

ЗАОЧНАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

© ТИТОВ В.Н., ШОЙБОНОВ Б.Б., 2016

УДК 612.015:547.295

Титов В.Н.¹, Шойбонов Б.Б.²

НЕЭТЕРИФИЦИРОВАННЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ И МЕЖКЛЕТОЧНОЙ СРЕДЕ. ДЕЙСТВИЕ ИНСУЛИНА И АЛЬБУМИНА (ЛЕКЦИЯ)

¹ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава РФ, 121552, г. Москва, Российская Федерация; ²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина» РАН, г. Москва, Российская Федерация

Когда в пище высоко содержание пальмитиновой насыщенной жирной кислоты (НЖК), пальмитиновых триглицеридов (ТГ), а в крови много одноименных липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), когда освобождаемых при липолизе в крови неэтерифицированных ЖК (НЭЖК) явно недостаточно для покрытия потребностей *in vivo* в биотрансформируемой энергии АТФ, происходит нарушение биологической функции гомеостаза: для каждой из клеток *in vivo* всегда всего должно быть достаточно. За дефицитом синтеза АТФ по причине неоптимального субстрата для наработки митохондриями АТФ следует активация тоже филогенетически ранней биологической функции адаптации биологической реакции стресса. Так, избыток пальмитиновой НЖК после каждого приема пищи формирует *in vivo* биологическую реакцию "метаболического" стресса, дефицит энергии по причине реализации митохондриями *in vivo* неоптимального экзогенного субстрата – пальмитиновой НЖК, дефицита ацил- и ацетил-КоА и формирование прогностически, потенциально малоэффективного пальмитинового варианта метаболизма ЖК. Недостаток пальмитиновых НЭЖК в биологической реакции экзотрофии после каждого приема пищи компенсирует биологическая реакция стресса, активация освобождения НЭЖК из висцеральных жировых клеток (ВЖК) сальника, как это физиологично происходит в биологической реакции эндотрофии. При этом адреналин повышает липолиз в ВЖК сальника, а филогенетически поздний инсулин не может ингибировать липолиз в филогенетически ранних ВЖК. Повышение в плазме крови содержания НЭЖК, как это всегда происходит *in vivo*, останавливает поглощение клетками глюкозы, инициируя гипергликемию, гиперинсулинемию и синдром резистентности к инсулину. Заканчивается подобная компенсация биологической реакции экзотрофии биологической реакцией эндотрофии, состоянием "метаболического" стресса, истощением функции β -клеток островков с формированием сахарного диабета 1-го типа, дефицитом *in vivo* синтеза инсулина. Биологическая роль альбумина – перенос ЖК в межклеточной среде в форме НЭЖК и предотвращение формирования пула свободных ЖК, действие которых является афизиологичным.

Ключевые слова: инсулин; неэтерифицированные жирные кислоты; пальмитиновая жирная кислота; альбумин; метаболический стресс.

Для цитирования: Титов В.Н., Шойбонов Б.Б. Неэтерифицированные жирные кислоты в плазме крови и межклеточной среде. Действие инсулина и альбумина (лекция). Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (2): 93-101.

DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-2-93-101.

Titov V.N.¹, Shoibonov B.B.²

THE UNESTERIFIED FATTY ACIDS IN BLOOD PLASMA AND INTER-CELLULAR MEDIUM: EFFECT OF INSULIN AND ALBUMIN (THE LECTURE)

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

The high content of palmitic saturated fatty acid, palmitic triglycerides in food, the large amount of lipoproteins of very low density of the same name in blood, obvious insufficient amount of unesterified fatty acids releasing under lipolysis in blood to meet *in vivo* requirements in biotransforming energy of ATP are the causes of biological malfunction of homeostasis. As a rule, for every cell *in vivo* everything is always to be enough. The deficiency of synthesis of ATP by reason of non-optimal substratum for acquirement of ATP by mitochondria is followed by activation also phylogenetically earlier biological function of adaptation, biological reaction of stress. Thus, surplus of palmitic unesterified fatty acid after every food intake forms *in vivo* biological reaction of "metabolic" stress, deficiency of energy by reason of realization by mitochondria *in vivo* non-optimal exogenous substratum - palmitic unesterified fatty acid, deficiency of acyl- and acetyl-KoA and prognostically formation of potentially ineffective palmitic alternative of metabolism of fatty acids. The deficiency of palmitic unesterified fatty acids in biological reaction of exotrophy after every intake of food compensates biological reaction of stress, activation of releasing of palmitic unesterified fatty acids from visceral fatty cells of gland as it physiologically occurs in biological reaction of endotrophy. At that, adrenalin increases lipolysis in visceral fatty cells of gland and physiologically late insulin can't inhibit lipolysis in phylogenetically early visceral fatty cells. Increasing of content of unesterified fatty acids in blood plasma, as it always occurs *in vivo*, stops absorption of glucose by cells initiating hyperglycemia, hyperinsulinemia, and syndrome of resistance to insulin. The result of such a compensation of biological reaction of exotrophy is biological reaction of endotrophy, condition of "metabolic" stress, depletion of function of β -cells of islets with formation of diabetes mellitus type I, deficiency *in vivo* of insulin synthesis. The biological role of albumin - transfer of fatty acids in intercellular medium in form of unesterified fatty acids and prevention of formation of pool of free fatty acids effecting aphysiologically.

Key words: *insulin; unesterified fatty acids; palmitic fatty acid; albumin; metabolic stress.*

For citation: Titov V.N., Shoibonov B.B. The unesterified fatty acids in blood plasma and inter-cellular medium: Effect of insulin and albumin (the lecture). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2016; 61 (2): 93-101. (in Russ.)

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-2-93-101.

For correspondence: Titov V.N., doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of biochemistry of lipids 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 19.10.15

Accepted 15.12.15



Согласно филогенетической теории общей патологии, система липопротеинов (ЛП) на ступенях филогенеза разделяется в гидратированной межклеточной среде переносит к клеткам гидрофобные, насыщенные жирные кислоты (НЖК), которые двойных связей (ДС) в цепи атомов углерода (С=C) не имеют, мононенасыщенные ЖК с одной ДС (МЖК), ненасыщенные ЖК с 2–3 ДС (ННЖК) и полиеновые ЖК с 4–6 ДС (ПНЖК). Столь физиологическое (нехимическое) деление ЖК основано на том, что: а) ни приматы, ни человек не могут из ННЖК синтезировать ПНЖК; б) функция у них разная – у первых структурная, у вторых регуляторная. Однако и те и другие являются эссенциальными и их необходимо получать с пищей как экзогенные ЖК. Химики делят ЖК на насыщенные, моноеновые и полиеновые.

На ступенях филогенеза последовательно сформировались вначале функция ЛП высокой плотности (ЛПВП), далее хиломикроны в паракринном сообществе энтероцитов и ЛП низкой плотности (ЛПНП). Последними в филогенезе стали функционировать инсулинозависимые ЛП очень низкой плотности (ЛПОНП); в гидратированной межклеточной среде и в кровотоке они переносят только НЖК+МЖК в форме неполярных эфиров с трехатомным спиртом глицерином – триглицеридов (ТГ) и только к зависимым от инсулина филогенетически поздним клеткам. Это поперечнополосатые миоциты, синцитий кардиомиоцитов, подкожные жировые клетки – адипоциты, перипортальные гепатоциты и оседлые макрофаги Купфера в печени.

В зависимости от того, какая ЖК этерифицирована со спиртом глицерином в средней позиции sn-2 (с вторичной спиртовой группой), которую *in vivo* не гидролизует ни одна внеклеточная липаза, мы структурно и функционально разделили ТГ на пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые. Концентрация их в межклеточной среде, плазме крови выше, чем стеариновых, лауриновых, миристиновых, пальмитолеиновых ТГ и т. д. И если НЖК, МЖК и ННЖК переносят ЛП в форме неполярных ТГ, то неполярной формой для ПНЖК являются эфиры с иным, более гидрофобным, одноатомным, вторичным спиртом хо-

лестерином (ХС) – полиеновые эфиры ХС (поли-ЭХС). Ни пальмитиновые, ни олеиновые ЛПОНП физиологично в ЛПНП не превращаются; их поглощают инсулинозависимые клетки путем самого позднего в филогенезе апоЕ/В-100-рецепторного эндоцитоза. Физиологично в ЛПНП превращаются только линолевые и линоленовые ЛПОНП. Происходит это в процессе того, как блок, переносящий полиеновые эфиры ХС (БПЭХ), переносит их в форме поли-ЭХС из ЛПВП в состав только линолевых и линоленовых ЛПОНП; поли-ЭХС – это этерифицированные спиртом холестерином ПНЖК. ЖК в форме ТГ и поли-ЭХС-клетки поглощают отдельно путем рецепторного эндоцитоза: ЛПОНП путем апоЕ/В-100-эндоцитоза, ЛПНП – апоВ-100 и у части видов животных ЛПВП путем апоЕ/А-I-эндоцитоза.

В биологической функции трофологии (питания), в биологической реакции экзотрофии (после еды) при действии инсулина основное количество ЖК (НЖК+МЖК) клетки поглощают путем рецепторного эндоцитоза в форме ТГ и поли-ЭХС в составе ЛП; в биологической реакции эндотрофии (при отсутствии пищи) большинство клеток поглощают ЖК в форме полярных, неэтерифицированных ЖК (НЭЖК) из комплексов с липидпереносящим белком альбумином. С самых ранних ступеней филогенеза, еще от древних архей, которые сформировали митохондрии, клетки активно поглощают полярные НЭЖК при действии столь же ранней CD36-транслоказы ЖК. При этом цитоплазма клеток содержит всегда только следовые количества ЖК в неполярной форме с филогенетически ранним тиоспиртом коэнзимом-А; это активированная форма ацил-КоА. Образование эфирной (тиоэфирной) связи (С-S-С) между спиртом коэнзимом-А и ЖК активирует фермент ацил-КоА-синтаза. Градиент концентрации межклеточная среда → цитоплазма клеток для ЖК всегда высок, во много раз выше, чем для глюкозы. В форме ацил-КоА все ЖК поглощают митохондрии; в форме ацетил-КоА после окисления в митохондриях активированная уксусная кислота поступает в цикл Кребса.

НЭЖК в крови в биологической реакции экзотрофии (после еды) и эндотрофии – при отсутствии приема пищи

Во время биологической реакции экзотрофии после приема пищи, при активной функции инсулина и в биологической реакции эндотрофии вне приема пищи, вне действия инсулина количество и состав НЖК, МЖК и ННЖК в пуле НЭЖК плазмы крови различаются. В биологической реакции экзотрофии это НЭЖК, которые освобождаются при гидролизе пальмитиновых и олеиновых ТГ в одноименных ЛПОНП при действии постгепариновой липопротеинлипазы (ЛПЛ). Количество в кровотоке НЭЖК и их качественный состав определяют многие факторы.

1. Преобладание в крови секретированных гепатоцитами пальмитиновых или олеиновых ТГ в составе одноименных ЛПОНП. Гидролиз олеиновых ТГ при действии постгепариновой ЛПЛ происходит со значительно большей константой скорости реакции, чем пальмитиновых ТГ, особенно таких ТГ, как пальмитоил-пальмитоил-олеат глицерол (ППО) и олеил-пальмитоил-пальмитат (ОПП); такие ТГ, как пальмитоил-пальмитоил-пальмитат (ППП), постгепариновая ЛПЛ не гидролизует вообще. Более медленно гидролизует постгепариновая ЛПЛ и олеиновые ТГ, такие как пальмитоил-олеил-пальмитат глицерол (ПОП).

2. Содержание полярного ХС в полярном монослое ЛПОНП на поверхности массы связанных с апоВ-100 ТГ; при снижен-

ном отношении фосфатидилхолин (ФХ)/ХС-монослой, обладая высокой гидрофобностью, практически разобцает фермент в гидрофильной среде плазмы крови от субстрата – ТГ в составе ЛПОИП; биодоступность субстрата для фермента является низкой. Липолиз пальмитиновых ТГ, если количество одноименных ЛПОИП в крови не увеличено, происходит нормально, но медленно. Пальмитиновые ЛПОИП длительно не формируют лиганд, их не быстро поглощают инсулинозависимые клетки при апоЕ/В-100-эндоцитозе. Если пальмитиновых ЛПОИП в крови афизиологично много, они, медленно увеличивая свою гидратированную плотность, превращаются в афизиологичные, малые, плотные пальмитиновые ЛПОИП.

3. Синтез пула ХС, который вместе с ФХ формирует полярный монослой ФХ+ХС, в ЛПОИП ингибируют статины; они уменьшают количество ХС в монослое, повышают отношение ФХ/ХС, активируют липолиз, понижают гипертриглицеридемию, ХС-ЛПОИП и число образуемых ЛПОИП; физиологично в крови не бывает ни олеиновых, ни пальмитиновых ЛПОИП.

4. В биологической реакции экзотрофии после еды при высокой секреции инсулина β-клетками островков гормон блокирует липолиз ТГ в подкожных, инсулинозависимых, филогенетически поздних адипоцитах и останавливает освобождение в кровь НЭЖК.

5. Если в пище доминирует пальмитиновая НЖК, пальмитиновые ТГ и одноименные ЛПОИП в крови, если освобождаемых при липолизе в крови НЭЖК явно недостаточно для покрытия потребностей *in vivo* в АТФ, следует нарушение биологической функции гомеостаза. Согласно биологической функции гомеостаза, для каждой из клеток всегда должно быть достаточно всего. За дефицитом синтеза АТФ по причине неоптимального субстрата для выработки митохондриями АТФ следует активация тоже филогенетически ранней биологической функции адаптации, биологической реакции стресса. Так, избыток пальмитиновой НЖК после каждого приема пищи формирует *in vivo* биологическую реакцию стресса, дефицит энергии по причине реализации *in vivo* митохондриями неоптимального экзогенного субстрата – пальмитиновой НЖК и прогностически потенциально малоэффективного пальмитинового варианта метаболизма ЖК.

6. Независимо от этиологии биологической реакции стресса *in vivo* в первую очередь реакция стресса обеспечивает реализацию всех биологических функций; она активирует выработку митохондриями АТФ. При этом происходит активация синтеза и секреции адреналина; катехоловый амин, филогенетически ранний гуморальный медиатор, активирует гормонозависимую липазу и не в филогенетически поздних подкожных адипоцитах, а в ранних висцеральных жировых клетках (ВЖК) сальника; адреналин усиливает гидролиз ТГ и освобождение в кровь оптимального количества НЭЖК.

Является ли у человека состав ЖК в ТГ одинаковым в филогенетически ранних ВЖК сальника и в поздних в филогенезе подкожных адипоцитах, пока не ясно. В то же время у свиней в ВЖК сальника, в ТГ этерифицированы преимущественно среднецепочечные С14:0 миристиновая и С12:0 лауриновая НЖК, а в подкожных адипоцитах – длинноцепочечные С18:1 олеиновая МЖК и С16:0 пальмитиновая НЖК. Константа скорости окисления митохондриями среднецепочечных ЖК существенно выше, чем пальмитиновой НЖК. В биологической реакции стресса обеспечение всех клеток энергией происходит как количественно, так и качественно.

7. Казалось бы, выход найден – недостаток НЭЖК в биологической реакции экзотрофии после каждого приема пищи компенсирует биологическая реакция стресса, активация освобождения НЭЖК из ВЖК сальника, что физиологично происходит только в биологической реакции эндотрофии. При избытке в пище пальмитиновой НЖК после каждого приема пищи недостаточное освобождение при липолизе НЭЖК афизиологично компенсирует биологическая реакция стресса. При этом адреналин повышает липолиз в ВЖК сальника “не задумываясь”, что филогенетически поздний инсулин не может ингибировать липолиз в филогенетически ранних ВЖК сальника. И повышение в плазме крови содержания НЭЖК, как это всегда происходит, останавливает поглощение клетками глюкозы, иницируя гипергликемию, гиперинсулинемию и синдром инсулинорезистентности (ИР).

Заканчивается подобная компенсация стрессом – истощением функции β-клеток островков Лангерганса с формированием сахарного диабета 1-го типа, дефицитом синтеза *in vivo* инсулина.

Однако недостаток субстратов (НЭЖК) для выработки митохондриями АТФ при формировании пальмитинового варианта метаболизма ЖК является далеко не единственной причиной формирования синдрома ИР. Во многих ситуациях *in vivo*, при которых филогенетически ранний адреналин активирует липолиз в ВЖК с повышением в межклеточной среде концентрации НЭЖК, формируется синдром ИР. Характерно формирование синдрома ИР и для биологической функции эндоэкологии, биологической реакции воспаления, в которой все этапы утилизации *in vivo* эндогенных флогогенов и экзогенных патогенов являются энергозатратными. Это относится к утилизации *in vivo* телец апоптоза, комплексов антиген+антитело, комплексов бактериальный токсин липополисахарид+ специфичный связывающий белок, ферментов цитоплазмы при истечении их из клеток и т. д. При синдроме системного воспалительного ответа, при нарушении биологической реакции метаболиз←→микроциркуляция всегда развивается синдром ИР. Непосредственным фактором реализации биологической реакции ИР является повышение в плазме крови содержания НЭЖК.

Во всех ситуациях, когда в плазме крови без “ведома и регуляции” инсулина происходит повышение НЭЖК, формируется синдром ИР; при этом инсулин не в состоянии усилить поглощение инсулинозависимыми клетками глюкозы. Так, при избытке в пище пальмитиновой НЖК, пальмитиновых ТГ и одноименных ЛПОИП в плазме крови после каждого приема пищи в биологической реакции экзотрофии *in vivo* формируется синдром ИР. Постепенно гипергликемия и гиперинсулинемия становятся характерными и для реализации биологической реакции экзотрофии в отсутствие приема пищи, в том числе и натощак.

Более 90% пациентов, которым выставлен диагноз диабета 2-го типа на основании гипергликемии натощак, данных теста толерантности к глюкозе, гиперинсулинемии и высокого уровня НЭЖК в плазме крови, страдают синдромом ИР. Основой его является нарушение биологической функции трофологии, функции питания, потребления пищи со столь высоким содержанием пальмитиновой НЖК, транс-форм МЖК и афизиологичной ω-7 С16:1 пальмитолеиновой МЖК, которое не могут переносить ЛП, а клетки не могут поглощать. Миллионы лет назад на ступенях филогенеза при жизни в водах трех океанов содержание в пище пальмитиновой НЖК не было выше 15%.

При современном питании содержание пальмитиновой НЖК в пище может быть более 50% всего количества ЖК. Даже все вместе ЛПВП + ЛПОИП + ЛПОИП не в силах перенести, а клетки не в состоянии поглотить, физиологично депонировать столь большое ее количество. Большим подспорьем в этом является и “химическое оружие пищевого характера” – пальмовое масло; в нем содержание пальмитиновой НЖК превышает 50% всех ЖК. Каждая из молекул ТГ содержит пальмитиновую НЖК в разных позициях спирта глицерина, чаще в sn-1 и sn-3.

В биологической функции трофологии (питания), в биологической реакции эндотрофии (внутреннего питания) при отсутствии приема пищи и секреции инсулина активация гуморальными медиаторами гормонозависимой липазы в ВЖК освобождает в межклеточную среду и кровотоку оптимальное количество НЭЖК для покрытия *in vivo* всех потребностей в энергии. И если в биологической реакции экзотрофии при приеме пищи доминирует филогенетически поздний перенос ЖК в форма неполярных ТГ в составе ЛП, то в биологической реакции эндотрофии в межклеточной среде и кровотоке доминирует ранний в филогенезе перенос ЖК в форме полярных НЭЖК. Специфичным белком-переносчиком для полярных, но все-таки гидрофобных НЭЖК является альбумин. Основная функция альбумина – перенос к клеткам главным образом НЖК+МЖК и в меньшей мере ННЖК. ПНЖК альбумин связывать и переносить не может. Для этой цели в пренатальном периоде функционирует иной белок α-фетопроtein.

В биологической реакции эндотрофии часть освобожденных из ВЖК сальника НЭЖК поглощают гепатоциты, этерифицируют в состав олеиновых ТГ и секретируют в кровотоки. Все олеиновые и пальмитиновые ЛПОИП из крови физиологично

поглощают инсулинозависимые клетки путем апоЕ/В-100-эндоцитоза. И если натощак мы находим в плазме крови высокое содержание ХС-ЛПНП и НЭЖК, это: а) пальмитиновые ЛПНП, которые остались в крови после последнего приема пищи, и б) НЭЖК, которые компенсаторно освобождены из ВЖК сальника в условиях наиболее частого метаболического стресса при недостатке *in vivo* энергии, при низком уровне синтеза АТФ по причине недостатка субстрата – ацетил-КоА.

Альбумин и перенос к клеткам НЖК, МЖК и ННЖК в форме полярных НЭЖК

Альбумин – полифункциональный (неспецифичный) транспортный белок, содержание которого в крови не столь велико. Не совсем ясно, какой из многих лигандов он связывает с наиболее высокой аффинностью, каковы механизмы диссоциации ЖК с альбумином и переход на плазматическую мембрану клеток. Какую транспортную функцию белок стал выполнять в филогенезе первой и какие лиганды он начал переносить на ступенях филогенеза позже. Неясно, какие особенности первичной, вторичной структуры позволяют белку переносить в межклеточной среде лиганды, столь разные по молекулярной массе и гидрофобности.

Альбумин (лат. *albus*, белый) – растворимый в воде белок, умеренно растворимый также в концентрированном растворе NaCl, склонный к свертыванию при нагревании (физическая денатурация). Относительная молекулярная масса составляет примерно 69 кД; белок не содержит углеводы. Вещества, которые содержат альбумин (яичный белок), именуют альбуминоидами. Альбумин растворяется в солевых растворах, кислотах и щелочах, при гидролизе распадается на короткие пептиды и аминокислоты; альбумин можно выделить и в кристаллическом виде. Проявляет он высокую способность связывать низкомолекулярные соединения, которые содержат гидрофильные и липофильные (гидрофобные) домены. Наиболее часто в лаборатории и клинике используют альбумин сыворотки крови. Содержат его и иные биологические среды: спинно-мозговой жидкость, моча, асцитическая жидкость, однако в существенно меньшем количестве.

Альбумин синтезируют гепатоциты как секреторный белок; в печени он составляет большую часть всех белков и около 50 % белков в плазме крови. Продолжительность жизни альбумина в сосудистом русле 3 нед. Поскольку концентрация альбумина высока, а размеры молекулы невелики, он на 80 % определяет коллоидно-осмотическое давление. Общая площадь поверхности молекул альбумина в плазме крови велика, поэтому он активно исполняет функцию переносчика гидрофобных, не растворимых в воде веществ (рис. 1). Это билирубин, уробилин, ЖК, желчные кислоты, экзогенные вещества – пенициллин, сульфамиды, ртуть, липофильные, гидрофобные гуморальные медиаторы, гормоны, лекарственные препараты: варфарин, фенилбутазон, клофибрат. Одна молекула альбумина может связать несколько молекул билирубина (мол. масса 500 Д). Конкуренцию между лекарствами за «посадочные места» на молекуле альбумина может вызвать повышение их активности и лечебного действия. Полагают, что на плазматической мембране клеток имеются специфичные рецепторы к альбуминам альбандины.

Физиологический уровень альбумина в сыворотке крови взрослых людей составляет 35–50 г/л. Для детей в возрасте менее трех лет нормальный уровень в пределах 25–55 г/л. Низкое содержание альбумина (гипоальбуминемия) отмечается при патологии печени, нефротическом синдроме, ожогах, энтеропатиях с потерей белка, при недоедании, на поздних сроках беременности, при злокачественных новообразованиях. Прием ретинола (витамина А) может повысить уровень белка до субнормальных значений; происходит это и у человека. Повышение уровня альбумина (гиперальбуминемия) может возникать *in vivo* в результате обезвоживания. Физиологично содержание альбумина ни в кровотоке, ни в межклеточной среде не увеличивается. И даже если концентрация НЭЖК в плазме крови возрастает значительно, содержание альбумина в ней не повышается. Это обусловлено тем, что на ранних ступенях филогенеза альбумин задействован в регуляции онкотического давления и функциональном взаимодействии пула внутрисосудистой жид-

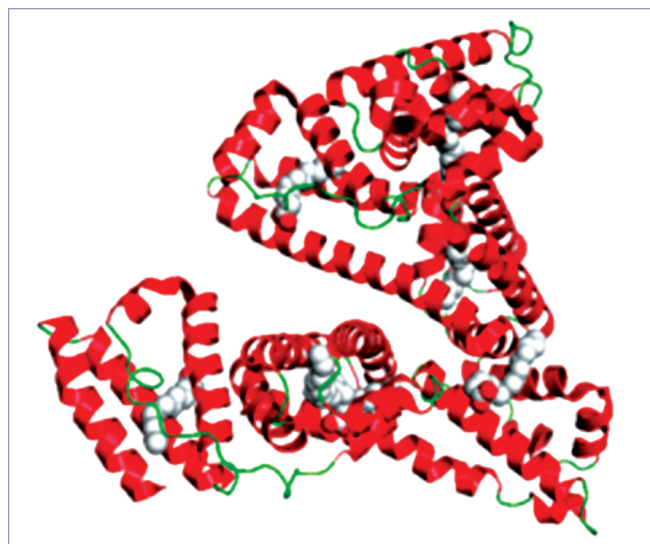


Рис. 1. Структура АЛБ; молекула состоит из трех относительно изолированных доменов.

кости с единым пулом межклеточной среды. Его как “кусочек третьего мирового океана приватизировала” каждая из особей и в нем, как и миллионы лет назад, продолжают *in vivo* жить все клетки.

Одна из важнейших функций альбумина – транспортная; белок переносит ЖК в форме полярных НЭЖК; в малой мере связывает и спирт ХС. Значительная часть Ca^{2+} в сыворотке тоже связана с альбумином. При избытке в пище пальмитиновых ТГ, таких как ППО и ОПП, при гидролизе их в крови и освобождении пальмитиновой НЖК в форме НЭЖК из позиций sn-1 и sn-3 ТГ, пальмитиновая НЖК необратима, с большей аффинностью, чем альбумин, связывает ионы кальция и магния, выводя их с калом. Мы полагаем, что у взрослых при употреблении животной пищи (немолочной), перегруженной пальмитиновой НЖК, происходит то, чего столь тщательно избегает биология при метаболизме конечных липидов молока в раннем постнатальном периоде. В конечных липидах – ТГ молока пальмитиновая НЖК этерифицирована только в позиции sn-2 пальмитиновых ТГ. Повышенное количество пальмитиновой НЖК в форме НЭЖК в кровотоке при избытке мясной пищи (говядина) может стать причиной хронического остеопороза у пожилых пациентов при хроническом, алиментарном дефиците ионов кальция.

Альбумин может связать гидрофобные и амфифильные лиганды малой мол. массы (≤ 1000 Д). Выявлен и новый вид патологических изменений в белках: первичная структура не нарушена, однако изменена вторичная и/или третичная структура (конформация, пространственная форма молекулы). Иногда это является результатом загрузки альбумина токсичными продуктами, которые печень и другие органы биологической функции эндоэкологии не успевают выводить (гипербилирубинемия). Однако нередко дело обстоит иначе: перегрузки альбумина метаболитами нет, но изменена конформация (стерическая форма) протеина. Белок с измененной конформацией не может эффективно выполнять транспортную функцию.

В течение длительного времени связывающую способность белка сыворотки крови оценивали путем титрования свободных -SH групп. Позже это определение проводят более современными методами, основанными на использовании флуоресцентного зонда K-35. Этот метод позволяет определить не только общую концентрацию альбумина (ОКА), но и состояние связывающих центров его молекулы; именуют ее эффективной концентрацией альбумина (ЭКА). Отношение ЭКА/ОКА обозначают термином “резервная связывающая способность альбумина” (РСА). Она не зависит от содержания в крови белка и определяет ее в первую очередь состояние центров связывания. В физиоло-

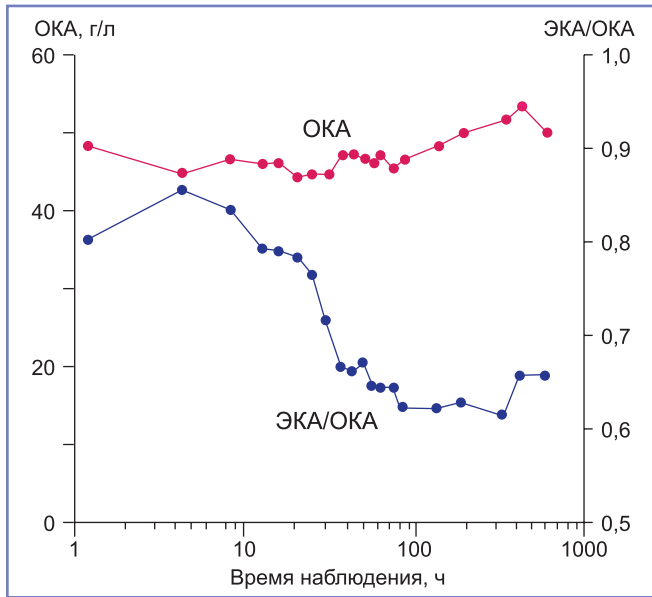


Рис. 2. Динамика содержания в плазме крови альбумина (ОКА, г/л) и отношение ЭКА/ОКА–РСА при инфаркте миокарда.

По оси абсцисс – время от начала инфаркта миокарда (в ч); по оси ординат – значения ОКА (слева) и отношение ЭКА/ОКА (справа).

гических условиях величина РСА близка к 1,0; при инфаркте миокарда она может быть снижена (рис. 2).

Менее значительные изменения в структуре альбумина могут быть вызваны изменением pH среды. С приближением pH к изоэлектрической точке белка степень его гидратации, растворимости, вязкость и другие параметры принимают афизиологические значения. Изоэлектрическая точка альбумина 4,7. Видимо, подобные значения при pH, практически равном изоэлектрической точке, связаны с изменением конформации белковой молекулы. Установлены пять конформаций альбумина; они могут переходить друг в друга при изменении pH.

Структура и конформация альбумина в переносе НЖК, МЖК и ННЖК

Альбумин – глобулярный белок; синтезируют его гепатоциты в количестве 15–20 г/сут. В сосудистом русле содержится 120–140 г альбумина, во внеклеточном пространстве – 360 г. Время жизни белка *in vivo* 3 нед. Белок представлен полипептидной цепью из 586 аминокислотных остатков. 17 дисульфидных связей (-S-S-) формируют третичную структуру молекулы и петлевые домены. По длине пептида трижды повторяется сходная первичная последовательность и вторичная структура доменов. Несмотря на большое число дисульфидных связей, молекула является подвижной и способна менять конформацию. Наличие большого числа связей S-S, естественно, ограничивает конформацию глобулы. Можно полагать, что большое число ковалентных связей обеспечивает сохранение глобулярной структуры молекулы при связывании разных лигандов; цель – сохранить наименьшую вязкость концентрированного раствора альбумина. Молекула белка – эллипсоид диаметром 4 нм и длиной 14 нм. При pH 7,4 отрицательный заряд белка равен 18: молекула имеет 180 титруемых отрицательных зарядов (рис. 3).

Раствор альбумина имеет меньшую вязкость, чем эквивалентные растворы фибриногена и всех глобулинов. В крови альбумин на 80% определяет онкотическое давление. При патологических состояниях активация катаболизма, продолжительность циркуляции белка в крови, равная 3 нед, могут быть изменены. Молекула альбумина способна подвергаться модификации; одна из них – ковалентное взаимодействие глюкозы с аминокислотным остатком лизина в позиции 525. Если физиологично гликировано несколько процентов молекул альбумина, то при сахарном диабете во много раз больше.

Многие аминокислотные остатки белка содержат гидрофобные группы, которые образуют домены, погруженные вглубь молекулы. Они формируют гидрофобные «карманы», с которыми связываются лиганды – длинноцепочечные ЖК. При этом цепи погружаются в гидрофобную «щель», а гидрофильный карбоксил ЖК остается на поверхности глобулы в ассоциации с водной фазой. Размеры гидрофобной щели определяют то, что с высокой аффинностью альбумин связывает только С16 и С18 НЖК и МЖК. При физиологических значениях pH карбоксильная группа ЖК заряжена отрицательно. Гидрофобная щель, в которую погружается алифатическая цепь ЖК, сообщается с поверхностью глобулы; в месте контакта расположена группа остатков лизина и аргинина, которые заряжены положительно. Обладая гидрофильной карбоксильной группой, ЖК всегда присутствуют в растворах, хотя их концентрация не превышает наномоль.

Билирубин по размерам молекулы и степени гидрофобности значительно превосходит ЖК. Связывание и перенос в кровотоке билирубина составляет одну из основных функций альбумина. Билирубин содержится в плазме крови позвоночных животных и человека; концентрация в физиологических условиях составляет 3,4–22,2 мкмоль/л. При затруднении оттока желчи (закупорке желчных протоков) и при вирусном гепатите концентрация билирубина в крови, а затем и в моче повышается.

Альбумин связывает циркулирующие в крови молекулы с гидрофобными группами. Вероятно, для каждой из них на поверхности глобулы находится место связывания, которое по гидрофобности соответствует параметрам лиганда; специфичность такого связывания низкая. В условиях генетической патологии, такой как анальбуминемия, связывание и перенос билирубина осуществляют α_1 - и α_2 -глобулины.

Последовательность аминокислотных остатков в молекуле альбумина человека гомологична с таковой у быка и крысы; во всех случаях первичная структура трех доменов белка неравнозначна. Первые два домена содержат больше ароматических аминокислотных остатков (тирозин, триптофан, гистидин). Единственный остаток триптофана в альбумине человека расположен в четвертой петле. В третьем домене снижено содержание аспарагиновой и глутаминовой кислот и общий заряд близок к нулю. Первые два домена имеют 7–9 отрицательных зарядов каждый, которые формируют общий заряд молекулы. Возможно, поэтому при связывании и переносе альбумином разных по гидрофобности лигандов функциональные домены задействованы не в равной мере.

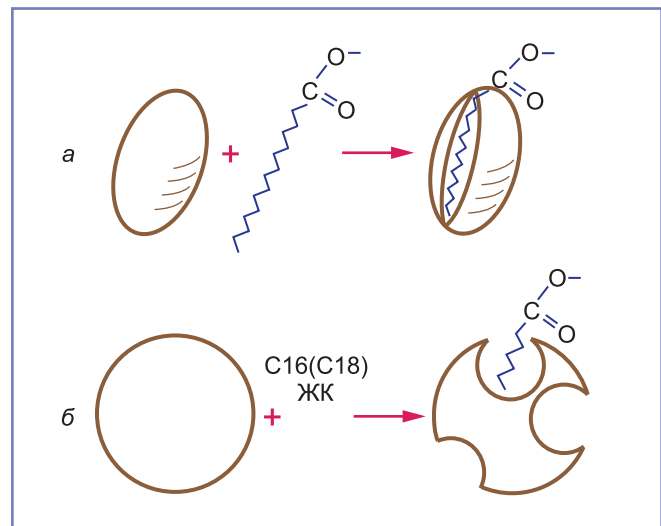


Рис. 3. Изменение конформации глобулы, формирование трех «щелевых полостей» при связывании первой ЖК (кооперативность связывания). Вид с поверхности (а) и при сечении глобулы (б).

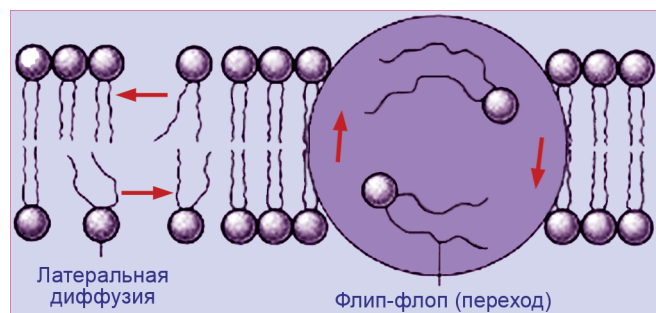


Рис. 4. Облегченный перенос ЖК в форме лизофосфатидилхолинов из наружного монослоя во внутренний по механизму флип-флоп и путем латеральной диффузии.

В молекуле белка единственный остаток цистеина находится в первой петле в позиции 34. *In vivo* в каждой третьей молекуле альбумина остаток цистеина связан связью S-S с глутатионом: две из трех молекул циркулируют в крови, имея свободную -SH-группу. В условиях высокого окислительного потенциала внеклеточной среды сохранение -SH-группы определено конформацией альбумина. Вторичная и третичная структуры молекулы – как акцептор для гидрофобных лигандов, высокая растворимость его даже в дистиллированной воде предполагает наличие гидрофильных доменов на поверхности молекулы и гидрофобных – во внутренних полостях. Связывание альбумином лигандов происходит в ассоциации с погруженными внутрь доменами, положительный заряд которых использован для образования электростатических связей с отрицательным зарядом лиганда. Спонтанная флюоресценция единственного остатка триптофана показала, что треть молекулы альбумина с С-конца является более гибкой, менее “ароматизированной” и не имеет отрицательного заряда; она связывает анионы длинноцепочечных ЖК. Одновременно N-концевая часть молекулы (2/3 ее длины) связывает гидрофобные ароматические анионы. Если С-конец молекулы связывает только ЖК, то за связывание с N-концом ЖК могут конкурировать и иные лиганды. Альбумин имеет специфические места связывания для Cu^{2+} , тиоловых соединений и пиридоксальфосфата. Мы показали, что альбумин не является специфичным акцептором активных форм O_2 .

Длинноцепочечные ЖК являются основным лигандом, который связывает альбумин (1–2 моль/моль). Иные лиганды образуют связи в молярном отношении 0,05 и менее. Альбумин связывает пальмитиновую, стеариновую НЖК и олеиновую МЖК. Короткоцепочечные ЖК (8 и менее атомов углерода) белок не связывает. Можно полагать, что ЖК взаимодействуют более чем с одним местом связывания. При взаимодействии с пальмитиновой НЖК *in vitro* гидролизованная С-треть цепи белка связывает ЖК столь же активно, как и целая молекула. Можно полагать, что петли 7–8 формируют те гидрофобные щели, в которые погружается цепь ЖК.

In vivo альбумин, свободный от ЖК, нестабилен и подвержен действию протеаз, высоких температур; способность белка связывать все лиганды становится низкой. Добавление 1 моля пальмитиновой НЖК на 1 моль альбумина восстанавливает стабильность и ассоциацию с другими лигандами. Молекула становится более сферичной; это подтверждает нативная флюоресценция триптофана. Поскольку концентрация ЖК в крови редко бывает ниже 1 моля на 1 моль альбумина, протективное влияние ЖК является постоянным. Возможно, что потеря альбумином способности связывать ЖК является одним из факторов, который контролирует его катаболизм.

Кооперативность связывания лигандов приводит к тому, что после ассоциации с альбумином пальмитиновой НЖК связывание билирубина возрастает в 2 раза. Ассоциация второй ЖК продолжает увеличивать сродство, но ассоциация третьей ЖК при избытке НЭЖК в среде *in vitro* ингибирует связывание билирубина и вытесняет из альбумина ранее ассоциированные лекарственные препараты. Среди лекарств только фибраты (фенофибрат) могут конкурировать с ЖК за места связывания на альбумине при концентрации 1 моль клофибрата на 1 моль ЖК.

Напомним, что клофибрат – это химически модифицированная ЖК. Клиренс НЭЖК в крови быстрый; полупериод ассоциации с альбумином пальмитиновой НЖК составляет 4,5 мин. Поскольку ЖК из крови постоянно поглощают подкожные адипоциты, ВЖК сальника, гепатоциты и миоциты, константа скорости составляет 0,38 мин. При каждом кругообороте крови ткани поглощают 38% ассоциированных с альбумином НЭЖК.

Неэтерифицированные, свободные ЖК, структура и функция мембраны клеток

В переносе ЖК участвуют макроперенос (перенос ЖК в крови в составе ЛП и с альбумином), микроперенос (диффузия, облегченная диффузия ЖК через клеточную мембрану; рис. 4) и трансцеллюлярный (межклеточный) перенос. Столь сложный перенос, вероятно, необходим при доставке к клеткам гидрофобных веществ. Перенос ЖК между ЛП и альбумином, поглощение ЖК клетками эндотелия с последующим их трансцитозом обеспечивают субстратами глубоко расположенные слои стенки сосудов и другие ткани. Взаимодействие альбумин↔лиганд обратимо: между связанный↔несвязанный лиганд устанавливается динамичное равновесие. Олеиновая МЖК при высоком сродстве к альбумину вытесняет из связи многие иные лиганды. Диссоциация с белка позволяет лигандам (лекарствам) покинуть внутрисосудистое русло и оказаться в межклеточной среде. Связывая ЖК, альбумин уменьшает скорость их встраивания в наружный монослой плазматической мембраны.

У большинства людей при электрофорезе в геле агарозы альбумин представлен одной гомогенной фракцией. У гетерозигот можно встретить разные дисальбуминемии. Изoeлектрическая точка для альбумина ниже, чем у большинства белков, рН 4,3–4,8. При рН 7,4 отрицательный заряд молекулы белка равен 18. Микрогетерогенность альбумина может быть вызвана взаимодействием с лигандами, явлениями полимеризации, имеются и генетические различия.

Две ЖК альбумин связывает с высокой аффинностью; константа связывания $1,0\text{--}2,6 \cdot 10^8$. Содержание альбумина в крови составляет 0,5–0,7 ммоль/л, ЖК – 0,5–0,8 ммоль/л. Более 90% ЖК физиологично связано с альбумином уже при константе связывания 10^4 . Для чего же константа ассоциации на самом деле намного выше? Вероятно, число участков связывания при этом остается прежним – 2 места для ЖК на молекуле альбумина. Глобула белка столь лабильна потому, что каждый из ее гидрофобных доменов сформирован из аминокислотных остатков, которые в цепи далеко отстоят друг от друга. При этом сформированные места связывания (гидрофобные домены) удерживают в третичной структуре только слабые, гидрофобные силы Ван-дер-Ваальса. Такое строение глобулы позволяет понять механизмы кооперативности в альбумине при связывании лигандов (рис. 5).

На основании метода кругового дихроизма и расчета последовательности аминокислотных остатков альбумин содержит 45–55% α -спиральных структур и 15% β -складчатых построений. Спиральные структуры формируют карманы, внутренняя поверхность которых является выражено гидрофобной. На конце каждой длинной цепи имеется остаток пролина, лизина и аргинина. Этот домен расположен на поверхности молекулы и имеет положительный заряд, который ассоциируется с отрицательно заряженной карбоксильной группой ЖК. Лизин и аргинин расположены на поверхности.

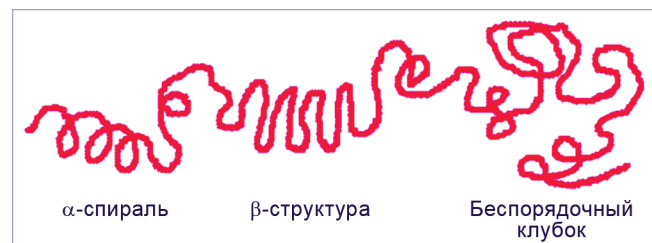


Рис. 5. Сравнение трех структур в молекуле протеинов, которые обеспечивают физико-химические свойства белков.

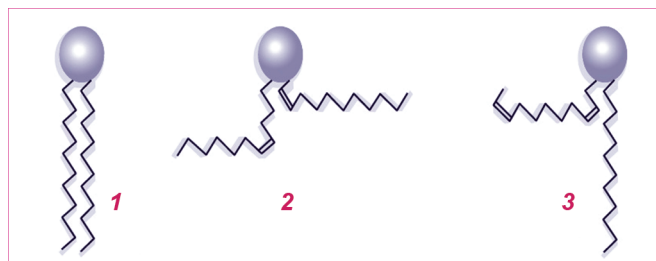


Рис. 6. Структура фосфатидилхолинов.

1 – с двумя НЖК; 2 – симметричные ФХ с двумя ННЖК; 3 – асимметричные ФЛ с одной НЖК и одной ННЖК.

Связываемые белком молекулы могут находиться в дискретных конформациях с разной биологической активностью. Показано, что введение в вену НЭЖК вызывает шок и смерть животных. Предварительная инкубация НЭЖК с альбумином предотвращает токсическое действие. При перфузии изолированного сердца мыши, при отсутствии в перфузате альбумина свободные (не связанные с альбумином) ЖК (СЖК) блокируют реакции окислительного фосфорилирования и оказывают цитотоксичное действие.

НЭЖК изменяют функциональную активность клеток *in vitro*. Они ингибируют хемотаксис нейтрофилов, активируют агрегацию тромбоцитов и повышают поглощение клетками эндотелия молекул по механизму эндо-, экзоцитоза, трансцитоза, нарушая функцию эндотелийзависимой вазодилатации. НЭЖК ингибируют связывание ЛПНП с апоВ-10–рецепторами, препятствуя их поглощению фибробластами в культуре ткани. Биологическая реакция стресса и выраженная активация липолиза способствуют встраиванию в мембрану ЖК в форме СЖК.

Альбумин и активация гидролиза ТГ в крови в составе ЛПОНП

Альбумин – акцептор продуктов реакции – НЭЖК в процессе липолиза в крови при действии постгепариновой ЛПЛ. В отсутствие альбумина гидролиз ТГ проходит медленно; субстратом для оценки липолиза *in vitro* является трибутирин. В присутствии фермента, апоС-II как кофактора ЛПЛ и альбумина как акцептора продуктов реакции происходит гидролиз преимущественно олеиновой МЖК, пальмитиновой и стеариновой НЖК. Альбумин слабее связывает линолевую ННЖК, возможно, из-за низкоаффинной сорбции.

Уровень гидратации ЖК в везикулах определен на основании нативной флюоресценции альбумина. Исследован также уровень гидратации ЖК в их связи с альбумином; гидратация ЖК зависит от длины цепи и количества ДС. Увеличение длины ЖК снижает уровень гидратации, в то время как повышение ненасыщенности (числа ДС) увеличивает гидратацию цитозольных белков. Техника остановленного потока показала, что альбумин может связать две молекулы олеиновой МЖК. Микроскопические повреждения интимы артерий мышечного типа сопровождается выраженное проникновение в нее альбумина; монослой эндотелия является эффективным барьером выхода альбумина в ткань. Если нарушить целостность монослоя эндотелия, поврежденный участок его быстро выстилают тромбоциты; они препятствуют миграции в интиму альбумина.

Содержание альбумина в плазме крови в молярном отношении в 4 раза ниже концентрации Ca^{2+} , в 2 раза ниже концентрации Mg^{2+} и в 7–10 раз меньше содержания глюкозы. Гепатоциты синтезируют белок в форме преальбумина, который ковалентно связан с сигнальным шестичленным пептидом, присоединенным к N-концу альбумина. Перед выходом из эндоплазматической сети происходит гидролиз и секреция в кровь уже альбумина. Особенностью структуры альбумина является формирование двойных петель, которые фиксированы S-S-связями аминокислотных остатков цистеина. Такие структуры обеспечивают, с одной стороны, связывание гидрофобных лигандов, с другой – стабильность молекулы при действии денатурирующих агентов. Первичная структура позволяет понять анатомию

и функцию молекулы, в которой каждая петлевая структура формирует функциональный домен; это показано методом кругового дихроизма.

НЖК и ННЖК в ассоциации с альбумином не могут быть смешаны, даже если они имеют цепи одинаковой длины; различия сохраняются и в фазе жидкого кристалла. Можно обоснованно говорить, что смешение индивидуальных ЖК и индивидуальных ТГ, тем более ТГ с поли-ЭХС, с образованием гомогенной структуры невозможно; недостижимо это и при воздействии ультразвука, хотя временно видимой гомогенности добиться можно. Это ставит под сомнение модель ЛП, сформированную американскими липидологами и отображенную во многих статьях; в этой модели в ядре изображено смешение ТГ и поли-ЭХС. Физико-химически это невозможно.

Поэтому четверть века ранее мы предложили иную структуру апоВ-100 ЛП, в которых разные по гидрофобности ТГ, тем более поли-ЭХС, ассоциированы с разными доменами апоВ-100. Изменение отношения ТГ/поли-ЭХС является причиной формирования активной конформации апоВ-100, при которой на поверхности ЛПНП формируется апоВ-100-лиганд. Структурной особенностью ЖК в составе фосфолипидов (ФЛ) является то, что ацильные цепи «смотрят» в разные стороны. Твердая фаза образуется из ФЛ, если упаковать их в гексагональные структуры, когда полярные взаимодействия исключены, возможно и взаимодействие между головными группами ФЛ (рис. 6).

Ежедневно из жировой ткани происходит мобилизация около 200 г ЖК. Это на три порядка выше возможного одномоментного связывания их с альбумином. Белок предотвращает ассоциацию ЖК с формированием жидкокристаллических или кристаллических агрегатов (мицелл) при нейтральном значении рН. С одной стороны, альбумин ускоряет активное поступление в клетки ЖК, с другой – предотвращает формирование комплексов ЖК при концентрации их в крови выше уровня образования мицелл. До 99% НЭЖК в крови связано с альбумином. Однако и ЛП и мембраны клеток обладают сходной аффинностью по отношению к ЖК и альбумину; при высокой концентрации ЖК в крови последние встраиваются и в полярный монослой ФЛ на поверхности ЛП, и в бислой ФЛ на плазматической мембране клеток эндотелия. Это происходит при диабете, сепсисе, инфаркте миокарда, гипертиреозе, нефротическом синдроме и гипоальбуминемии генетического происхождения. Это происходит тогда, когда ассоциация альбумина с НЭЖК может быть изменена: метаболический ацидоз, большие дозы лекарств, неферментативное гликирование белка и гипербилирубинемия. Отношение ЖК/альбумин снижено при низкой секреции инсулина и состоянии диабетического кетоацидоза.

При оценке связывания ЖК с альбумином необходимо соблюсти все условия: температуру, состав белков, концентрацию солей и альбумина. Снижение в крови концентрации Ca^{2+} изменяет конформацию альбумина. Ассоциация ЖК с альбумином человека, монослоем ФЛ, с везикулами и нативными ЛП зависит от отношения ЖК/альбумин. При молярном соотношении 1:1 ЖК ассоциируются с альбумином, занимая высокоаффинные места связывания. При большем молярном соотношении ЖК ассоциируются и с полярным монослоем на поверхности массы ТГ в ЛПОНП. Аффинность белка является низкой по отношению к ЖК с длиной цепи С20 и более. Однако и вторую и третью пальмитиновую НЖК альбумин связывает с меньшей аффинностью, чем первую; имеет место функциональное негативное соотношение альбумина и ПНЖК.

Альбумин связывает только отрицательно заряженные НЭЖК; незаряженные ЖК встраиваются в плазматическую мембрану клеток. Это происходит при нефротическом синдроме, кетоацидозе, стрессе, при выраженной адренергической стимуляции. Следовательно, чем более выражен метаболический ацидоз, тем меньше в межклеточной среде альбумин связывает НЭЖК, тем больше НЭЖК находятся в межклеточной среде в самоассоциации с иными ЖК в форме мицелл, формируя фракцию не связанных с альбумином НЭЖК, фракцию свободных СЖК. Физико-химически, афизиологично наличие СЖК является нежелательным.

Два пути неэтерифицированных ЖК в межклеточной среде, путь НЭЖК и путь СЖК

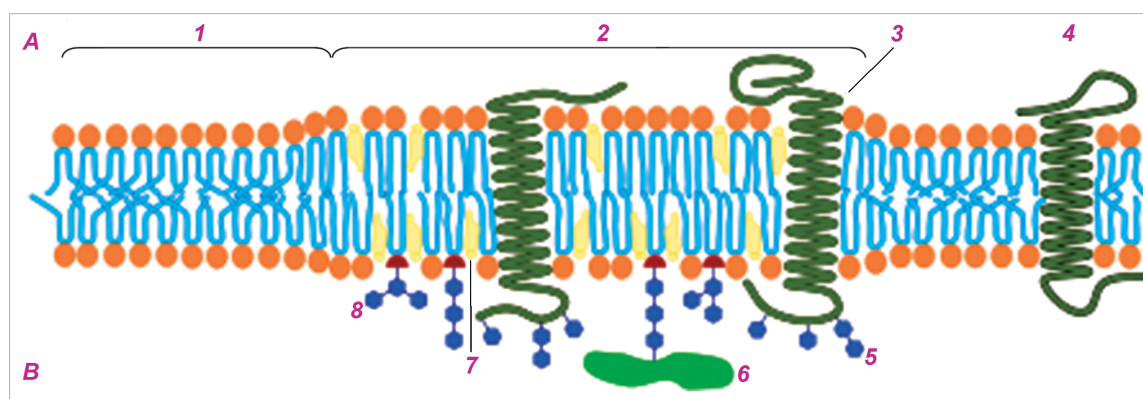


Рис. 7. Строение липидного пласта.

А – цитоплазма; В – внешняя среда; 1 – липиды в жидкой неупорядоченной фазе окружают плот 2; 3 – трансмембранный белок в пласте; 4 – белок клеточной мембраны; 5 – цепи олигосахаридов гликопротеинов; 6 – гликозилфосфатидилинозитол; 7 – спирт ХС; 8 – гликолилипид.

НЭЖК представлены в плазме крови двумя динамичными пулами: НЭЖК в ассоциации с альбумином и НЭЖК, которые циркулируют в виде мицеллярных структур, пул СЖК. Альбумин связывает только отрицательно заряженные, диссоциированные ЖК, которые лишены протона. Незаряженные, недиссоциированные ЖК поступают в клетку вне ассоциации с альбумином; мицеллы встраиваются в наружный монослой мембраны, формируя длительно существующие гидрофильные поры.

Для акцепции ЖК мембраной клеток требуется их диссоциация из связи с альбумином. Диссоциация ЖК является катализируемой при взаимодействии альбумина с мембраной. Освобождение ЖК из ассоциации с альбумином не превышает скорость их диффузии через клеточную мембрану. Диссоциация ЖК с альбумина происходит быстрее, чем они диффундируют через мембрану. Вместе с тем явно каталитических, химических реакций при этом не происходит. Предполагают, что ЖК не просто покидают альбумин, поскольку для диссоциации, которая сопровождается изменением конформации, требуется энергия.

Альбумин, вероятно, взаимодействует со специфичными доменами на мембране – гидрофобными кластерами, с рафтами (плотами). Диссоциация с альбумином олеиновой МЖК является лимитирующим этапом в последующем связывании белка с мембраной клеток; это предполагает наличие рецепторов к альбумину. Ранние позвоночные альбумина не имеют. У высших позвоночных есть альбумин и рецепторы к нему. Теория рецепторов к альбумину полагает, что диссоциацию ЖК с альбумином катализирует взаимодействие белка с плазматической мембраной.

Диссоциацию ЖК активирует связывание альбумина с более гидрофобной поверхностью. Способность альбумина связываться с гидрофобными доменами на мембране определена конформацией, которую белок принимает в ассоциации с лигандами. Вероятно, на плазматической мембране клеток альбумин + ЖК ассоциируется с гидрофобными доменами мембраны, с плотами с выражено более высокой гидрофобностью.

Липидный плот – микродомен плазматической мембраны клеток, обогащенный ХС и насыщенными ФЛ сфинголипидами. Образно говоря, это кластер плотно упакованных липидов, который «плавает» в окружении менее гидрофобного ФХ. Размеры пласта от 50 до 200 нм. Встраивание интегральных белков в плот способствует его стабилизации; последующее связывание лигандов с рецепторами приводит к слиянию пластов при латеральной диффузии, запуская при этом порой передачу внутриклеточного сигнала. Липидные плоты – «легкая» фракция клеточной мембраны, устойчивая к действию неионного детергента (третон X-100) при температуре 4°C (рис. 7).

В этих условиях мембрана из ФХ в жидкой неупорядоченной фазе растворяется, а липиды в жидкой упорядоченной фазе сохраняют структуру. Эта относительная устойчивость к растворению использована изначально как фактически характеристика липидного пласта. Важная роль ХС для образования пласта показана при обработке мембраны циклодекстрином. Сорбент, связывая полярный ХС и удаляя его из липидной мембраны, инициирует растворение пластов в окружающих ФХ. Некоторые белки специфично локализованы только в липидных пластах; это протеины с глицерофосфатидилинозитолом и трансмембранными белками. Другие белки встраиваются в плоты только после того, как они активированы (рецепторы Т- и В-клеток, CD36 транслокатора) (рис. 8).

Альбумин связывается не только с гепатоцитами, но и с гидрофобными доменами других клеток; окисление ЖК в инсулин-независимых кардиомиоцитах зависит от активности переноса ЖК. Диссоциация ЖК с альбумином – лимитирующий этап клиренса их из межклеточной среды. Альбумин в физиологической концентрации может формировать нековалентные, лабильные димеры. Диссоциация АЛБ↔НЭЖК не является спонтанной; не является она и очень быстрой. Взаимодействие альбумина с мембраной рассматривают как функцию специализированных доменов. Возможно, что синтез альбумина возрастает после каждого приема пищи. Первичное место, отведенное для связывания пальмитиновой НЖК, – петли 7–9 С-конца молекулы. Альбумин связывает одну, две НЖК + МЖК, третий домен обычно занят менее гидрофобными лигандами – билирубином.

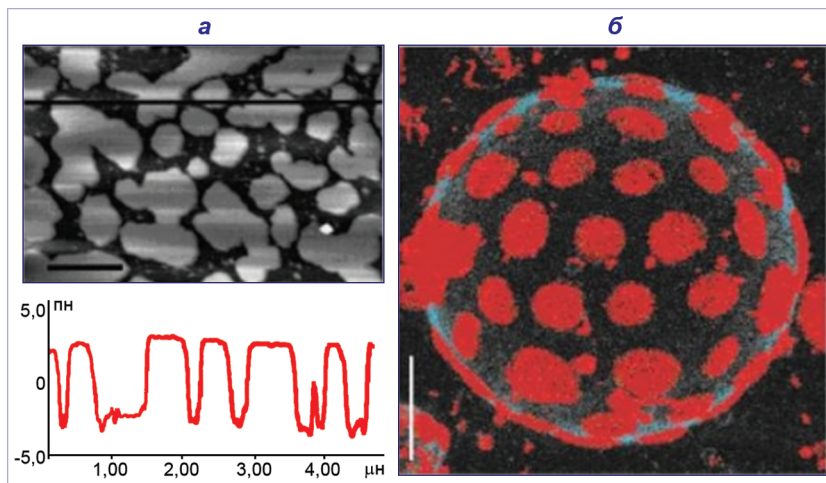


Рис. 8. Плоты – липидные домены в бислоевой липидной мембране (а; метод сканирующей зондовой микроскопии) и профиль пластов (б).

Использование меченого белка показало наличие аффинных мест связывания на мембране гепатоцитов для комплекса альбумин + НЭЖК; физиологично не более 1% НЭЖК в межклеточной среде не связано с альбумином.

Альбумин активно связывает НЖК и МЖК и слабо ассоциируется с линоленовой ННЖК. Альбумин новорожденных слабо связывает пальмитиновую НЖК. Олеиновую МЖК и стеариновую НЖК клетки поглощают путем диффузии через бислой мембраны. ЖК С8 в клетку не поступает, вероятно, по причине недостаточной гидрофобности. Метилирование пальмитиновой НЖК предотвращает ее ассоциацию с альбумином и поглощение клетками. Перенос через мембрану не требует затрат АТФ; при этом проназа, но не трипсин ингибирует пассивное поглощение клетками НЭЖК. Это дает основание говорить о наличии специфической функции белков, которые вовлечены в перенос ЖК. Поглощение ЖК клетками происходит быстро, но механизм переноса остается неясен. Гидрофобные и полярные ЖК встраиваются и диффундируют через бислой ФЛ при действии отчасти CD36-транслоказы.

Однако далеко не все придерживаются теории простой диффузии. Показано, что окисление ЖК в гепатоцитах снижается при обработке клеток трипсином, как и при добавлении в среду α -Вг-пальмитиновой НЖК. Поступление ЖК в адипоциты и кардиомиоциты – процесс насыщаемый: скорость входа ЖК в клетку во многом определяет скорость их окисления. Поступление ЖК в клетку удается блокировать флоретином, который ингибирует процессы транспорта в плазматической мембране клеток. Поступление в клетку олеиновой МЖК из ассоциатов с альбумином – насыщаемый, высокоаффинный процесс. В то же время при афизиологично высокой концентрации в крови СЖК клетки медленно поглощают ее путем пассивной диффузии. Этот процесс отражает простую диффузию НЖК и МЖК через бислой ФЛ. При этом концентрация ЖК, встроенных в наружный монослой плазматической мембраны, может быть существенно выше, чем во внутреннем.

Конкуренция между разными ЖК за поглощение их адипоцитами является доказательством специфичности транспорта через мембрану. Эту конкуренцию можно использовать для определения структуры, которая необходима для переноса; альбумин связывает каждую ЖК с разной величиной константы связывания. Стеариновая НЖК ингибирует поглощение клетками олеиновой МЖК. Метилирование карбоксильной группы выражено снижает поглощение клетками линолевой ЖК; альбумин практически не связывает метиловые эфиры ЖК. Содержание в крови ЖК и альбумина примерно одинаково (400–500 мкМ) и молярное отношение в норме составляет 0,4–1,1. В физиологических условиях концентрация СЖК составляет не более 1,0 мкМ. Максимальная скорость поглощения клетками ЖК составляет 0,6–2,5 нмоль/мин 10 млн клеток. Это сопоставимо с поглощением адипоцитами ГЛЮ (0,02 нмоль в норме и 1,0 нмоль при действии инсулина). Создается впечатление, что, как и для глюкозы, поступление в клетки ЖК при необходимости может быть увеличено.

При низких концентрациях ЖК в среде стеариновая НЖК ингибирует поглощение клетками олеиновой МЖК; при высоких концентрациях ЖК этого не происходит. Видимо, в местах связывания с низкой аффинностью олеиновая МЖК удерживается более стабильно, чем стеариновая НЖК. Для транспорта через мембрану ацильная цепь ЖК не может быть короче, чем С10. Обработка клеток проназой ингибирует окисление ЖК в митохондриях адипоцитов в большей мере, чем в кардиомиоцитах. Возможно, поступление ЖК в клетки происходит поразному.

Из внутреннего монослоя липидов мембраны ЖК связывают и втягивают в цитозоль специфичные транспортные белки; связывание ЖК происходит пропорционально содержанию их в мембране. Ковалентное связывание ЖК с транспортным белком, меченным флуорофором, позволило установить коэффициент диссоциации; для олеиновой МЖК 0,33, для линолевой ННЖК 0,97, линоленовой ННЖК 1,6 и Арахид ПНЖК 2,5 мкМ. Константа диссоциации соответствует растворимости ЖК в воде. При ассоциации с транспортным белком, как и с альбумином, остается пул СЖК. Цитоплазматический белок может вы-

полнять функцию альбумина. Это небольшой (15 кД) протеин, первичная структура которого варьирует в зависимости от вида клеток, третичная – является сходной.

Измерение концентрации НЭЖК в клинической биохимии за последние 40 лет претерпело существенные изменения. Сам автор вначале измерял содержание НЭЖК путем формирования медного мыла в реакции с триэтанололамином, после экстракции определяя в нем содержание ионов Cu^{2+} в реакции комплексообразования с диэтилдитиокарбаматом, качественным реактивом на ионы меди. Это – реакция Дункомба. Далее последовал метод Долла – титрование сыворотки крови сантимолярным едким натрием – NaOH. И только через десятилетия был разработан энзиматический, колориметрический метод определения НЭЖК+СЖК в реакции с липоксигеназой. Содержание НЭЖК заслуживает того, чтобы его в клинической биохимии измеряли более часто. В следующих работах мы изложим этиологические факторы и патогенез основной патологии, которая обусловлена нарушением метаболизма НЭЖК + СЖК, и это будет широко распространенный “метаболический” синдром. В странах Средиземноморья низка заболеваемость атеросклерозом, но распространенность “метаболического” синдрома высокая.

Вопросы для самоконтроля

1. Каким образом на самых ранних ступенях филогенеза сложилось так, что клетки не поглощают из межклеточной среды глюкозу, пока есть возможность поглощать ЖК?
2. Каким образом реализована способность филогенетически позднего инсулина активировать поглощение клетками глюкозы?
3. Какова роль альбумина в переносе в межклеточной среде и поглощении клетками НЖК + МЖК + ННЖК?
4. Каково патофизиологичное различие действия в сосудистом русле пула НЭЖК + альбумин и пула СЖК без альбумина?
5. Каковы особенности альбумина как переносчика НЭЖК и каковы механизмы поглощения НЭЖК клетками из ассоциатов с альбумином?

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Титов В.Н. *Филогенетическая теория общей патологии. Сахарный диабет*. М.: Инфра-М; 2015.
2. Титов В.Н., Амелюшкина В.А. *Электрофорез белков сыворотки крови*. М.: Оптимум-пресс; 1994.
3. Один В.И. *Аутоиммунный сахарный диабет*. СПб.; 2003.
4. Титов В.Н., Рожкова Т.А., Амелюшкина В.А. *Жирные кислоты, триглицериды, гипертриглицеридемия, гипергликемия и инсулин (патогенез, диагностика и лечение)*. М.: Инфра-М; 2015.
5. Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е., ред. *Альбумин сыворотки крови в клинической медицине*. Книга 2. М.: ГОЭТАР; 1998.

Поступила 19.10.15

REFERENCES

1. Titov V.N. *Phylogenetic Theory of General Pathology. Diabetes [Filogeneticheskaya teoriya obshchey patologii. Sakharnyy diabet]*. Moscow: Infra-M; 2015. (in Russian)
2. Titov V.N., Amelyushkina V.A. *Electrophoresis of Serum Proteins [Elektroforez belkov syvorotki krovi]*. Moscow: Optimum-press; 1994. (in Russian)
3. Odin V.I. *Autoimmune Diabetes [Autoimmunnyy sakharnyy diabet]*. St. Petersburg; 2003. (in Russian)
4. Titov V.N., Rozhkova T.A., Amelyushkina V.A. *Fatty Acids, Triglycerides, Hypertriglyceridemia, Hyperglycemia, and Insulin (pathogenesis, diagnosis and treatment) [Zhirnye kisloty, triglitseridy, gipertriglitseridemiya, giperqlikemiya i insulin (patogenez, diagnostika i lechenie)]*. Moscow: Infra-M; 2015. (in Russian)
5. Gryzunov Yu.A., Dobretsov G.E., eds. *Serum Albumin in Clinical Medicine [Al'bumin syvorotki krovi v klinicheskoy meditsine]*. Book 2. Moscow: GOETAR; 1998. (in Russian)

Received 19.10.15