроскопии и малонового диальдегида с тиобарбитуровой кислотой оценивают окисление ЖК в разных липидах [9 – 12]. В мембранах клеток при образовании свободных радикалов начинаются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ). Озон индуцирует ПОЛ; он ускоряет образование активных радикалов; при отсутствии которых ПОЛ не происходит.

В результате озонлиза образуется перекись водорода (H_2O_2); при распаде её формируется в том числе высокоактивный $OH\cdot$ радикал, который инициирует цепную реакцию окисления липидов. Первичные продукты окисления липидных субстратов, – гидроперекиси типа $ROOH$; *in vivo* они оказывают афизиологическое действие на живые организмы. К вторичным продуктам окисления ЖК и липидов озоном относятся спирты, альдегиды, кетоны, кислоты, кетоэфир и т. д. Механизмы ПОЛ отличаются от реакций озонлиза; при достаточно высокой концентрации O_3 и кислорода (O_2), при действии двух окислителей образуется малоновый диальдегид. Цепная реакция ПОЛ приводит к убыли субстрата окисления – ЖК, потреблению окислителя и накоплению продуктов реакции - гидроперекисей [7].

Ранее в работах [4 – 6] были определены кинетические константы реакций окисления ЖК озоном олеиновой МЖК [4, 5], пальмитиновой НЖК, линолевой ННЖК и арахидоновой ПНЖК [6]. Эти константы отличаются между собой на несколько порядков; подробное же изложение алгоритма их определения не приведено. Ранние публикации были основаны на экспериментах, проведенных на первой, менее совершенной модели сконструированного Д.М. Лисицыным автоматического анализатора двойных связей (АДС). В настоящей работе были проведены эксперименты на усовершенствованной модели АДС. Мы расширили список оценённых ЖК и привели описание метода определения кинетических констант.

Цель работы – экспериментальное исследование кинетики реакций взаимодействия озона с индивидуальными ЖК с разной молекулярной структурой и оценка констант скорости этих реакций.

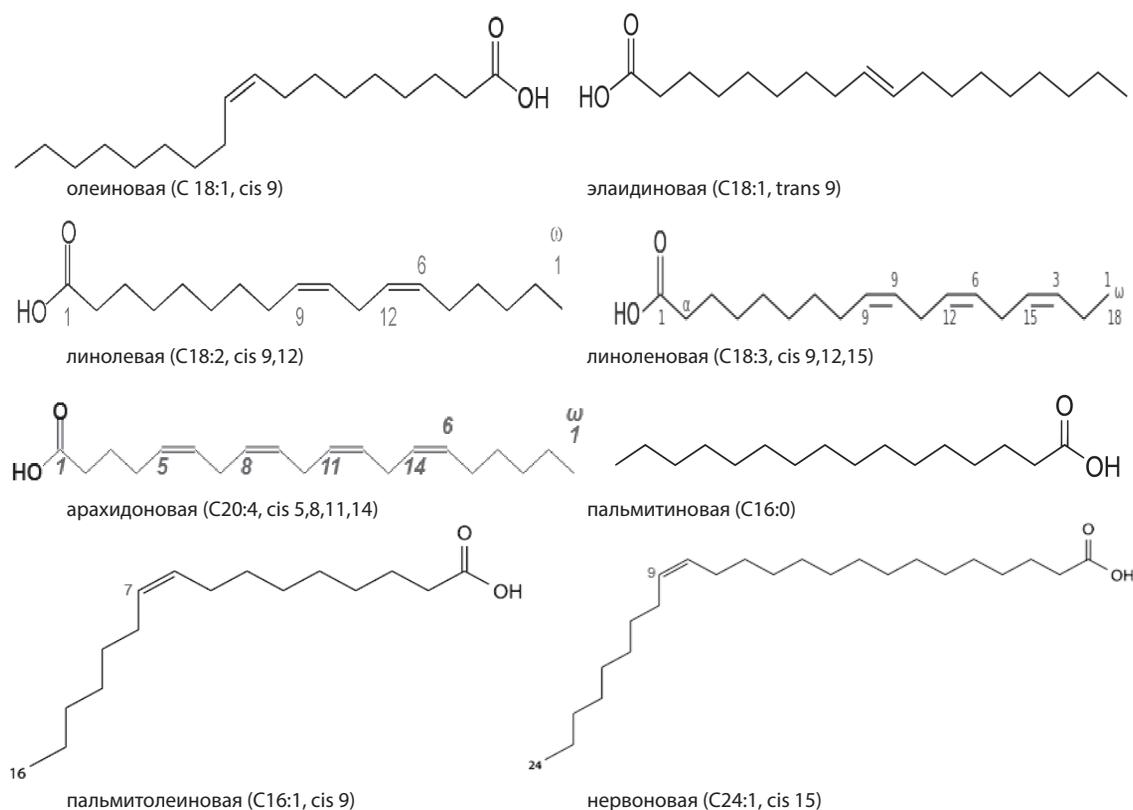


Рис. 2. Структурные формулы некоторых используемых в работе ЖК.

Материал и методы. В качестве объектов использовали 13 индивидуальных ЖК стандартных образцов производства фирмы Supelco (США): миристиновая C14 : 0 НЖК; пальмитиновая C16 : 0 НЖК; олеиновая МЖК, C18 : 1, цис-форма, ω 9; элаидиновая МЖК – C18 : 1, транс- ω 9; петроселиновая C18 : 1, цис- ω 6; вакценовая C18 : 1, цис- ω 11; пальмитолеиновая МЖК – C16 : 1, цис- ω 9; гадолеиновая МЖК – C20 : 1, цис- ω 11; эруковая МЖК – C22 : 1, цис- ω 13; линолевая ННЖК – C18 : 2, цис- 9 и 12 ω 6; линоленовая ННЖК – C18 : 3, цис- 9,12 и 15 ω-3; арахидоновая ПНЖК – C20 : 4, цис - 5, 8, 11,14 ω 6; нервоновая МЖК – C24 : 1, цис 15 ω 9, (рис. 2).

Для оценки кинетики взаимодействия ЖК с озоном и определения содержания ДС в ЖК использовали метод озонирования [4 – 6]. Измерения проводили на АДС модели АДС-4М; принцип действия АДС основан на способности непредельных и иных соединений быстро, с константой скорости реакции порядка 10^5 – 10^6 $M^{-1}c^{-1}$ [4], присоединять O_3 по месту локализации ДС. Поскольку скорость взаимодействия озона с ДС на несколько порядков выше, чем с иными функциональными группами в молекулах, это обеспечивает высокую селективность анализа. При барботировании O_3 в реакторе через исследуемый раствор концентрация озона на выходе из реактора уменьшается. Это изменение анализатор фиксирует в форме кривой поглощения озона на ленте потенциометра - самописца. УФ-спектрофотометр (на длине волны 254 нм) регистрирует концентрацию O_3 на входе и выходе из реактора; интегратор же АДС рассчитывает суммарный расход озона в реакции, который отражает площадь под кривой поглощения и пропорционален числу ДС в ЖК [13]. Температуру в реакторе, близкую к нулю, поддерживали, помещая реактор в сосуд со смесью воды со льдом. В качестве стандартного образца сравнения использовали раствор *trans*-стильбена с одной ДС в 4-х хлористом углеводе – CCl_4 ; кон-

центрация стандартного образца $C_{ct} = 2 \cdot 10^{-2}$ М. Все использованные ЖК также растворяли в CCl_4 в той же концентрации. Все ЖК, кроме гадолеиновой МЖК, обладают хорошей растворимостью.

Концентрацию ДС рассчитывали по формуле:

$$[ДС] = C_{ct} \cdot S_{жк} \cdot V_{ct} \div S_{ct} \cdot V_{жк}, \quad (1)$$

где $S_{жк}$ и S_{ct} – показатели интегратора для ЖК и стильбена, $V_{жк}$ и V_{ct} – введённые в реактор объёмы проб: 10, 20, 30 и 40 мкл. Определение числа ДС проводили с учётом линейной зависимости от концентрации стильбена и ЖК. Необходимость выявления числа ДС в ЖК требуется для контроля окисленности образцов ЖК, т. е. их «порчи». Чувствительность прибора составила порядка $2 \cdot 10^{-7}$ М.

На рис. 3 приведены кинетические кривые окисления озоном стильбена и ЖК: олеиновой МЖК, линолевой и линоленовой ННЖК; запись проведена при одинаковых значениях их концентрации и объёма.

Для оценки констант скорости окисления ЖК озоном провели сравнение скоростей увеличения концентрации O_3 после введения стильбена или ЖК в реактор и до окончания их действия (при резком росте концентрации озона на выходе из реактора). Принимая константу скорости взаимодействия стильбена с озоном, равную $k_{ct} = 1,8 \cdot 10^5 \cdot M^{-1}c^{-1}$ [4], и, используя кинетическое уравнение расхода ЖК при постоянной начальной концентрации озона, можно выразить $k_{жк}$ через скорости реакций для стильбена и ЖК:

$$k_{жк} = (dC_{жк}/dt) \cdot (dC_{ct}/dt)^{-1} \cdot [C_{ct}] \cdot [C_{жк}]^{-1} \cdot k_{ct}, \quad (2)$$

а учитывая, что $[C_{ct}] = [C_{жк}] = 2 \cdot 10^{-2}$ М и, заменяя производные тангенсами наклона кинетических кривых для стильбена и ЖК в области их расхода, получим:

$$k_{жк} = (\Delta C_{жк} \div \Delta t_{жк}) \cdot (\Delta C_{ct} \div \Delta t_{ct})^{-1} \cdot k_{ct} \quad (3)$$

Погрешность измерения ДС для стильбена и ЖК, с учётом повторяемости результатов, не превышала 15%. Статистиче-

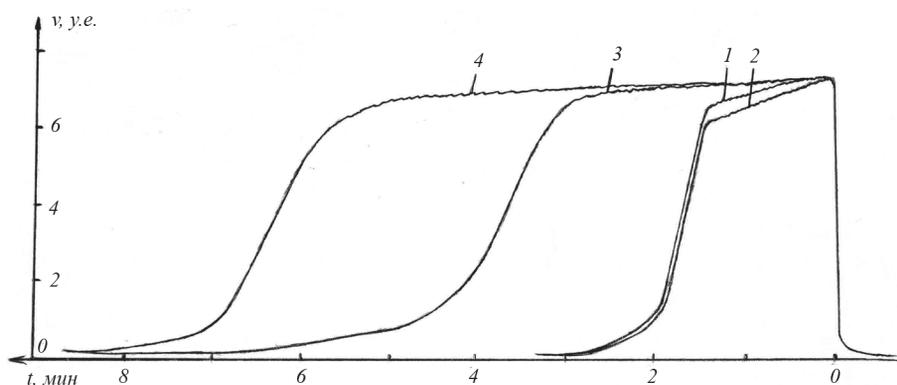


Рис. 3. Озонограммы ЖК.

1) стильбен; 2) олеиновая МЖК; 3) линолевая; 4) линоленовая ННЖК.

По оси ординат: v – уменьшение концентрации O_3 на выходе из реактора (максимальная концентрация озона – вблизи нулевой линии). Исходные концентрации стильбена и ЖК – $2 \cdot 10^{-2}$ М; объём вводимых в реактор проб 30 мкл.

скую обработку результатов проводили при использовании стандартных алгоритмов программ MS Excel. Все результаты представлены в виде значений средней величины \pm стандартная ошибка среднего [14].

Результаты и обсуждение. Для установления динамического диапазона измерений одновременно с записью кинетических кривых проверяли линейность зависимости числа ДС от объёма растворов стильбена и ЖК, вводимых в реактор V (рис. 4). Число ДС рассчитывали по формуле (1).

Для всех оценённых ЖК с одной ДС соответствующие точки ложатся на прямую 1, как для стильбена. Это свидетельствует о том, что все стандартные образцы ЖК содержали все ДС и не были окисленными. Для пальмитиновой и миристиновой НЖК интегратор АДС показал нулевой отклик; что указывает на отсутствии ДС. В таблице приведены все результаты оценки изученных нами ЖК. Константу скорости взаимодействия ЖК с O_3 рассчитывали по формуле (3).

Основные параметры ЖК, которые определяют кинетику их взаимодействия с озоном: 1) число атомов углерода (длина алифатической цепи); 2) число ДС в цепи МЖК, ННЖК и ПНЖК; 3) расположение ДС по длине цепи ЖК; 4) их конфигурация -физиологичная-цис или афизиологичная-транс.

Самое высокое значение константы ($k_{\text{жк}} = 2,58 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) имеет олеиновая МЖК: ДС в её составе локализована в центре цепи ЖК с цис-конфигурацией молекулы (рис. 2). Цис-конфигурация этой ДС, т. е. замена её на *trans*, уменьшает

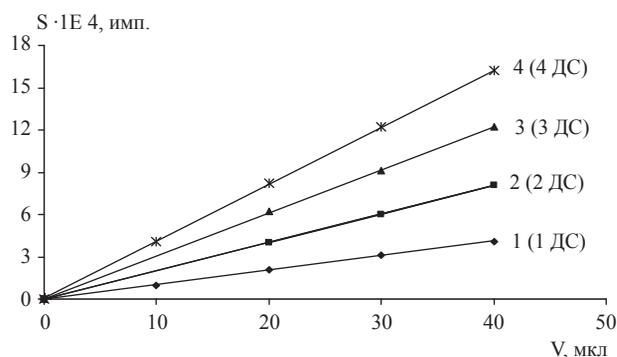


Рис. 4. Зависимости показателей интегратора S от вводимого в реактор объёма V для: 1) стильбена; 2) линолевой ННЖК; 3) линоленовой ННЖК; 4) арахидоновой ПНЖК с 1–4 ДС.

константу скорости реакции транс-элаидиновой МЖК с O_3 , по сравнению с цис-олеиновой МЖК почти в 2 раза. Объяснить это можно тем, что потенциальная энергия транс-изомера ЖК меньше, чем цис-изомера. Реакция озона с олеиновой МЖК проходит с большей энергией активации, т. е. меньшая часть молекул транс-изомера обладает достаточной энергией для преодоления барьера активации [4]. Транс-форма олеиновой МЖК, элаидиновая МЖК, имеет другие химические и физические свойства; обусловлены они иной конфигурацией связей. Элаидиновую $C_{18} : 1$ транс- ω -9 НЖК характеризует и более высокая температура плавления (45°C) по сравнению с $C_{18} : 1$ цис- ω -9 олеиновой МЖК ($13,4^\circ\text{C}$). Это существенное различие происходит в силу способности транс-молекул МЖК формировать более плотную упаковку цепей ЖК, образуя подобие твёрдого тела. Оно остаётся таковым и *in vivo* – у человека в клетках при физиологичной температуре тела $36,6^\circ\text{C}$.

Расположение ДС по длине цепи атомов углерода для C_{18} ЖК также меняет величину константы скорости взаимодействия с озоном; это следует из таблицы для: $C_{18} : 1$, цис- ω 9 олеиновой МЖК; для $C_{18} : 1$ цис- ω -6 петроселиновой МЖК и для $C_{18} : 1$, цис- ω -11 вакценовой МЖК. Более дальнее расположение ДС в цис-конфигурации от центра ЖК (ω -11) приводит к уменьшению $k_{\text{жк}}$. Для МЖК с разной длиной алифатической цепи (пальмитолеиновой, эруковой и нервоновой) наблюдается уменьшение величины $k_{\text{жк}}$ с увеличением количества атомов углерода в молекуле.

С увеличением числа ДС в молекулах ЖК скорость реакции окисления их озоном значительно уменьшается, процесс идёт более медленно (рис. 3). По-видимому, озон последовательно разрывает двойные связи в зависимости от расположения их в цепи атомов углерода и энергии их связи. Полученные в настоящей работе величины констант скорости взаимодействия ЖК с озоном существенно отличаются от тех, которые выявляли ранее [6]. Для олеиновой ЖК измеренная ранее константа озонирования была примерно в 4 раза больше ($10^6, \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$), чем в настоящей работе. Для арахидоновой ЖК – в 2 раза больше ($2,4 \cdot 10^5, \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$), а для линолевой ЖК – более чем в 2 раза меньше ($0,61 \cdot 10^5, \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$). Для пальмитиновой и миристиновой ЖК в наших измерениях числа ДС и $k_{\text{жк}}$ были равны нулю, в то время как в [6] константа скорости взаимодействия O_3 с пальмитиновой НЖК составила $6 \cdot 10^{-2} \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$. Поскольку авторы ранее [6] не указали методику расчёта величины констант, можно предположить, что такая разница связана с иными условиями проведения экспериментов, в частности с более высокой чувствительностью прибора и низкими концентрациями растворов, которые использованы для ЖК и стильбена.

Значение полученных данных для биологии и медицины состоит в том, что ранее (в первых работах по озонлизу) мы взяли их за основу при формировании филогенетической теории общей патологии. Согласно этой теории, на самых ранних ступенях филогенеза, во многом ещё не совершенные клетки – археи, начали в мультиферментном комплексе, в реакции Кноппа–Линена, из уксусной кислоты, активированного ацетил-КоА синтезировать пальмитиновую $C_{16} : 0$ НЖК без образования более коротких НЖК. Определено это тем, что $C_{16} : 0$ пальмитиновая НЖК – наиболее короткая ЖК, которая формирует монослой-

Число ДС в ЖК, рассчитанное по формуле (1), и константы скорости взаимодействия ЖК с озоном

Наименование ЖК	Измеренное число ДС	$k_{\text{жк}} \cdot 10^{-5}, \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$
Олеиновая, С18 : 1, цис-9	0,996 ± 0,024	2,58 ± 0,33
Элаидиновая, С18 : 1, транс-9	0,994 ± 0,021	1,40 ± 0,23
Петроселиновая, С18 : 1, цис-6	1,012 ± 0,013	1,53 ± 0,21
Вакценовая, С18 : 1, цис-11	1,038 ± 0,067	1,32 ± 0,26
Пальмитолеиновая С16 : 1, цис-9	0,998 ± 0,026	1,30 ± 0,13
Гадолеиновая, С20 : 1, цис-11	не раствор.	-
Эруковая, С22 : 1, цис-13	0,998 ± 0,023	1,03 ± 0,08
Нервоновая, С24 : 1, цис-15	1,011 ± 0,021	0,99 ± 0,02
Линолевая, С18 : 2, цис-9, 12	1,984 ± 0,031	1,47 ± 0,22
Линоленовая, С18 : 3, цис-9, 12, 15	3,002 ± 0,015	0,93 ± 0,11
Арахидоновая, С20 : 4, цис- 5, 8, 11, 14	3,976 ± 0,031	0,85 ± 0,13
Миристиновая, С14 : 0	0	0
Пальмитиновая, 16 : 0	0	0

ные, бислойные структуры. Это происходило в условиях высокой температуры первого мирового океана (36–42°C). Синтез пальмитиновой НЖК был облигатным условием формирования и самих клеток. Этот синтез древние археи сформировали на миллионы лет раньше, чем иные клетки (автотрофы) стали синтезировать глюкозу при использовании физико-химических реакций фотосинтеза. За синтезом автотрофами глюкозы последовал «великий биологический симбиоз» – функциональное слияние архей и автотрофов. Это привело к образованию более совершенных симбионтов; они стали для обеспечения энергией (синтеза макроэргического АТФ) окислять в митохондриях как ЖК в форме ацетил-КоА, так и глюкозу в форме пировиноградной кислоты, ацетил-КоА. Однако клетки животных запасать *in vivo* гидрофильную глюкозу в оптимальном количестве так и не смогли. На суше у травоядных животных для депонирования экзогенной глюкозы из пищи гепатоциты стали использовать её как субстрат для синтеза пальмитиновой НЖК и пальмитиновых ТГ, в которых пальмитиновая НЖК этерифицирована в позиции *sn*-2 3-атомного спирта глицерина с вторично спиртовой группой. Со временем температура океана уменьшалась, и низкая химическая реакционная способность пальмитиновой НЖК стала серьезным препятствием для выживания всего живого. Все организмы не могут достаточно быстро депонировать и освобождать из ТГ оптимальное количество пальмитиновой НЖК. Быстро не могут окислять пальмитиновую НЖК и митохондрии; внутренняя мембрана их трудно проницаема для пальмитиновой НЖК.

В этих, казалось бы, непреодолимых условиях, клетки стали реализовать все возможности превращения синтезированной из экзогенной глюкозы пищи пальмитиновой НЖК в иную ЖК с более высокой константой скорости окисления её *in vivo*. За миллионы лет до становления в филогенезе функции инсулина инсулиноподобный фактор роста экспрессировал синтез фермента пальмитоил-КоА-десатуразы и стал превращать С16 : 0 пальмитиновую НЖК в С16 : 1 пальмитолеиновую МЖК. На этом пути «пальмитиновая НЖК → пальмитолеиновая МЖК» успеха достигнуто не было.

Через миллионы лет, при становлении в филогенезе травоядных животных, биологической функции локомоции и регуляторной активности инсулина, гормон стал обеспечивать субстратами для наработки энергии *in vivo* всю массу скелетных миоцитов. Кинетические характеристики окисления *in vivo* пальмитиновой НЖК, как и параметры движения, действия всех организмов оставались низкими. В

столь критических условиях инсулин экспрессировал синтез *in vivo* двух новых сопряжённых ферментов, из них: а) пальмитоил-КоА-элонгаза стала превращать С16 : 0 пальмитиновую НЖК в С18 : 0 стеариновую НЖК; б) стеарил-КоА-десатураза превратила С18 : 0 стеариновую НЖК в С18 : 1 цис- ω -9 олеиновую МЖК. Среди всех ЖК константа скорости окисления С18 : 1 цис ω -9 наиболее высока. Инсулин стал тем гуморальным медиатором, гормоном, который сформировал физиологичное сочетание как высоких параметров метаболизма ЖК, так и метаболические превращения глюкозы как субстрата в синтезе олеиновой МЖК, а также окисление глюкозы в форме пирувата, ацетил-КоА в митохондриях клеток. Именно инсулин инициировал развитие животных с высокой скоростью движения при реализации ими биологической функции локомоции. На ступенях филогенеза, мы полагаем, биологическая роль инсулина состоит в том, что гормон: а) способствовал превращению на суше вышедших из океана плотоядных (рыбоядных) животных в травоядные; б) обеспечил всем животным высокие кинетические параметры движения при реализации биологической функции локомоции и в) осуществил превращение *in vivo* мало эффективного пальмитинового варианта метаболизма ЖК с постоянным дефицитом энергии в форме АТФ в потенциально высокоэффективный вариант олеинового метаболизма ЖК. В филогенезе низкая химическая активность пальмитиновой НЖК и высокая химическая активность олеиновой НЖК – основной этиологический фактор двух афизиологичных процессов – атеросклероза и атероматоза, ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда. Согласно филогенетической теории общей патологии, нарушение физиологичного действия инсулина (резистентность к инсулину) оставляет основу патогенеза атеросклероза при нарушении биологических функций трофологии (питания), биологической реакции экзотрофии, биологической функции гомеостаза, адаптации и нарушения биологической функции эндозоологии [15]. Биологическую роль инсулина в формировании атеросклероза и атероматоза медленно, но стали признавать и теоретики-эндокринологи [16]; прислушиваться стали и практики-клиницисты [17–18].

Велика беда – начало.

Заключение. В настоящей работе проведено изучение кинетических характеристик реакций взаимодействия озона с индивидуальными насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами, имеющими различное молекулярное строение. Проведена оценка констант скоростей этих реакций. Выявлены зависимости величин этих констант от таких параметров ЖК, как длина алифатической цепи молекулы, количества ДС в ней, расположения ДС и её конфигурации. Самая высокая константа скорости оказалась у олеиновой МЖК ЖК, однако она в 4 раза меньше, чем измеренная ранее другими авторами. По мере увеличения числа ДС в молекуле и её длины константы скорости реакций их взаимодействия с озоном убывают.

Результаты работы могут быть использованы в медико-биологических приложениях при изучении метаболизма ЖК в живых организмах.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 5,6, 8-10, 18
см. REFERENCES)

1. Котельников С.Н. Основные механизмы взаимодействия озона с живыми системами и особенности проблемы приземного озона. *Труды Института общей физики им. А.М. Прохорова РАН.* 2015; 71: 10 - 41.

2. Белан Б.Д. *Озон в тропосфере*. Томск: ИОА СО РАН; 2010.
3. Баллузек Ф.Б., Арчаба З.И., Челибанов В.П. *Озон в медицине*. Санкт-Петербург. 2005.
4. Разумовский С.В., Заиков Г.Е. *Озон и его реакции с органическими соединениями*. М.: Наука; 1974.
7. Рощина В.В. *Озон и живая клетка*. Учебное пособие к спецкурсу. Пушкино: Аналитическая микроскопия; 2009.
11. Титов В.Н., Лисицын Д.М. *Жирные кислоты. Физическая химия, биология, медицина*. М. – Тверь: Издательство «Триада»; 2006.
12. Титов В.Н., Коновалова Г.Г., Лисицын Д.М., Разумовский С.Д., Нежданова И.Б., Кухарчук В.В. Кинетика окисления жирных кислот в липидах липопротеинов низкой плотности на основании регистрации расхода окислителя и прироста продукта реакции. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2005; 140(7): 45 -7.
13. Титов В.Н., Сажина Н.Н., Евтеева Н.М., Ариповский А.В., Тхагалижкокова Э.М. Титрование двойных связей в жирных кислотах плазмы крови у пациентов в тесте толерантности к глюкозе. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2015; 1: 12 - 15.
14. Дерффель К. *Статистика в аналитической химии*. М.: Мир; 1994.
15. Титов В.Н. Синтез насыщенных, моноеновых, ненасыщенных и полиеновых жирных кислот в филогенезе, эволюционные аспекты атеросклероза. *Успехи современной биологии*. 2012; 132(2): 181 – 99.
16. Панков Ю.А. Адипогенная функция и другие биологические эффекты инсулина. *Биомедицинская химия*. 2016; 62(1): 5 - 13.
17. Титов В.Н., Ширинский В.П. Резистентность к инсулину – конфликт между биологическими настройками энергетического метаболизма и образом жизни (взгляд на проблему с эволюционных позиций). *Сахарный диабет*. 2016; 19(4): 286 -94.
6. Lisitsyn D.M., Razumovskiy S.D., Tishenin M.A., Titov V.N. Kinetic parameters of oxidation of individual fatty acids with ozone. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2004; 5: 457-9.
7. Roshchina V.V. *Ozone and a living cell. [Ozon i zhivaya kletka]*. Uchebnoe posobie k spezkursu. Pushino: Analiticheskaya mikroskopoya; 2009. (in Russian)
8. Roshchina V.V., Roshchina V.D. *Ozone and plant cell*. Dordrecht: Kluwer; 2003.
9. Cappello C., Saugel B., Huth K.C., Zwergal A., Krautkrämer M., Furman C., Rouis M., Wieser B., Schneider H.W., Neumeier D., Brand K. Ozonized low density lipoprotein (ozLDL) inhibits NF-kappaB and IRAK-1-associated signaling. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27: 226 – 332.
10. Gerd H., Ledinski G, Kager G, Hallström S., Tafelit E., Koestenberger M., Jürgens G., Cvirn G. In vitro oxidation of LDL by ozone. *Chem. Physics. Lipids*. 2014; 183: 18 - 21.
11. Titov V.N., Lisizin D.M. *Fatty acid. Physical chemistry, biology, medicine. [Ghirnye kisloty. Fizicheskaya khimiya, biologiya, meditsina]*. Moscow-Tver': Izdatel'stvo «Triada»; 2006. (in Russian)
12. Titov V.N., Konovalova G.G., Lisizin D.M., Razumovskiy S.D., Naghdanova I.B., Kukharchuk V.V. Kinetics of oxidation of fatty acids in lipids of low-density lipoproteins on the basis of registration of oxidant consumption and increment of the reaction product. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2005; 140(7): 45 -7. (in Russian)
13. Titov V.N., Sazhina N.N., Evteeva N.M., Aripovskiy A.V., Thagali-jokova E.M. Titration of double bonds in fatty acids of blood plasma in patients in the test for glucose tolerance. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2015; 1: 12 - 5. (in Russian)
14. Derffel' K. *Statistics in analytical chemistry. [Statistika v analiticheskoy khimii]*. Moscow: Mir; 1994. (in Russian)
15. Titov V.N. Synthesis of saturated, monoenoic, unsaturated and polyene fatty acids in phylogenesis, evolutionary aspects of atherosclerosis. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2012; 132(2): 181 - 99. (in Russian)
16. Pankov Yu.A. Adipogenic function and other biological effects of insulin. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2016; 62(1): 5 - 13. (in Russian)
17. Titov V.N., Schirinskiy V.P. Insulin resistance is a conflict between the biological settings of energy metabolism and the way of life (a look at the problem from the evolutionary perspective). *Sakharniy diabet*. 2016; 19(4): 286 -94. (in Russian)
18. Titov V. N. Common etiology, different pathogenesis and basics of atherosclerosis and atheromatosis prevention. Marked differences in lipoprotein-mediated fatty acids transport in blood of herbivores and carnivores. *J. Cardioprog. Found.* 2016; 4(12): 22 - 35.

REFERENCES

Поступила 01.06.17
Принята к печати 09.06.17