

© КОЛОТЬЕВА Н.А., ГИЛЬМИЯРОВА Ф.Н., 2019

Колотьева Н.А., Гильмиярова Ф.Н.

РОЛЬ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ В РЕГУЛЯЦИИ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

Статья посвящена межмолекулярным взаимодействиям, в частности взаимодействиям белков и естественных интермедиатов (малых молекул). Молекулы с молекулярной массой от 40 до 1000 Да находятся в свободном состоянии в цитоплазматическом растворе и образуют пул промежуточных продуктов. Представлены методы компьютерного моделирования для предсказания белок – белковых, белок – лигандных, белок- малая молекула взаимодействий. Программой для моделирования прогнозируемой биологической активности in silico является Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS). В системе Search Tool for Interacting Chemicals (STITCH) возможно определение потенциальных белковых партнеров взаимодействия для малых молекул. В обзоре литературы представлены современные данные о малых молекулах – переключателях обменов веществ, таких как α -глицерофосфат – дигидроксиацетонфосфат, пируват – лактат, оксалоацетат – малат. Изучаемые нами молекулы оказывают разнонаправленные и множественные влияния на метаболизм и на системы межклеточного взаимодействия. Естественные интермедиаты находятся на точке пересечения метаболических путей обмена белков, углеводов, липидов, являются сигнальными молекулами, участвуют в регуляции функции белка, экспрессии генов, активности ферментов. Увеличивающийся интерес по расшифровке взаимодействий белок – малая молекула / метаболит на системном уровне заложат концептуальную основу, которая обеспечивает представление о сложной эпигенетической регуляции при различных воздействиях окружающей среды. Полный интерактом, включая взаимодействие белок-малая молекула, будет иметь решающее значение для того, чтобы в конечном итоге распутать сложные отношения между генотипом и фенотипом и обеспечить более глубокое понимание здоровья и болезней.

Ключевые слова: малые молекулы; пируват; лактат; оксалоацетат; малат; α -глицерофосфат; дигидроксиацетонфосфат; обзор.

Для цитирования: Колотьева Н.А., Гильмиярова Ф.Н. Роль малых молекул в регуляции обмена веществ (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (12): 716-722. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-12-716-722>.

Kolotyeva N.A., Gilmiyarova F.N.

THE ROLE OF SMALL MOLECULES IN METABOLISM REGULATION (REVIEW OF LITERATURE)

Samara State Medical University, 43099, Samara, Russia

The paper focuses on intermolecular interactions, particularly interactions between proteins and natural intermediates (small molecules). Molecules with a molecular weight of up to 1000 Da are free in cytoplasmic solution and form a pool of intermediates. Methods of computer modeling for prediction of protein-proteinaceous, protein-ligand, protein – a small molecule of interactions are presented. The program for modeling predicted biological activity in silico is Prediction of Activity Spectrum for Substances (PASS). In the Search Tool for Interacting Chemicals (STITCH) system, it is possible to identify potential protein interaction partners for small molecules.

A review of the literature presents modern data on small molecules – metabolic switches, such as α -glycerophosphate-dihydroxyacetone phosphate, pyruvate-lactate, oxaloacetate-malate. The molecules we study have different and multiple effects on metabolism and on intercellular interaction systems. Natural intermediates are at the intersection of metabolic pathways of metabolism of proteins, carbohydrates, lipids; they are signal molecules, participate in regulation of protein function, gene expression, enzyme activity. An increasing interest in deciphering protein-small molecule/metabolite interactions at the systemic level will lay a conceptual foundation that provides insight into complex epigenetic regulation under various environmental influences. A complete interplay, including a protein-small molecule interaction, will be crucial to eventually unraveling the complex relationships between the genotype and phenotype and to provide a deeper understanding of health and disease.

Key words: small molecules; pyruvate; lactate; oxaloacetate; malate; α -glycerophosphate; dihydroxyacetonephosphate; review.

For citation: Kolotyeva N.A., Gilmiyarova F.N. The role of small molecules in metabolism regulation (review). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostica (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (12): 716-722. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-12-716-722>

For correspondence: Kolotyeva N.A., PhD, docent of the chair of fundamental and clinical biochemistry with laboratory diagnostics, e-mail: bio-sam@yandex.ru

Information about authors:

Kolotyeva N.A., <https://orcid.org/0000-0002-7853-6222>

Gilmiyarova F.N., <http://orcid.org/0000-0001-5992-3609>

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

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 21.10.2019
Accepted 30.10.2019

Под малыми молекулами принято понимать соединения органической природы с молекулярной массой от 40 до 1000 Да, которые находятся в свободном состоянии в цитоплазматическом растворе, образуя пул промежуточных продуктов [1].

В связи с трудоемкостью, сложностью в изучении и дороговизной экспериментальных методов, важнейшая роль отводится методам *in silico* предсказания белок – белковых, белок – лигандных, белок – малая молекула взаимодействий. Компьютерное моделирование становится важным инструментом, использующимся для интегрированного подхода к пониманию сложных внутри- и межклеточных процессов. Сведения о белках, малых молекулах, структуре генов, а также возможные функциональные взаимосвязи между ними собраны в библиотеки и базы данных: Drug Bank, GPCRligand (GLIDA), Matador, Киотская энциклопедия генов и геномов (KEGG), сравнительной токсикогеномики (CTD), биоактивных молекул ChEMBL, Protein Data Bank, MEDLINE, PubMed Central, NIH RePORTER и другие. Последние современные технологические достижения позволили объединить и изучить большой массив данных, в результате чего были найдены некоторые «неожиданные» взаимодействия белков с малыми молекулами, которые могут оказать глубокое влияние на наше понимание передачи сигналов клетками. Одной из программ моделирования прогнозируемой биологической активности *in silico* является Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) [2]. В основе лежит описание структурной формулы с использованием единого описания химической структуры и универсального математического алгоритма установления зависимостей «структура-активность». В системе Search Tool for Interacting Chemicals (STITCH) версии 5.0. (Инструмент поиска взаимодействующих химических веществ) возможно определение потенциальных белковых партнеров взаимодействия для малых молекул. Доступен полнотекстовый поиск по идентификаторам и общим названиям химических веществ и белков, сведения о малой молекуле вводятся с применением стандартной записи SMILES для поиска аналогичных химических веществ. Сеть взаимодействия может быть отображена и настроена по степени доказательности (evidence), уверенности (confidence), молекулярному действию (molecular action) или аффинитету связи (binding affinity) [3].

Группой ученых во главе с X. Li [4] было проведено систематическое изучение литературы, опубликованной с 2002 по 2011 г., посвященной межмолекулярным взаимодействиям, в частности изучению белков и малых молекул. У дрожжей, например, было выявлено до 43,7 миллионов белок – белковых, белок – ДНК, белок – РНК, белок – метаболит (малая молекула) взаимодействий. Лишь в 2009 г. появились первые данные об изучении белков и малых молекул, что отстает от исследования других типов отношений [4]. По данным этого исследования многие естественные метаболиты обладают структурным сходством с известными искусственными малыми молекулами из базы данных белков (PDB), и характеризуются по сходству размера (от 40 до 1000 Да) и химическим

свойствам (гидрофобность легкой и средней степени). С другой стороны, малые молекулы, рассеянные вокруг белка, могут связывать и изменять его биологические функции, такие как активность ферментов и интерактивность белков. Эти взаимодействия являются важным средством аллостерической регуляции ферментов и рецепторов [4].

Существование посттрансляционной модификации расширяет возможности клеток в регуляции метаболизма. Обратимые посттрансляционные модификации более склонны предлагать динамическую модуляцию активности белка в ответ на внешние и внутренние сигналы, в то время как необратимые в основном, но не исключительно, связаны с синтезом и деградацией белка, мембранным нацеливанием и межбелковым взаимодействием. Большинство посттрансляционных модификаций зависят от уровня метаболита и, в свою очередь, регулируют активность или количество ферментов. Центральный углеродный обмен обеспечивает предшественники, необходимые для добавления к белкам и для модификации ДНК. Модификации гистонов и ДНК (главным образом, метилирование) приводят к серьезным эпигенетическим изменениям. Тем не менее, ферменты сами являются мишенями для посттрансляционных изменений, что приводит к обратной регуляции метаболизма. Таким образом, почти любой фермент в центральном метаболизме подвергается посттрансляционным модификациям, и если рассматривать только современные идентифицированные варианты с функциональной релевантностью, то значительное количество ферментов подвержено множественным изменениям [5]. Например, 30% сайтов ацетилирования в клетках человека также являются сайтами убиквитинирования, что приводит к конкуренции между ацетилированием и убиквитинированием для регуляции стабильности белка [6].

Целесообразным, на наш взгляд, является изучение роли естественных интермедиатов – переключателей обменов веществ. Метаболиты взаимодействуют с различными белками ферментативно в качестве субстратов и продуктов или аллостерически в качестве кофакторов или лигандов. Изучение малых молекул представляется актуальной задачей, поскольку остается достаточное количество вопросов о функционировании, транспорте и межмолекулярном взаимодействии метаболитов с окружающими белками. Ожидается, что документирование и интерпретация взаимодействий между метаболитами и белками в биологическом контексте будут важны для определения качества здоровья человека и медицины в целом, помогая исследователям понять молекулярную основу здоровых и больных состояний. Мы считаем необходимым подробнее изучить такие пары метаболитов как α -глицерофосфат – дигидроксиацетонфосфат, пирuvat – лактат, оксалоацетат – малат.

Образующийся во время гликолиза α -глицерофосфат, является исходным субстратом для цикла глицеролипид / свободная жирная кислота и находится на перекрестке метаболизма глюкозы и липидов. Участие α -глицерофосфата во многих биологических процессах и его доступность для клеточных структур

регулирует многие клеточные функции, такие как секреция инсулина, глюконеогенез, чувствительность к инсулину, синтез и накопление жира, а также выживание и пролиферация клеток, включая раковые клетки [7].

До недавнего времени считалось, что в клетках животных у α -глицерофосфата по существу две судьбы: одна – это превращение в дигидроксиацетон-3-фосфат, а другая – проникновение в липогенный путь через образование лизофосфатидной кислоты под действием глицерол-3-фосфат-ацилтрансферазы. α -глицерофосфат также может быть синтезирован путем прямого фосфорилирования глицерина глицерокиназой, однако она ограничена в своей активности и присутствует в основном в печени и почках и слабо экспрессируется в островках поджелудочной железы, мозге и других тканях. В печени, почках и жировых тканях, которые вырабатывают цитозольную фосфоенолпируваткарбоксикиназу, образование α -глицерофосфата также может осуществляться посредством глицеронеогенеза, начиная с лактата, пирувата, аланина или глутамина [8].

Недавние исследования показывают, что канцерогенез зависит не только от гликолиза, но и от липидного обмена, что открыло новое терапевтическое окно для лечения рака [9]. Таким образом, контроль уровня α -глицерофосфата в клетке может предложить механизм, с помощью которого многие патогенные пути, вовлеченные в ожирение, сахарный диабет 2 типа, а также в пролиферацию раковых клеток, могут быть замедлены.

В ходе эволюции предполагается, что клетки млекопитающих утратили способность непосредственно гидролизовать α -глицерофосфат до глицерина, пока недавнее открытие не показало, что ранее известный фермент млекопитающих, фосфогликолатфосфатаза, может функционировать как фосфатаза глицерол-3-фосфата и регулировать уровень α -глицерофосфата. Появляющиеся в литературе данные указывают на то, что фосфогликолатфосфатаза является эволюционно консервативным «многозадачным» ферментом, который принадлежит к суперсемейству ферментов, подобных галогенкислотной дегалогеназоподобной фосфатазе, и способен гидролизовать α -глицерофосфат, богатый физиологически значимый субстрат, а также другие метаболиты, включая 2-фосфогликолят, 4-фосфоэритронат и 2-фосфолактат, которые присутствуют в гораздо меньших количествах в клетках при нормальных условиях. Глицерол-3-фосфатфосфатаза, регулируя уровни α -глицерофосфата, играет критическую роль в промежуточном метаболизме, включая гликолиз, окисление глюкозы, клеточный окислительно-восстановительный потенциал и выработку АТФ, глюконеогенез, этерификацию жирных кислот в направлении синтеза глицеролипидов и окисления жирных кислот [10].

Дигидроксиацетонфосфат – окислительно-восстановительный партнер α -глицерофосфата. Равновесие реакции смещено в сторону образования дигидроксиацетонфосфата, и это имеет высокий биологический смысл: при недостатке энергии эта молекула изомеризуется в глицеральдегид-3-фосфат и продолжает свой

путь в гликолитическом процессе, при достаточном количестве энергии дигидроксиацетонфосфат может вступать на путь биосинтеза липидов, превращаясь в α -глицерофосфат. Также этот интермедиат является субстратом для глюконеогенеза. Кроме этого, дигидроксиацетонфосфат косвенно участвует в метаболизме этанола. Накопление дигидроксиацетонфосфата, без использования его в других метаболических путях, может приводить к повреждению клеточных структур, так как данный метаболит ферментативно и неферментативно может превращаться в токсичное вещество – метилглиоксаль, которое специфически взаимодействует с белками [11].

Глицерофосфатный челночный механизм – вторая важнейшая, наравне с малат-аспартатной, редокс-система – был впервые описан в работе Green D.E., который отметил присутствие данного фермента во многих тканях млекопитающих. Данная система является тонким регулятором синтеза триглицеридов и фосфолипидов, поскольку митохондриальная глицерофосфатдегидрогеназа и глицерол-3-фосфат ацилтрансфераза конкурируют за единый субстрат, определяя приоритетное для клетки в данный момент времени направление метаболизма [12, 13]. Согласно современным представлениям, митохондриальная глицерофосфатдегидрогеназа расположена не только в бурой жировой ткани: высокое содержание зафиксировано также в мышцах, головном мозге, поджелудочной железе, яичках, плаценте и фибробластах, а низкое – в печени и сердце [13]. Роль данной системы велика в успешном протекании акросомальной реакции, при которой происходит разрушение желточной оболочки яйцеклетки, поскольку в акросоме сперматозоидов содержится большое количество митохондриальной изоформы глицерофосфатдегидрогеназы [14]. Кроме этого, митохондриальная глицерофосфатдегидрогеназа участвует в продукции свободных кислородных радикалов в плаценте во время первого триместра беременности, активируя работу антиоксидантных систем матери и плода [15]. Отмечено значение данной системы в патогенезе сахарного диабета. Синтез глюкозы сопровождается подъемом содержания кальция, который также является активатором митохондриальной глицерофосфатдегидрогеназы [16].

Одним из важнейших промежуточных компонентов метаболизма и источником энергии для митохондрий является пируват. Он участвует в окислительном фосфорилировании, глюконеогенезе, липогенезе *de novo*, синтезе холестерина, а также поддержании функционирования цикла трикарбоновых кислот. Эта малая молекула синтезируется в результате реакций анаэробного гликолиза под действием фермента пируваткиназы, а также образуется из различных прекурсоров: лактата под действием лактатдегидрогеназы, малата под действием цитозольной малатдегидрогеназы, возможен синтез пирувата из аланина в митохондриях. Также в пируват могут быть превращены серин, треонин, глицин, цистеин и триптофан [17]. Пируват, наряду с субстратами цитратного цикла (цитратом, сукцинатом, малатом и др.), лактатом, глицерином, аминокислотами (аланин, глутамин, серин

и др.) участвует в регуляции метаболизма глюкозы с помощью метаболического шунтирования.

Пируват имеет две судьбы. Во-первых, в митохондриях пируват катаболизируется, для синтеза ацетил-КоА митохондриальным комплексом пируватдегидрогеназой, и ацетил-КоА тогда полностью окисляется через цикл трикарбоновых кислот с образованием цитрата, оксалоацетата, малата и других метаболитов. Во-вторых, пируват превращается в лактат, который выделяется в кровообращение и используется гепатоцитами для производства глюкозы посредством глюконеогенеза. Гликолитические продукты используются для синтеза жирных кислот посредством липогенеза *de novo*. Инсулин активирует превращения пирувата в ацетил-КоА, который в дальнейшем может быть использован не только для выработки метаболической энергии, но и для биосинтеза липидов, кетонных тел, биогенных аминов и ацетилхолина. С другой стороны, жирные кислоты, высвобождаемые при липолизе, доставляются в печень и метаболизируются до ацетил-КоА, который усиливает активность пируваткарбоксилазы, направляя пируват в глюконеогенный путь. Таким образом, пируват, основной гликолитический продукт, обеспечивает источник углерода для липогенеза и связывает гликолиз с липогенезом [18].

В 2012 г. двумя независимыми исследовательскими группами с помощью применения биоинформационных и генетических методов был открыт комплекс белков, отвечающий за транспорт пирувата через митохондриальную мембрану, который получил название митохондриальный переносчик пирувата (МРС) [19]. Данный комплекс состоит из трех типов белков, два из которых, МРС-1 и МРС-2, весом 12 и 15 кДа соответственно, встречаются почти во всех живых организмах и формируют олигомерный комплекс на внутренней мембране митохондрий весом порядка 150 кДа. Было отмечено, что ткани организма не однородны по экспрессии белков семейства МРС. Пируват, в особенности его митохондриальная фракция, имеет большое значение для обменных процессов поджелудочной железы, в частности, секреции инсулина. Известно, что β -клетки поджелудочной железы имеют рецепторы к белкам и МРС-1, и МРС-2. Блокирование данных рецепторов специфическим ингибитором пирувата α -циано-4-гидроксициннаматом приводит к уменьшению потребления кислорода, а также уменьшению соотношения АТФ/АДФ и НАДФН/НАДФ, что приводит к нарушению выделения инсулина, а также вызывает сбой в работе потенциал-зависимых калиевых ионных каналов [20].

Окисление пирувата составляет от 10 до 30% метаболизма миокарда. В связи с этим, снижение уровня митохондриального метаболизма пирувата за счет увеличения экспрессии киназы пируватдегидрогеназы служит одним из звеньев патогенеза развития и ишемии сердечной мышцы [21].

В то же время, являясь α -кетокислотой, пируват способен проявлять цитопротективные свойства, сходные по эффективности воздействия с глутатионом, элиминируя молекулы пероксида водорода посредством деркабосилирования и образования воды

и углекислого газа. Показаны противовоспалительные эффекты пирувата в патогенезе модели сепсис-индуцированной острой почечной недостаточности, инфаркта миокарда, ишемического инсульта, однако молекулярные основы такого эффекта требуют дальнейшего изучения. Установлено, что пируват является критическим метаболитом в развитии острой почечной недостаточности любого генеза – данное патологическое состояние сопровождается падением уровня пирувата. Обсуждаются возможности терапии данного состояния внутривенным введением этого метаболита [22].

Аберрантный метаболизм пирувата был отмечен в клетках опухолей и назван эффектом Варбурга. Однако метаболический субстрат данного биохимического феномена долгое время оставался неустановленным. Проведенные исследования показали, что именно изоформа пируваткиназы РКМ-2 (изоформа, ассоциированная с клеточной пролиферацией) является маркером незрелости клеток и отвечает за развитие эффекта Варбурга [23].

Лактоацидоз типа А, вызванный гипоксической митохондриальной дисфункцией, является независимым предиктором смертности для критически больных пациентов. Во время гипоксии активность пируватдегидрогеназы значительно ингибируется. Пируват, является активатором и субстратом пируватдегидрогеназы, и способен модулировать кислотный рН крови путем улучшения метаболических путей в условиях гипоксии и, таким образом, может быть оптимальным средством для коррекции лактатацидоза. Пируват имеет низкую константу диссоциации ($pK_a = 2,49$), что свидетельствует о его более слабой буферной способности по сравнению с лактатом ($pK_a = 3,9$). Следовательно, пируват может устранять лактатацидоз в основном благодаря своим биохимическим характеристикам в стимулировании энергетического обмена и улучшении митохондриальной энергетики для окисления накопленного лактата и потребления избыточных протонов. Экзогенный пируват защищает функции многих органов при гипоксии, включая функции печени и почек, главных органов метаболизма глюконеогенеза, что способствует оксигенации тканей и клиренсу лактата [24]. Пируват является ключевым энергетическим метаболическим субстратом и активатором пируватдегидрогеназы с несколькими уникальными полезными биологическими свойствами, включая антиоксидантное и противовоспалительное действие и способность активировать сигнальный путь HIF-1 α – эритропоэтин. Экзогенный пируват в натриевой соли сохраняет метаболизм глюкозы и клеточную энергетику, превосходя эффекты анионов бикарбоната, лактата, ацетата и малата в жидкостях внутривенного введения при эффективной коррекции гипоксического лактатацидоза [25].

Лактат долгое время находился в центре противоречий. С момента своего открытия в 1780 г. немецкоязычным шведским аптекарем и химиком Карлом Вильгельмом Шееле молочной кислоты в кислом молоке, лактат часто ошибочно рассматривали как гипоксический тупиковый метаболит с множественными вредными эффектами. Только в 1980-х годах,

с введением клеточного лактатного челнока, произошел сдвиг парадигмы понимания роли лактата в метаболизме. Доказательства того, что лактат в качестве основного игрока в координации метаболизма всего тела с тех пор быстро растет. Современное понимание состоит в том, что лактат – это повсеместный метаболический промежуточный продукт, действующий одновременно как конечный продукт гликолитического метаболизма и промежуточный продукт для полного окисления углеводов путем окислительного фосфорилирования. Лактат является энергетическим промежуточным продуктом, который может образовываться в тканях, подвергающихся ускоренному гликолизу, и впоследствии распространяться по всему телу для поглощения в качестве топлива для окисления или в качестве предшественника для глюконеогенеза или гликогенеза. У людей основными источниками внутриклеточного L-лактата являются глюкоза и аланин благодаря их превращению в пируват. Было установлено, что в состоянии после абсорбции примерно 65% L-лактата в плазме происходит из глюкозы, в то время как 16-20% L-лактата в плазме происходит из аланина [26].

V.F.Miller и M.J.Roef и соавт. [27,28] с, продемонстрировали, что лактат является важным глюконеогенным предшественником как при низкой, так и при средней интенсивности упражнений. Эти исследования подчеркивают роль лактата как, возможно, самого важного субстрата для глюконеогенеза, и, конечно, ключевую роль в этом печени как важного участника в синтезе клеточного лактата.

Большое количество исследований в настоящее время показало, что трансмембранное движение лактата в целом осуществляется белками Solute Carrier Family 16 (SLC16), одним из 52 семейств SLC с более чем 300 участниками. В частности, монокарбоксилатные транспортеры (MCT) представляют собой семейство транспортеров, включающее 14 родственных белков, только первые четыре из которых особенно важны для транспорта лактата, пирувата и кетонных тел. Скорость обмена лактата резко повышается благодаря активности монокарбоксилатных транспортеров. Монокарбоксилатные транспортеры 1–4 не зависят от энергии (то есть пассивны) и способствуют снижению градиентов концентрации метаболита в сочетании с ионами водорода. Одновременный прогресс в изучении семейства монокарбоксилатных транспортеров позволил концептуальным изменениям роли лактата как промежуточного звена в метаболизме [29].

Цитозоль-митохондриальный лактатный челнок описывает непрерывное гликолитическое продуцирование и митохондриальное окисление лактата в клетке своего происхождения [26]. Соотношение лактат / пируват является преобладающей цитозольной окислительно-восстановительной парой для НАД⁺/НАДН. Повышения концентрации аниона лактата во время клеточного стресса представляют собой сигнальную молекулу – «лактормон». Помимо того, что лактат сам служит в качестве окисляемого топлива, он также ингибирует липолиз и пропорционально снижает окисление и утилизацию глюкозы. Счита-

ется, что лактат достигает этой лактормоноподобной регуляции метаболизма, взаимодействуя с рецептором GPR81, связанным с G-белком на жировых клетках, чтобы ингибировать липолиз. Уровень экспрессии GPR81 намного выше в жировой ткани, чем в мозге, скелетных мышцах, сердце и других тканях [30].

Поскольку лактат является конечным продуктом, монокарбоксилатные транспортеры MCT1 и MCT4 часто сверхэкспрессируются при многих видах рака, что коррелирует с плохим прогнозом и высокой смертностью [31].

Оксалоацетат является переключателем обменов белков, углеводов, участвует в метаболических путях, включая глюконеогенез, цикл лимонной кислоты, цикл глиоксилата, цикл мочевины и метаболизм аминокислот. Оксалоацетату свойственно явление таутомерии, представляет собой ценную и достаточно редкую молекулу, ее концентрация в митохондриях не превышает 10^{-6} М [32]. Оксалоацетат оказывает ингибирующее воздействие на сукцинатдегидрогеназу, которая является не только участником цикла Кребса, но и важным элементом в цепи переноса электронов. Установлено, что нарушение функции сукцинатдегидрогеназы сопровождается рядом патологических состояний, таких как синдром Ли, синдром семейной параганглиомы, нейроэндокринные опухоли [33].

Помимо прочего, оксалоацетат является участником глиоксилатного цикла – анаболического пути, сходного с циклом трикарбоновых кислот, присущего растениям, протеем и дрожжам. В ходе данного цикла происходит превращение уксусной кислоты в ди- и трикарбоновые кислоты, а промежуточным продуктом является глиоксиловая кислота. Имеются данные о функционировании данного пути и в клетках печени человека [34].

Продолжая перечислять внутриклеточные функции оксалоацетата, важно отразить участие данного интермедиата в процессах глюконеогенеза и глицерогенеза, более того, под действием фермента фосфоенолпируваткарбоксикиназы оксалоацетат способен увеличивать объем митохондрий в поперечно-полосатой мускулатуре, что положительно сказывается на выносливости и уменьшает мышечное утомление [35].

Малат – окислительно-восстановительный партнер оксалоацетата – универсальная молекула, общая для абсолютного большинства организмов от бактерий архейской эпохи до млекопитающих. Малат принимает участие в гликолизе, β -окислении высших жирных кислот, синтезе аминокислот, играет важную роль в транспортном сообщении между митохондриями и цитозолем [36].

Исследование миокардиоцитов в период ишемии и в момент постишемической реперфузии показало колоссальную важность малат-аспартатной системы в адекватном обеспечении клеток энергией. В момент восстановления кровотока по коронарным артериям наблюдается диссоциация метаболитов челнока в митохондриях и цитозоле, что делает гликолиз единственным возможным путем получения энергии и сопровождается накоплением лактата [37].

Малат-аспартатный механизм является звеном антиоксидантной защиты: наличие этой системы было необ-

ходимо для поддержания жизнедеятельности клеточной линии PC 12, а при уменьшении содержания малат-аспартатного челнока наблюдалось снижение концентрации глутатиона [38]. Синтез инсулина бета-клетками поджелудочной железы, нейротрансмиттеров также затруднен без участия малат-аспартатной системы [39].

Известно, что оксалоацетат способен препятствовать нейровоспалению, нероидегенерации и уменьшать содержание глутамата в головном мозге, что обусловило проведение доклинических испытаний препаратов оксалоацетата против болезни Альцгеймера и как первой линии терапии при ишемическом инсульте головного мозга и был назван биоэнергетическим лекарственным препаратом, специально разработанным для повышения уровня энергии клеток. Нейропротекторное действие оксалоацетата основано на его способности вызывать снижение уровня глутамата в крови в результате активации резидентного в крови фермента глутамат-оксалоацетаттрансаминазы, который катализирует обратимое превращение оксалоацетата и глутамата в аспартат и α -кетоглутарат [33]. Благодаря центральной роли в энергетическом обмене, способен изменять биоэнергетическую инфраструктуру мозга, увеличивая уровень митохондриального белка и митохондриальную массу, активировать путь передачи сигналов инсулина и образование новых нейронов в гиппокампе, уменьшать воспаление [40].

Таким образом, изучаемые нами молекулы оказывают разнонаправленные и множественные влияния на метаболизм и на системы межклеточного взаимодействия. Естественные интермедианты пируват, лактат, α -глицерофосфат, дигидроксиацетонфосфат, оксалоацетат и малат находятся на точке пересечения метаболических путей обмена белков, углеводов, липидов, являются сигнальными молекулами, участвуют в регуляции функции белка, экспрессии генов, активности ферментов. Актуальным является дальнейшее изучение особенностей влияния естественных метаболитов на белок-белковые, фермент-субстратные взаимодействия, что позволит найти новые роли интермедиатов и пути к выяснению механизмов различных превращений, в основе которых лежат процессы межмолекулярного узнавания.

Увеличивающийся интерес по расшифровке взаимодействий белок – малая молекула / метаболит на системном уровне заложат концептуальную основу, которая обеспечивает представление о сложной эпигенетической регуляции при различных воздействиях окружающей среды. Полный интерактом, включая взаимодействие белок-малая молекула, будет иметь решающее значение для того, чтобы в конечном итоге распутать сложные отношения между генотипом и фенотипом и обеспечить более глубокое понимание здоровья и болезней.

Большой массив данных, возникающих из областей геномики, транскриптомики, протеомики и метаболомики, в настоящее время интегрируется в понятие паномики с целью улучшения нашего понимания патофизиологии, диагностики и лечения. Будущее медицины – это то, где данные паномики используются для создания диагностических инструментов, обладающих большей мощностью и лечением, которые все

больше учитывают генетическую и метаболическую изменчивость каждого человека. Конечной целью будет быстрая диагностика заболевания с использованием индивидуального подхода, то есть точной прецизионной медицины.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Fechner P., Bleher O., Ewald M., Freudenberger K., Furin D., Hilbig U. et al. Size does matter! Label-free detection of small molecule-protein interaction. *Anal. Bioanal. Chem.* 2014; 406: 4033–51.
2. Poroikov V. V., Filimonov D. A., Ihlenfeldt W.D. et al. PASS biological activity spectrum predictions in the enhanced open NCI database browser. *J Chem Inform Comput Sci.* 2003; 4(1): 228–36.
3. Kuhn M., Szklarczyk D., Franceschini A., Campillos M., von Mering C., Jensen L. J. et al. STITCH 2: an interaction network database for small molecules and proteins. *Nucleic acids research.* 2010; 38(Database issue): D552–6.
4. Li X., Wang X., Snyder M. Systematic investigation of protein-small molecule interactions. *IUBMB Life.* 2013; 65(1): 2–8.
5. Lorendeau D., Christen S., Rinaldi G., Fendt S.M. Metabolic control of signaling pathways and metabolic auto-regulation. *Biol. Cell.* 2015; 107(8): 251–72.
6. Wagner S.A., Beli P., Weinert B.T., Nielsen M.L., Cox J., Mann M. et al. A proteome-wide, quantitative survey of in vivo ubiquitylation sites reveals widespread regulatory roles. *Mol. Cell. Proteomics.* 2011; 10(10): M111.013284.
7. Prentki M., Madiraju S.R. Glycerolipid/free fatty acid cycle and islet beta-cell function in health, obesity and diabetes. *Mol. Cell Endocrinol.* 2012; 28;353(1-2): 88–100.
8. Brito S.C., Festuccia W.L., Kawashita N.H., Moura M.F., Xavier A.R., Garofalo M.A. et al. Increased glyceroneogenesis in adipose tissue from rats adapted to a high-protein, carbohydrate-free diet: role of dietary fatty acids. *Metabolism.* 2006; 55(1): 84–9.
9. Vander Heiden M.G. Targeting cancer metabolism: a therapeutic window. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2011; 31;10(9): 671–84.
10. Possik E., Madiraju S.R.M., Prentki M. Glycerol-3-phosphate phosphatase/PGP: Role in intermediary metabolism and target for cardiometabolic diseases. *Biochimie.* 2017; 43:18–28.
11. Compagno C., Brambilla L., Capitanio D., Boschi F., Ranzi B.M., Porro D. Alterations of the glucose metabolism in a triose phosphate isomerase-negative *Saccharomyces cerevisiae* mutant. *Yeast.* 2001; 18(7): 663–70.
12. Green D.E. Alpha-Glycerophosphate dehydrogenase. *Biochem. J.* 1936; 30(4): 629–44.
13. Mracek T., Drahota Z., Houštek J. The function and the role of the mitochondrial glycerol-3-phosphate dehydrogenase in mammalian tissues. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013; 1827(3): 401–10.
14. Kota V., Rai P., Weitzel J.M., Middendorff R., Bhande S.S., Shivaji S. Role of glycerol-3-phosphate dehydrogenase 2 in mouse sperm capacitation. *Mol. Reprod. Dev.* 2010; 77(9): 773–83.
15. Myatt L., Cui X. Oxidative stress in the placenta. *Histochem. Cell Biol.* 2004; 122(4): 369–82.
16. Schuit F., De Vos, A., Farfari S., Moens K., Pipeleers D., Brun T. et al. Metabolic fate of glucose in purified islet cells. Glucose-regulated anaplerosis in beta cells. *J. Biol. Chem.* 1997; 25;272(30): 18572–9.
17. McCommis K.S., Finck B.N. Mitochondrial pyruvate transport: a historical perspective and future research directions. *Biochem. J.* 2015; 15;466(3): 443–54.
18. Rui L. Energy Metabolism in the Liver. *Compr Physiol.* 2014; 4(1): 177–97.
19. Herzig S., Raemy E., Montessui S., Veuthey J.L., Zamboni N., Westermann B. et al. Identification and functional expression of the mitochondrial pyruvate carrier. *Science.* 2012; 6;337(6090): 93–6.
20. Patterson J.N., Cousteils K., Lou J.W., Manning Fox J.E., Macdonald P.E., Joseph J.W. Mitochondrial metabolism of pyruvate is es-

- sential for regulating glucose-stimulated insulin secretion. *J. Biol. Chem.* 2014; 9;289(19): 13335-46.
21. Schroeder M.A., Lau A.Z., Chen A.P., Gu Y., Nagendran J., Barry J. et al. Hyperpolarized (13)C magnetic resonance reveals early- and late-onset changes to in vivo pyruvate metabolism in the failing heart. *Eur. J. Heart Fail.* 2013; 15(2): 130-40.
 22. Johnson A.C.M., Zager R.A. Pyruvate Acute kidney injury. Injury-induced depletion. *Nephron Clin. Pract.* 2014; 127: 129-32.
 23. Upadhyay M., Samal J., Kandpal M., Singh O.V., Vivekanandan P. The Warburg effect: insights from the past decade. *Pharmacol Ther.* 2013; 137(3): 318-30.
 24. Liu R., Hu X.H., Wang S.M., Guo S.J., Li Z.Y., Bai X.D. et al. Pyruvate in oral rehydration salt improves hemodynamics, vasopermeability and survival after burns in dogs. *Burns.* 2016; 42(4): 797-806.
 25. Hu S., Lin Z.L., Zhao Z.K., Liu R., Ma L., Luo H.M. et al. Pyruvate is superior to citrate in oral rehydration solution in the protection of intestine via hypoxia-inducible factor-1 activation in rats with burn injury. *J. Parenter Enter. Nutr.* 2016; 40(7): 924-33.
 26. Rogatzki M.J., Ferguson B.S., Goodwin M.L., Gladden L.B. Lactate is always the end product of glycolysis. *Front Neurosci.* 2015; 27(9): 22.
 27. Miller B.F., Fattor J. J., Ka H., Ma Navazio F., Lindinger M.I., Brooks G.A. Lactate and glucose interactions during rest and exercise in men: effect of exogenous lactate infusion. *J. Physiol.* 2002; 1;544(3): 963-75.
 28. Roef M.J., De Meer K., Kalhan S.C., Straver H., Berger R., Reijngoud D.J. Gluconeogenesis in humans with induced hyperlactatemia during low-intensity exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2003; 284(6): E1162-71.
 29. Halestrap A.P. Monocarboxylic acid transport. *Compr. Physiol.* 2013; 3(4): 1611-43.
 30. Brooks G.A. Energy flux, lactate shuttling, mitochondrial dynamics, and hypoxia. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016; 903: 439-55.
 31. San-Millon I., Brooks G.A. Reexamining cancer metabolism: Lactate production for carcinogenesis could be the purpose and explanation of the Warburg Effect. *Carcinogenesis.* 2017; 1;38(2): 119-33.
 32. Nelson D.L., Cox M.M., Lehninger A.L. Lehninger principles of biochemistry. New York: W.H. Freeman; 2013.
 33. Campos F., Sobrino T., Ramos-Cabrera P., Castillo J. Oxaloacetate: a novel neuroprotective for acute ischemic stroke. *Int. J. Biochem Cell Biol.* 2012; 44(2): 262-5.
 34. Springsteen G., Yerabolu J.R., Nelson J., Rhea C.J., Krishnamurthy R. Linked cycles of oxidative decarboxylation of glyoxylate as protometabolic analogs of the citric acid cycle. *Nat. Commun.* 2018; 8;9(1): 91.
 35. Hakimi P., Yang J., Casadesus G., Massillon D., Tolentino-Silva F., Nye C.K. et al. Overexpression of the cytosolic form of phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) in skeletal muscle repatterns energy metabolism in the mouse. *J. Biol. Chem.* 2007; 9;282(45): 32844-55.
 36. Minarik P.N., Tomakova M., Kollarova M., Antalík M. Malate Dehydrogenases – Structure and Function. *Gen. Physiol. Biophys.* 2002; 21(3): 257-65.
 37. Lu, M., Zhou L., Stanley W.C., Cabrera M.E., Saidel G.M., Yu X. Role of the Malate-Aspartate Shuttle on the Metabolic Response to Myocardial Ischemia. *Journal of Theoretical Biology.* 2008; 21;254(2): 466-75.
 38. Wang C., Chen H., Zhang J., Hong Y., Ding X., Ying W. Malate-aspartate shuttle mediates the intracellular ATP levels, antioxidant capacity and survival of differentiated PC12 cells. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2014; 12;6(2): 109-14.
 39. Pardo B., Contreras L., Satrustegui J. De novo Synthesis of Glial Glutamate and Glutamine in Young Mice Requires Aspartate Provided by the Neuronal Mitochondrial Aspartate-Glutamate Carrier Aralar/AGC1. *Front Endocrinol. (Lausanne).* 2013; 15 (4): 149.
 40. Swerdlow R.H., Bothwell R., Hutflers L., Burns J.M., Reed G. Tolerability and pharmacokinetics of oxaloacetate 100 mg capsules in Alzheimer's subjects. *BBA Clinical.* 2016; 10;5: 120-3.

Поступила 21.10.19

Принята к печати 30.10.19