

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ИВАНОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Казакова Татьяна Евгеньевна

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ТРАНСПОРТНОГО ПУТИ ЛИПИДОВ ИЗ ПОЛОСТИ
ТОНКОЙ КИШКИ В СОБСТВЕННУЮ ПЛАСТИНКУ
КИШЕЧНОЙ ВОРСИНКИ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология (биологические науки)

14.03.01 – Анатомия человека (биологические науки)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научные руководители:
доктор биологических наук, доцент
Сесорова Ирина Сергеевна;
доктор медицинских наук, профессор
Миронов Александр Александрович

Иваново – 2020

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1. 1. Микроскопическая анатомия кишечной ворсинки слизистой оболочки тонкой кишки.....	10
1. 2. Морфофункциональное строение каемчатого энтероцита слизистой оболочки тонкой кишки.....	14
1. 3. Транспорт липидов из тонкой кишки в собственную пластинку кишечной ворсинки.....	20
1. 4. Молекулярные механизмы транспорта липидов из просвета кишки в собственную пластинку кишечной ворсинки	23
Заключение.....	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	37
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	44
3. 1. Строение энтероцита кишечной ворсинки крысы после 24-часового голодания.....	44
3. 2. Структура и временные характеристики транспортного пути липидов из просвета кишки в собственную пластинку кишечной ворсинки.....	55
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	72
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	90
ВЫВОДЫ.....	93
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	94
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	95
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	96

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Кишечное пищеварение, всасывание и секреция пищевых жиров являются важными шагами в поддержании липидного и энергетического гомеостаза всего тела [16]. В настоящее время хорошо известно, что развитие ожирения и связанных с ним заболеваний частично обусловлено чрезмерным потреблением липидов [95]. Возникшая пандемия ожирения в сочетании с повышенным потреблением жиров и продуктов, богатых энергией, привела к возобновлению интереса к роли тонкой кишки в комплексной регуляции гомеостаза липидов. Кроме того, глубокое понимание процессов трансформации липидов в кишечнике может способствовать прогрессу в лечении дислипидемии и атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний.

Ультраструктуре транспортного пути липидов через энteroцит кишечной ворсинки посвящен ряд работ [5, 93, 132, 197, 198, 224, 251, 288]. В последние годы, с развитием методов молекулярной и клеточной биологии, наши представления как о строении, так и о механизмах всасывания липидов в тонкой кишке расширились. При этом в подавляющем большинстве работ последних лет основной акцент делается на ключевых белках, участвующих в поглощении и внутриклеточном транспорте жирных кислот и формировании хиломикрона [199]. Ультраструктуру секреторного пути прехиломикрона изучали Sabesin S. M. and Frase S. (1977), а также Tso P. et al. (1986) которые продемонстрировали возможность выхода липидных частиц, превышающих размер СОРН-производных везикул, из эндоплазматического ретикулума и их транспорт к комплексу Гольджи [224, 281]. Однако остался неясным ряд вопросов, связанных с механизмами внутриклеточного транспорта и трансцитоза в энteroците. Между тем их детализация позволит уточнить, а в ряде случаев по-новому посмотреть на механизмы транспорта липидов через эпителий кишечной ворсинки в ее собственную пластинку.

Так, сегодня принимается, что низкомолекулярные липиды (жирные кислоты и моноацилглицерин) транспортируются через щеточную каемку в энteroцит диффузией или с помощью мембранных (кавеол, везикул) или молекулярного переносчика [159]. Однако морфологических доказательств эндоцитоза до настоящего времени не представлено.

Мы не встречали детального описания комплекса структур, формирующих барьер между просветом кишечника и просветом лимфатического капилляра. Известно, что энteroциты соединены друг с другом с помощью плотных, промежуточных, щелевых соединений и десмосом [5, 8], образуют пальцевидные контакты. Однако закономерности расположения и их функциональная роль не изучались.

Гипотезы транспорта липидов из эндоплазматического ретикулюма через комплекс Гольджи, как правило, строятся на данных, полученных из экспериментальных исследований транспорта белков, изучаемого на культурах тканей. Насколько эти данные можно экстраполировать применительно к транспорту прехиломикронов – неясно. Не ясен механизм выхода липидов из энteroцита в межклеточное пространство и их прохождения через базальную мембрану. Остается открытым вопрос о механизмах транспорта липидов в просвет лимфатического капилляра и роли клапанов в стенке лимфатических капилляров в процессе образования лимфы.

Эти и ряд других вопросов требуют детализации и морфологических обоснований, что позволит по-новому оценить процессы, связанные с нарушением всасывания липидов слизистой оболочкой тонкой кишки, что важно для разработки новых терапевтических стратегий улучшения здоровья сердца и нормализации обмена веществ [148].

Цель исследования – изучить ультраструктуру транспортного пути липидов из полости тонкой кишки в собственную пластинку кишечной ворсинки и найти морфологическое обоснование механизмов их транспорта.

Задачи исследования

1. Охарактеризовать структуры кишечной ворсинки начального отдела тонкой кишки крысы, участвующие в транспорте липидов, после 24-часового голодания.
2. Проанализировать временные характеристики транспорта липидов через энteroцит в условиях низкой пищевой нагрузки.
3. Изучить структуру транспортного пути липидов из просвета кишки в эндоплазматический ретикулум.
4. Изучить структуру комплекса Гольджи во время прохождения хиломикрона через стопку цистерн и сравнить полученные результаты с известными моделями транспорта через органеллу.
5. Проанализировать транспортный путь хиломикронов из межклеточного пространства между энteroцитами через базальную мембрану кишечного эпителия в собственную пластинку кишечной ворсинки.
6. Проанализировать роль межклеточных контактов и цитоскелета энteroцита в транспорте липидов через кишечный эпителий.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В условиях низкой пищевой нагрузки липиды поглощаются апикальной частью плазмолеммы энteroцита без эндоцитоза.
2. Транспорт прехиломикронов из эндоплазматического ретикулума в комплекс Гольджи происходит без формирования СОPI-производных везикул и «мегавезикул».
3. Липиды транспортируются через стопку комплекса Гольджи в течение 20 минут. Концентрация липидов от цис- к транс-полюсу стопки, формирование между структурами комплекса Гольджи непостоянных тубулярных соединений и отсутствие липидов в везикулах, образуемых с участием СОPI-покрытия, согласуется с транспортной моделью «слияния и последующего разделения» компартментов («kiss-and-run»).

4. Хиломикроны проходят через поры базальной мембранны, образованные преимущественно дендритными клетками.

5. Пальцевидные (интердигитирующие) межклеточные контакты, локально расположенные между контактами энteroцитов, и окружающие их элементы цитоскелета, связанные с десмосомами и адгезивными соединениями, лежат в основе «насосного» механизма перемещения липидов через клетку и выдавливания хиломикронов из зоны пальцевидных контактов в интерстиций собственной пластиинки кишечной ворсинки.

Научная новизна исследования

1. Впервые для изучения механизмов транспорта липидов была использована экспериментальная модель, исключающая избыточную липидную нагрузку на слизистую оболочку тонкой кишки, что позволяет адекватно сравнить полученные и имеющиеся в литературе данные.

2. Впервые комплексом электронно-микроскопических методов, в том числе трехмерной электронной микроскопией высокого разрешения, проведен анализ ультраструктуры транспортного пути липидов через энteroцит кишечной ворсинки: показано строение эпителиального барьера тонкой кишки.

3. Оригинальным является морфологическое обоснование модели транспорта липидов из эндоплазматического ретикулюма в комплекс Гольджи, из комплекса Гольджи к базолатеральной части плазматической мембранны; через базальную мембранны эпителия в собственную пластиинку кишечной ворсинки.

4. Новым является доказательство (с помощью электронно-микроскопических методов) того, что у взрослых крыс во время транспорта липидов через апикальную часть плазматической мембранны энteroцита в условиях, исключающих избыточную липидную нагрузку, эндоцитоз не играет существенной роли.

5. Разработана новая модель «насосного» механизма транспорта липидов из зоны пальцевидного контакта соседних энteroцитов в собственную пластинку кишечной ворсинки.

Практическая значимость научного исследования

Полученные результаты:

1) позволяют уточнить, а в ряде случаев по-новому посмотреть на механизмы трансформации липидов в кишечнике, что может способствовать прогрессу в лечении дислипидемии, атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний;

2) могут использоваться для создания экспериментальных моделей для тестирования лекарственных средств;

3) позволяют более детально понять клеточные механизмы ряда заболеваний, в том числе ожирения, что важно для обоснования новых методов лечения, интерпретации эффектов после применения лекарственных средств.

Предложенная в работе экспериментальная модель может быть использована для последующего изучения механизмов транспорта липидов и жирорастворимых веществ и изучения влияния экзо- и эндогенных факторов на процессы всасывания липидов.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедрах гистологии, эмбриологии и цитологии; анатомии, топографической анатомии ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Личный вклад автора

Автор непосредственно участвовал в выборе темы, определении цели, формулировке задач, в разработке методических и экспериментальных

подходов, проведении научного поиска, проведении эксперимента, обработке, анализе и интерпретации полученных результатов. Ряд наблюдений были осуществлены совместно с другими исследователями, что документировано совместными публикациями и протоколом этического комитета. В частности, подготовка и съемка образцов для электронной томографии осуществлена с помощью д-ра мед. наук Г. В. Безнусенко в лаборатории электронной микроскопии Института молекулярной онкологии, г. Милан (Италия). Некоторые разделы работы выполнены в сотрудничестве с канд. биол. наук И. Д. Димовым, доцентом кафедры анатомии человека ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Апробация диссертации

Результаты научного исследования были представлены в виде четырех докладов на конференциях и конгрессах: на XIV-м Конгрессе Международной ассоциации морфологов (Астрахань, 2018); на IV-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием (Иваново, 2018); на VII-м Всероссийском съезде анатомов, гистологов и эмбриологов (Воронеж, 2019); на V-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием (Иваново, 2019).

Публикации

Результаты проведённых исследований отражены в 11-ти научных и приравненных к ним работах, из которых 5 опубликованы в научных рецензируемых журналах, где должны быть представлены результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, в том числе 3 публикации в журналах, индексируемых в международной реферативной базе данных Scopus.

Объем и структура диссертации

Общий объем диссертации – 128 страниц машинописного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований с иллюстрациями, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка литературы. Работа проиллюстрирована 4-мя таблицами и 15-ю комбинированными рисунками. Библиография включает 295 источников, в том числе 10 отечественных и 285 иностранных.

Благодарности

Выражаю глубокую благодарность моим научным руководителям: доктору биологических наук, доценту И. С. Сесоровой и доктору медицинских наук, профессору, члену-корреспонденту РАМН А. А. Миронову, определившим направление моих исследований и предоставившим возможность проведения части из них на базе лаборатории электронной микроскопии Института молекулярной онкологии г. Милана. Искренне благодарна доктору медицинских наук Г. В. Безнусенко и доценту И. Д. Димову за помощь в подготовке и обсуждении материала; сотрудникам и преподавателям Ивановской государственной медицинской академии за техническую помощь и поддержку.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. 1. Микроскопическая анатомия кишечной ворсинки слизистой оболочки тонкой кишки

Слизистая оболочка тонкой кишки имеет характерный рельеф, микроскопическими элементами которого являются ворсинки (выпячивания) и крипты (трубчатые углубления). Ворсинки представляют собой выпячивания пальцевидной или листовидной формы, обращенные в просвет кишки, покрытые эпителием и имеющие «ядро», образованное структурами собственной пластинки слизистой оболочки кишки [136]. Однослойный столбчатый эпителий, выстилающий кишечный тракт, формируется из мультипотентных стволовых клеток, расположенных в основании каждой крипты. После дифференцировки из этих клеток происходят четыре основных типа эпителиальных клеток: каемчатые клетки (энтероциты), которые составляют более 80% от числа всех эпителиальных клеток тонкой кишки, в зарубежной литературе могут называться абсорбирующими энteroцитами, абсорбирующими клетками; бокаловидные клетки, производящие различные муцины и трилистные пептиды, необходимые для роста и восстановления эпителия; энteroэндокринные клетки, которые экспортируют пептидные гормоны; клетки с ацидофильными гранулами (клетки Панета), которые секретируют антимикробные криптидины или дефензины, пищеварительные ферменты и факторы роста. После дифференцировки энteroциты, бокаловидные и энteroэндокринные клетки мигрируют вверх и отшелушиваются на кончиках ворсинок [76]. Как количество эпителиальных клеток на ворсинку, так и площадь поверхности ворсинок хорошо коррелируют с высотой ворсинок и с количеством эпителиальных клеток на срезе ворсинок [228].

Базальную часть плазмолеммы энteroцитов кишечной ворсинки подстилает слой сплошной, хорошо выраженной базальной мембранны. Базальная мембрана эпителия кишки обеспечивает интеграцию между мигрирующими и дифференцирующимися клетками. На электронограммах

они представлены полоской фибриллярного материала, богатой гликопротеинами [76].

Базальные мембранные содержат ламинин-1, фибронектин, коллаген типа IV, энтацитин (нидоген), а также перлекан [269] в качестве основного компонента гепарансульфат-протеогликанов [77, 98].

В базальной мембране с помощью сканирующей электронной микроскопии были обнаружены поры разного диаметра (от 0,5 до 5 мкм), нарушающим ее непрерывность [164]. Было выдвинуто предположение, что базальная мембрана возникает *de novo* без перфораций, которые появляются позднее в результате миграции клеток, прохождения инертного материала [91, 163], а также связаны с наличием псевдоподий эпителиальных клеток, пересекающих мембрану для контакта с мезенхимными клетками [165].

Было показано, что в базальной мембране кишечных ворсинок крыс отверстия имеют круглую или овальную форму и диаметр от 0,5 до 5 микрон. Они распределены с плотностью $1-2 \times 10^{(4)} / \text{мм}^2$ в верхних двух третях кишечных ворсинок, за исключением самых верхушек. В порах размером 3 мкм найдены отростки клеток иммунной системы и эпителиоцитов [140, 260].

Компоненты базальной мембраны служат промоторами дифференцировки эпителиоцитов кишки крысы [29]. Белок внеклеточного матрикса – тенасцин накапливается в плотной мезенхиме вокруг растущего эпителия [265], обеспечивает связь между эпителиоцитами и собственной пластинкой слизистой оболочки, вовлекается в процессы физиологического отторжения энтероцитов [207].

Тонкая базальная мембрана отделяет эпителий от собственной пластинки слизистой оболочки. Гистологически собственную пластинку рассматривают как область, лежащую между эпителием и структурами, образующими внутреннее ядро ворсинки [76]. Она образована типичной ретикулярной тканью с тонкой сеткой ретикулярных и коллагеновых волокон, свободными и фиксированными клетками, лежащими между ними.

Среди клеточных элементов отмечаются: плазматические клетки, эозинофилы, базофилы, нейтрофилы, лимфоциты [76], макрофаги, а также дендритные клетки, которые обеспечивают либо защитный иммунитет к инфекционным агентам, либо толерантность к безвредным антигенам, включая пищевые и комменсальные бактерии [217].

Кроме того, в строме кишечной ворсинки находятся клетки мезодермального происхождения [129]. К ним относятся различные типы фибробластоподобных клеток, также известные как фибробластные или стромальные клетки [161]. Более поздние иммуногистохимические исследования подтвердили их принадлежность к миофибробластам [185]. Это клетки звездчатой формы с большим числом отростков. Они содержат пучки актиновых филаментов, белки тропомиозин и миозин [133] и контактируют друг с другом с помощью щелевых контактов [141]. Миофибробlastы образуют сеть, покрывающую микрососудистое «дерево» ядра ворсинки. Данная трехмерная сеть, предположительно, может выступать в качестве скелета ворсинки, а также, влиять на эффективность всасывания и транспортировки питательных веществ (при сокращении миофибробластов) [69]. Сеть охватывает собственную пластинку и находится в тесном контакте с эпителием, нервами и капиллярами, гладкими мышцами и иммунными клетками [97].

В дополнение к различным волокнистым элементам (включая коллаген IV, тенасцин [111], десмин, энтактин, ламиинины [103]) собственная пластина кишечной ворсинки содержит аморфное вещество, включающее смесь гликоаминогликанов и гиалуроновой кислоты, степень гидратации которых зависит от скорости выведения абсорбированной жидкости микроциркуляторным руслом и лимфатической системой [37, 38, 100].

В центральной зоне кишечной ворсинки располагается густая сеть коллагеновых волокон, расположенных вокруг кровеносных и лимфатических капилляров, с которой в тесном контакте находятся миофибробlastы. В ядре ворсинки располагаются пучки гладкомышечных

клеток, которые на верхушке ворсинки связаны с миофибробластами собственной пластиинки [118] и сосудами [100].

После удаления эпителия на поверхности ворсинок видна сеть кровеносных сосудов [257].

Ацентрально расположенная на верхушке ворсинки центральная артериола переходит в капиллярное сплетение, состоящее из цилиндрической формы подэпителиальных обменных микрососудов, часто имеющих извитую конфигурацию. Все эти капилляры спускаются по направлению к основанию ворсинки, где переходят в венулу, берущую начало приблизительно из верхней трети ворсинки. Ниже этого сосудистого пучка капилляры следуют вертикально вниз, прилегая к базальной мембране и слою фибробластов, где они сливаются с сосудами, связанными с устьем крипты [100]. В микрососудистой архитектуре ворсинки имеются заметные межвидовые различия.

В центре кишечной ворсинки располагаются 3-10 или более центральных млечных сосудов (центральный лимфатический сосуд; терминальный млечный сосуд [39]; лимфатический капилляр [10]) в зависимости от ширины ворсинки. Центральный млечный сосуд представляет собой слепо начинающийся капилляр, расположенный в центре ворсинки [180]. Замкнутый начальный отдел центрального лимфатического капилляра ворсинки располагается под вершинами ворсинок на 30-50 мкм от их поверхности. Млечные сосуды в каждой ворсинке образуют анастомозы друг с другом и окружены сетью кровеносных капилляров. В основании ворсинки млечные сосуды сливаются и образуют широкий синус, из которого выходят 2 или 3 лимфатических сосуда уходящих в подслизистую оболочку кишки [192, 193]. В верхних отделах ворсинки просвет в лимфатических капиллярах максимален, а их расстояние до эпителиальной базальной мембранны передней и задней поверхностей невелико. В нижней части ворсинок размер просвета в лимфатических микрососудах минимален [6].

В лимфатических капиллярах выявлены определенные ультраструктурные особенности: их эндотелий не имеет фенестр, базальная мембрана отсутствует. Соединения между эндотелиальными клетками могут быть закрытыми, сложными, простыми и открытыми, что, очевидно, зависит от фазы работы органа. Для посткапилляров характерны прерывистая базальная мембрана и наличие внутрипросветных клапанов. Соединения между эндотелиоцитами посткапилляров в основном закрыты, но, время от времени, встречаются простые открытые, что демонстрирует определенные дренажные и транспортные функции этой части лимфатического русла [9].

1. 2. Морфофункциональное строение каемчатого энteroцита слизистой оболочки тонкой кишки

Призматические, каемчатые энteroциты составляют основную массу клеток ворсинок. Они формируют слой шестиугольных клеток, отличительной особенностью которого является «щеточная каемка», состоящая из тонких выростов апикальной части плазмолеммы – микроворсинок.

Энteroциты имеют типичный для данного эпителия набор органелл: эндоцитозные везикулы, эндосомы, лизосомы, вторичные транспортные пузырьки и апикальные микротрубочки [2, 5, 229]. В базальной части энteroцитов располагаются овальной формы ядра с примерно равным отношением гетеро- и эухроматина. В надядерной зоне располагаются овальные или округлые митохондрии и структуры комплекса Гольджи с небольшим количеством везикул. Под ядром количество митохондрий уменьшается. Свободные рибосомы и полисомы встречаются повсеместно в умеренном количестве. Изредка в надядерной области встречаются лизосомы. Профили ГЭР выявляются, в основном, в надядерной цитоплазме, ШЭР развит слабо. Над ядром расположены структуры комплекса Гольджи. Стопки комплекса Гольджи либо располагаются в зоне верхнего полюса ядра, либо лежат параллельно длиннику клетки.

Микроворсинки. Апикальная поверхность энteroцитов кишечных ворсинок образована микроворсинками – пальцевидными выпячиваниями плазмолеммы. У каждого энteroцита насчитывается около 2000 микроворсинок цилиндрической формы около 1000 нм в длину и 100 нм в диаметре. Они увеличивают площадь апикальной поверхности клетки в 24 раза. Среднее количество микроворсинок на 1 мкм² поверхности энteroцита толстой кишки у крыс составляет 65. Длина микроворсинок равна, в среднем, 1,653 мкм, диаметр – 0,084 мкм, средняя площадь – 0,419 мкм², общее отношение поверхности микроворсинок к поверхности ворсинки – 27 [21, 197].

Каждая микроворсинка содержит 40-50 актиновых филаментов, которые заканчиваются в цитоплазме энteroцита на глубине 500 нм, образуя терминальное сплетение [5]. В состав актиновых филаментов в апикальной зоне входят белки виллин и фимбрин [85], в переходной зоне между криптами и ворсинками – миозин [114]. Фимбрин, увеличивает жесткость и порядок микроворсинок [61], в его отсутствии микроворсинки становятся короче и имеют менее упорядоченные ядра [204]. Виллин представлен в равных количествах во всех клетках ворсинок, при этом виллин-специфическая мРНК найдена преимущественно в базальных отделах ворсинок, где происходит окончательная дифференцировка клеток и формирование щеточной каемки [70, 264].

Эспин является еще одним актин-связывающим белком, обнаруженым в микроворсинках и присоединяющимся к актиновым мономерам. Он рекрутируется после виллина и фимбрина [79], причем, мыши, лишенные эспина, имеют нормальную структуру микроворсинок [270]. Было показано, что даже если все белки – виллин, фимбрин и эспин – удалены из кишечного эпителия, в результате получаются лишь незначительные изменения в структуре микроворсинок. Следовательно, возможна компенсация другими, к настоящему времени неизвестными, молекулами [187]. Для правильного формирования и стабилизации

«щеточной каемки» необходимы также белки ERM-эзрин [101] и Crb3 [62]. При их отсутствии архитектура ворсинок нарушается, а микроворсинки укорачиваются, хотя основные механизмы этого остаются неясными [225].

Микроворсинки закреплены в субапикальной терминальной сети [203] с помощью миозина V, который присутствует в терминальной сети и на дистальных концах микроворсинок [127].

Терминальное сплетение состоит из актиновых филаментов, связанных с цитоскелетом клетки, а также промежуточных филаментов, которые вместе с миозином и диедрином [179] стабилизируют апикальную плазмолемму клеток [105]. Миозин 1а сконцентрирован в средней части микроворсинки [168]. В терминальное сплетение вплетаются также фибрillлярный компонент плотных соединений.

Плазматическая мембрана энteroцита полярна и делится на апикальный и базолатеральный домены с различным молекулярным составом и функцией. Апикальная часть плазмолеммы представляет собой узкоспециализированную мембрану, предназначенную для функционирования в качестве пищеварительной и поглощающей поверхности с высокой пропускной способностью [66]. Она характеризуется необычно высоким содержанием гликолипидов (приблизительно 30% от общего липида мембраны), что позволяет формировать жидкие упорядоченные микродомены, более известные как липидные рафты. Гликолипидные рафты стабилизируются галектином-4, двухвалентным лектином, который сшивает остатки галактозила (и других углеводов), присутствующих на липидных мембранных и некоторых белках щеточной каемки, включая некоторые из основных гидролаз. Эти надмолекулярные комплексы дополнительно стабилизируются с помощью интелектина, который также функционирует как кишечный рецептор лактоферрина. Наконец, антигликозильные антитела, синтезируемые плазматическими клетками локально в кишечнике, откладывают на гликолипидных рафтах «щеточной каемки», защищая эпителий от люменальных патогенов, которые

используют липидные рафты в качестве порталов для проникновения в организм [65].

Изучение белкового состава изолированных «щеточных каемок» энteroцитов выявило, в общей сложности, 646 белков разных функциональных групп: ферменты «щеточной каемки» (дисахариазы, пептидазы и липазы, связанные с мембраной); пограничные каналы и транспортеры, в том числе участвующие в поглощении липидов (белок-переносчик микросомального триглицерида – МТТР), член семейства дисульфид-изомераз белка A, аполипротеин A, аполипопротеин B, транспортер холестерина, Niemann-Pick C1-подобный белок 1 и др.); белки цитоскелета (изоформы актина, миозина др); моторные белки (аннексин, галектин); белки адгезии (клаудины, клавины; кадгерины) [210].

Базолатеральная часть плазматической мембранны богата фосфатидилинозитолом-3,4,5-трифосфатом и имеет решающее значение при взаимодействии соседних клеток и энteroцита с базальной мембраной.

Межклеточные соединения. Герметичность и стабильность кишечного эпителия определяются формированием различных межклеточных соединений, таких как плотные соединения, адгезивные соединения, десмосомы [126], а также щелевые соединения [268].

Плотные соединения делят клетку на апикальный и базолатеральный домены (функция барьера) и регулируют пассивную диффузию растворенных веществ и макромолекул (функция ворот) [157, 218]. Проницаемость плотных контактов уменьшается по мере созревания и миграции энteroцитов [7].

Плотное соединение, *zonula occludens*, представляет собой сложную сеть белковых фибрилл внутри плазматической мембранны, которые окружают клетку по периметру в непосредственной близости от просвета кишечника [283]. Плотные соединения играют уникальную роль в герметизации межклеточного пространства и создания эпителиального барьера [154].

Фибриллы плотных соединений состоят из адгезивных трансмембранных белков, которые ассоциируются с ансамблями белков цитоскелета на цитозольной поверхности мембраны. Межклеточный барьер создается гомотипическими взаимодействиями между трансмембранными белками контактирующих эпителиальных клеток (окклюдин, клаудины, соединительная молекула адгезии-А, JAM-А). Межклеточная адгезия усиливается и регулируется цитозольными белками, например AF-6/afadin, которые группируют и стабилизируют трансмембранные компоненты плотных соединений на плазматической мембране [110, 252].

Плотные соединения поддерживают идентичность домена базолатеральной части плазматической мембраны, в том числе с помощью белка Scribble [55, 295]. Данный белок локализуется в плотных соединениях и контролирует их сборку и целостность эпителиального барьера. Другие белки базолатеральной полярности, такие как Dlg-1 и Lgl-1, также необходимы для сборки плотных соединений [284].

Плотные соединения представляют собой динамические структуры, барьерную функцию которых можно регулировать во время поглощения растворенного вещества. С компонентами плотного соединения функционально взаимодействуют белки актиновых микрофилментов, киназы, фосфатазы и внутриклеточный транспортный аппарат [188].

Адгезивные соединения располагаются на базолатеральной части плазмолеммы ниже плотных соединений. Они, в основном, состоят из Е-кадгерина, катенинов и актиновых филаментов. Они не создают барьер, но обеспечивают силу, необходимую для удержания клеток вместе и формирования непрерывного эпителия [189]. Кроме того, адгезивные соединения обеспечивают инициацию и стабилизацию межклеточной адгезии, регуляцию актинового цитоскелета, внутриклеточную передачу сигналов и регуляцию транскрипции. Ядро адгезивного соединения включает взаимодействия между трансмембранными гликопротеинами суперсемейства кадгеринов (Е-кадгерин) и членами семейства катенинов (p120-catenin, β -

catenin и α -catenin). Вместе эти белки контролируют формирование, поддержание и функцию адгезивных соединений [110].

В кишечном эпителии, на базолатеральной части плазмолеммы, дистальнее адгезивного соединения располагаются десмосомы [86]. Десмосома представляет собой прерывистую, подобную кнопке, структуру с характерным межклеточным пространством (~ 240 Å). Она содержит: центральный диск из плотного материала; дискретные цитоплазматические «бляшки», расположенные параллельно внутренней поверхности клеточной мембраны; пучки цитоплазматических фибрилл, сходящихся на «бляшках».

Цитоскелет энteroцита, очевидно, играет важную роль как в генерации, так и в поддержании эпителиальной полярности. Внутриклеточный транспорт в энteroците осуществляется вдоль микротрубочек и актиновых филаментов [127]. Микротрубочки располагаются минус-концами апикально, а плюс-концами – базально. Транспорт органелл вдоль микротрубочек обусловлен, в основном, двумя типами моторных белков: динеинов и кинезинов. Боковой мембранный домен строится на основе спектрального мембранныго цитоскелета, состоящего, в основном, из актина, спектрина и анкирина. Анкирин связывается с различными интегральными мембранными белками, что, вероятно, играет решающую роль в поддержании и / или генерации поляризованного распределения этих базолатеральных мембранных белков [94].

Продольная ориентация и привязка к апикальной мемbrane нецентромерных трубочек осуществляется белком CAMSAP3 (кальмодулин-регулируемый-спектрин-ассоциированный белок 3), который связывает белок минус-конца микротрубочки. Этот механизм необходим для поддержания внутриклеточной организации эпителия, например, для позиционирования органелл [34].

1. 3. Транспорт липидов из тонкой кишки в собственную пластинку кишечной ворсинки

Путь транспорта липидов через эпителиальные клетки кишечника был описан в начале 60-х годов [93, 132, 191, 198, 224, 251, 282 288]. Однако в последние годы ряд ученых вернулись к этому вопросу с позиции морфологических обоснований известных молекулярных механизмов и их детализации [159].

В целом путь низкомолекулярных липидов можно разделить на четыре этапа транспорта: 1) через плазмолемму микроворсинок энteroцита в цитоплазму клетки; 2) от апикальной до базолатеральной части плазматической мембраны энteroцита; 3) через плазмолемму энteroцита в межклеточное и интерстициальное пространство; 4) из интерстиция в просвет лимфатического капилляра.

На плазматической мембране микроворсинок энteroцита, липиды абсорбируются в виде моноглицеридов и ЖК и в энteroците вновь ресинтезируются с образованием транспортной формы липопротеина – хиломикрона и липопротеинов очень низкой плотности [115].

Было показано, что коротко- и средне-цепочечные ЖК всасываются из просвета кишки преимущественно в кровь, тогда как длинноцепочечные резорбируются, главным образом, лимфатической системой [30].

Было высказано предположение, что ЖК попадают сначала в цитоплазму энteroцитов, а уже затем захватываются эндоплазматической сетью. При этом авторы утверждают, что липиды отсутствуют в цитоплазме микроворсинок щеточной каемки и в зоне, непосредственно прилегающей к основанию щеточной каемки [159].

Сборка ПрeХМ представляет собой сложный процесс упаковки низкомолекулярных липидов в термодинамически стабильные частицы, содержащие нейтральные липиды (сложные эфиры холестерина и триглицериды) в ядре и полярные липиды (фосфолипиды и свободный

холестерин) вместе с аполипопротеинами (в основном АроВ) на их поверхности [199, 273].

Уже через 20 мин. после введения в просвет кишки пищи, содержащей мало липидов, ПрeХМ появляются в просвете эндоплазматической сети [52, 285]. По другим данным, иммуногистохимические исследования выявили усиление «метки» на АроВ в профилях ГЭР уже через 5 минут после введения липидов в просвет кишки [230, 288].

Продолжает обсуждаться мнение, что ЖК сначала попадают в цитоплазму энteroцитов, а уже затем захватываются эндоплазматической сетью [159].

Еще в 1959 году S. L. Palay and L. J. Karlin (1959) показали, что приблизительно через 20 минут после кормления кукурузным маслом на щеточной каемке между микроворсинками появляются маленькие жировые капли. В то же время жировые частицы видны внутри пиноцитотических пузырьков в непосредственно прилежащей терминальной сети. В более поздних образцах капли жира обычно больше и лежат глубже в апикальной цитоплазме. Все внутриклеточные жировые капли имели в тонкую мемрану, внешняя поверхность которой была иногда покрыта тонкодисперсным компонентом цитоплазмы [198].

В более поздних исследованиях жировые капли в надъядерной цитоплазме энteroцитов были показаны через 25-30 мин после кормления животных. Авторы утверждают, что при большом количестве поглощенных липидов может происходить их отщепление от цитозольной поверхности мембранны ЭР и накопление в цитоплазме в виде цитозольных липидных капель. При этом ХМ энteroцита описываются овальной или удлиненной формы, тогда как липидные капли, формируемые из ненасыщенных жирных кислот, имеют сферическую форму [52].

Исследования последних лет также показали, что *in vitro* и в клетках Caco-2 после липидной нагрузки происходит накопление цитозольных липидных капель под апикальной мемраной микроворсинок. Авторы

предположили, что липидные капли образуются после липидной нагрузки очень быстро и в непосредственной близости от апикальной мембранны микроворсинки, которая может представлять собой структуру, обеспечивающую цитозольный транспорт липидов в ЭР [80].

Таким образом, на сегодняшний день нет определенной ясности в вопросах поглощения липидов.

Белково-фосфолипидная структура ХМ имеет определенное сходство со структурой клеточных мембран, что, по-видимому, позволяет им сравнительно легко перемещаться вдоль мембран ЭР и накапливаться в цистернах КГ. Цистерны КГ были также помечены на АроB, особенно их расширенные концы [230, 288]. ХМ выявляются также внутри расширенных цистерн КГ, вакуолей и везикул как умеренно электронно-плотное вещество [3].

К. А. Зуфаров и А. Ю. Юлдашев (1980), показали, что у половозрелых животных через 3 часа после липидной нагрузки каемчатые энteroциты ворсинок тощей кишки не содержат липиды. При этом вся масса транспортируемых липидов оказывается в межклеточном и интерстициальном пространствах [4].

По мере экзоцитоза масса абсорбированного вещества в расширениях межклеточного пространства увеличивается [3]. У голодных животных щель между базолатеральными частями плазматических мембран составляет 15-30 нм, а во время транспорта липидов она увеличивается до 2-3 мкм [281].

Одновременно ХМ постепенно перемещаются по направлению к основанию энteroцита. Проходя через базальную мембрану, транспортируемые липиды попадают в основное вещество собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки, в пространство между клетками, кровеносными и лимфатическими капиллярами [3, 4].

Транспорт ХМ резко увеличивает лимфоток в кишечной ворсинке [281, 282]. После появления ХМ в интерстиции, последний растягивается. Это вызывает сокращение гладкомышечных клеток кишечной ворсинки [281].

1. 4. Молекулярные механизмы транспорта липидов из просвета кишки в собственную пластинку кишечной ворсинки

Молекулярные механизмы поглощения липидов в кишечной ворсинке активно изучаются. Было показано, что поглощение низкомолекулярных липидов может осуществляться как пассивной диффузией, так и активным транспортом. Облегченная диффузия преобладает при низких концентрациях жиров, тогда как простая диффузия преобладает при высоких концентрациях [46].

Щеточная каемка энteroцита имеет мембранные липид связывающие белки, которые облегчают поглощение ЖК и образование липопротеинов: рецептор акцептора CD36 (SR-B2 или FAT), рецептор акцептора B1 (SR-B1), относящийся к семейству CD36 и транспортный белок FA4 (FATP4) [50].

Белковый комплекс CD36/FAT (жирно-кислотная транслоказа) связывает ряд лигандов, включая длинноцепочечные ЖК, нативные или модифицированные липопротеины [89].

Белок CD36 может действовать как липидный рецептор, который запускает внутриклеточный сигнал, приводящий к модуляции экспрессии липид связывающих белков, участвующих в образовании хиломикрона [95].

Белок CD36 функционирует в начальной фазе пищеварения в полости рта, обеспечивает транспорт олеиновой кислоты в тонкой кишке, а также координирует включения ЖК и холестерина в ТГ [16].

К семейству белков CD36 относятся так называемые рецепторы-мусорщики, (SR)-белки мембран клеточной поверхности, которые связывают химически модифицированные липопротеины [144]. Белок SR-BI связывает липопротеины высокой плотности более эффективно, чем CD36 [51].

Энteroцит имеет белки семейства FABP, связывающие ЖК и способствующие переносу ЖК в определенные метаболические сайты. Семейство FABP включает девять членов FABP1-9 с различной клеточной локализацией (цитозольные и связанные с мембраной) и клеточный

ретиноид-связывающий белок [246, 247]. В энteroцитах экспрессируются два белка FABP – FABP1 (или FABP печени) и FABP2 (или FABP кишечника).

FABP1 играет центральную роль в β -окислении, как посредством переноса ЖК, так и опосредованной пролифераторактивированным рецептором (PPAR) α -пероксисомы регуляции экспрессии генов [248, 275]. FABP1 связывает две молекулы ЖК и распознает широкий спектр лигандов, включая желчные соли, лизофосфолипиды, холестерин, ацил-КоА [92]. FABP2 может связывать одну ЖК [246].

Генетическая делеция FABP1 или FABP2 не влияет на всасывание пищевых липидов даже во время хронического вскармливания с высоким содержанием жира [128, 208, 255].

Белок FATP4, присутствующий в «щеточной каемке», также участвует в поглощении ЖК энteroцитами [102, 243]. Было показано, что кормление животных после голодания вызывает увеличение содержания FATP4, и быстрое поглощение липидов энteroцитами на кончике ворсинок [181]. В более поздние исследования FATP4 был найден в ЭР, и показано, что его экспрессия может стимулировать большее поглощение ЖК [44]. Тем не менее, у мышей с нулевым FATP4, получавших рацион с высоким содержанием жира, никаких серьезных изменений (потребление пищи, увеличение веса, кишечный холестерин, абсорбция триглицерина, потеря фекального жира) не наблюдалось. При этом увеличение содержания триацилглицеринов и ЖК в энteroцитах наблюдалось при использовании диет, богатых жирами [88]. Таким образом, имеющиеся данные не подтверждают первостепенную роль FATP4 в поглощении ТГ с пищей [50].

Предполагается, что мембранным белком, способствующим поглощению жирных кислот, является кавеолин. Вовлечение CD36 в кавеолы может усиливать поглощение жирных кислот через CD36.

Другим белком, способствующим поглощению жирных кислот, является ацил-КоА-синтетаза1. Этот мембранный фермент ацилирует жирные кислоты с Со-А на цитозольной стороне плазматической мембраны,

по существу, задерживая ЖК в цитозольном компартменте для различных метаболических путей [199].

Имеются сведения, что процесс транспорта липидов в ЭР может быть опосредован соединением ЖК с цитозольными белками FABP. Было показано, что FABP-белки доставляют ЖК к мембранам с помощью различных механизмов, а именно путем диффузии – для FABP1 и путем связывания с мембраной – для FABP2 [249, 276]. При этом FABP1 может также взаимодействовать с мембранами и, в частности, с мембранами ЭР, где он, как предполагается, помогает инициировать образование липидных транспортных пузырьков [150].

ЖК должны быть максимально связаны, т.к. их свободная цитозольная фракция может привести к нарушению структуры клеточных мембран и гибели клеток [250].

Образование прехиломикрона. В ЭР моноглицериды и ЖК повторно этерифицируются с образованием триглицеридов. Ресинтез триглицеридов может проходить двумя путями: моноацилглицериновому пути (MAG-путь) и глицерол-3-фосфатному (G3P-путь). Второй вносит примерно 20% в синтез кишечного триглицерида [45].

Триглицерид, синтезированный по моноацилглицериновому пути, быстро используется для образования ХМ. Однако триглицерид, образующийся через глицеролфосфатный путь, в основном сохраняется в цитозоле, а затем гидролизуется и переэтерифицируется с образованием триглицерид в ЭР и затем включается в ХМ [199].

В образовании ПрeХМ участвуют несколько аполипопротеинов: аполипопротеин B (апоВ), аполипопротеин AI (апоАI) и аполипопротеин AIV (апоАIV) [50].

АпоВ является основным липопротеином в ХМ. Существует два генных продукта апоВ (у мышей и людей) – апоВ48 и апоВ100.

АпоВ48 представляет собой N-концевой 48%-ный перевод гена апоВ (апоВ100) и является единственной формой апоВ, синтезированной в

кишечнике взрослого человека и крысы [19, 222]. У мышей с нулевым апоБеком-1, а также с генетической аблацией ароБ48, продуцируется только ароБ100, и секреция ТГ в кишечнике замедляется, следовательно, ароБ48 регулирует эффективность продукции ТГ кишечника [11, 53, 294].

В исследовании Kandrick J.S. et al. (2001) было показано, что на ранней стадии сборки ХМ ароБ100 значительно менее эффективен, чем ароБ48 [134]. В эксперименте с нокаутированными мышами, способными продуцировать только ароБ100 было показано, что ароБ48 является более предпочтительным белком для эффективного образования ХМ и поглощения липидов, и при его отсутствии кишечник продуцирует меньшее количество липопротеинов, богатых триглицеридом (включая ХМ) [294].

АроАІ синтезируется в ЭР, но становится частью ХМ в КГ [56, 291] и транспортируется из ЭР в КГ (как предполагается) в СОPII-производных везикулах отдельно от транспортируемого липида [214]. С-концевая часть ароАІ (особенно аминокислоты 344–354) важна для выхода ХМ в лимфу [195].

АроАІV является липидсвязывающим белком, который экспрессируется преимущественно в тонкой кишке млекопитающих. В энteroцитах ароАІV включается в ПрeХМ на ранней стадии биогенеза в ЭР и секретируется на поверхности ХМ к базолатеральной мембране. После этого большая часть ароАІV диссоциирует с поверхности ХМ и у людей циркулирует преимущественно в виде белка, не содержащего липидов [32, 56]. Сверхэкспрессия ароАІV значительно увеличивает выход триглицерида в лимфу за счет увеличения размера ХМ [195]. Эта роль ароАІV может быть обусловлена его способностью стабилизировать расширяющуюся поверхность раздела липид / вода во время синтеза липопротеина, что приводит к образованию более крупных триглицерид-богатых ХМ [22].

Сборка ПрeХМ регулируется белком-шапероном микросомальной триглицеридтрансферазой (МТТР) [32, 170]. МТТР наиболее широко экспрессируется в энteroцитах тонкой кишки, гепатоцитах [170], в

кардиомиоцитах [35], плаценте [121], сетчатке [219] и эпителиальных клетках проксимальных почечных канальцев [82], а также в CD1-ограниченных Т-клетках, где нет ароВ и, по-видимому, отсутствует экспорт липидов [171].

МТТР млекопитающих в большей степени является переносчиком триглицеридов, что облегчает оптимальное сворачивание синтезируемого ароВ, но также переносит другие классы липидов [212]. *In vitro*, МТТР, по-видимому, способствует переносу липидов по градиенту концентрации и может переносить липиды из богатых липидами мембран в мембранны с низким содержанием липидов [14, 278, 293]. Однако когда мембранны имеют одинаковую концентрацию какого-либо конкретного липида, тогда МТТР может просто действовать как обменный белок [238].

В отсутствие МТТР ароВ, связанный с мембраной, деградирует, что указывает на то, что МТТР способствует его сборке в липопротеины [122, 213].

МТТР необходим и, в присутствии ароВ, достаточен для образования и секреции липопротеинов и придает способность секреции липидов не липопротеин-секретирующем клеточным линиям [213]. Напротив, фармакологическое ингибирирование МТТР [145] блокирует секрецию как ароВ, так и липопротеинов из гепатоцитов [20, 139] и энteroцитов [53].

Вызывающий гибель клеток DFF45-подобный эффектор В (CIDEB) может способствовать отложению триацилглицерина во время сборки липопротеинов [238]. CIDEB является мембрально-связанным белком, который локализуется в липидных каплях, гладком ЭР и КГ. Дефицит CIDEB снижает секрецию триацилглицерина у мышей, не влияя на секрецию ароВ, что приводит к секреции липопротеинов с низким содержанием триацилглицерина и позволяет предположить, что CIDEB может способствовать отложению триглицеридов во время сборки липопротеинов [48, 49].

Максимальная экспрессия CIDEВ происходит в тощей кишке [47] и она понижается от проксимального до дистального конца, аналогично экспрессии ароВ и МТТР. Диета с высоким содержанием жиров повышает уровень мРНК и белка CIDEВ в кишечнике. Дефицит CIDEВ уменьшает количество триглицерида, выделяемого тонкой кишкой, и продуцирует хиломикроны меньшего размера, но не влияет на секрецию ароВ48. Кроме того, его недостаток приводит к накоплению липидов в кишечнике по сравнению с контролем дикого типа [238].

В настоящее время предполагается, что сборка ХМ в ЭР проходит в два этапа. Первый этап включает перевод ароВ48 с экструзией аминоконцевой части белка в просвет ЭР. Если ароВ48 не липидируется, он деградирует с участием протеосом. АроВ48 липидируется при помощи МТТР, что спасает его от деградации и приводит к образованию ПрeХМ.

МТТР может переносить липид из мембраны ЭР непосредственно к ароВ48 или может связываться с ароВ48, чтобы способствовать правильному свертыванию и связыванию с липидами.

На втором этапе МТТР опосредует дополнительное объемное липидирование первичной частицы. Во время этого процесса ароАIV добавляется к поверхности частицы и, предположительно, играет роль в процессе сборки [32].

Сборка прехиломикронов начинается с транслокации ароВ, синтезирующихся на мембранах шероховатого эндоплазматического ретикулюма, в просвет ЭР. Причем указанное перемещение происходит до завершения трансляции ароВ48 [60, 90]. При этом NH₂-конец ароВ содержит область для физического взаимодействия с МТТР и практически все участки N-гликозилирования [120, 123, 213].

Таким образом, первый этап биогенеза ПрeХМ происходит с трансмембранными формами ароВ, подвергающимися частичному липидированию и организации в первичную частицу внутри шероховатой ЭР [36].

Сайты начального образования ПрeХМ могут получать триглицериды из их сайтов ресинтеза посредством латеральной диффузии внутри мембранны ЭР. Вполне вероятно, что определенные белки могут способствовать латеральной диффузии липидов, например белок CIDEB, который может способствовать движению триглицеридов в мембранном бислое. В отличие от него МТТР может непрерывно переносить триглицериды, чтобы ускорить процесс липидирования ароВ [238].

В дополнение к функции шаперона МТТР связывает фосфолипиды, обеспечивая дополнительную стабилизирующую поверхность для ароВ48 [68, 201, 271] и усиливая его взаимодействие с фосфолипидами [213].

В какой-то момент ПрeХМ отделяются от мембранны ЭР и становятся просветной частицей. Факторы, управляющие этим процессом, не совсем понятны [24, 279]. Есть основания полагать, что размер полипептида ароВ определяет диаметр липопротеинов [83], поскольку в каждом хиломикроне имеется лишь одна молекула ароВ48 [15].

Молекулярные механизмы транспорта прехиломикрона из ЭР в комплекс Гольджи.

После образования в ЭР незрелые хиломикроны должны переместиться в КГ [158, 273].

При этом, по крайней мере, существует два фактора, участвующие в данном процессе: белок МТТР, который при диссоциации высвобождает ПрeХМ из ЭР и ароВ, который распознается комплексом СОРИ для селективного транспорта. На сегодняшний день в литературе чаще всего обсуждается, так называемая «везикулярная гипотеза», согласно которой СОРИ-производные транспортные пузырьки доставляют частицы липопротеина в цис-Гольджи, где они подвергаются дальнейшему созреванию посредством гликозилирования и дальнейшего липидирования [56].

СОРИ образуется в результате полимеризации белковых частиц: Sec23p, Sec24p, Sec13p, Sec31p, Sar1p, которые, собираясь на мембране ЭР,

сворачивают ее в сферу [27, 57, 58, 96]. При этом коатомер не только способствует образованию транспортера для переноса липидов из цистерны ЭР к комплексу Гольджи, но также может концентрировать транспортируемые молекулы, а вместе с ними рецепторы и другие белки [26, 226].

Транспортер формируются на определенных участках, сайтах выхода из ЭР (ERES, «ER exit» сайты) [56, 146, 147, 158, 190]. Размер COPII-производных везикул ограничен и составляет от 55 до 70 нм в диаметре. Следовательно, размер данного транспортера недостаточен для перемещения ПрeХМ, средний диаметр которых около 250 нм [56].

Возникла гипотеза, в которой выход ПрeХМ из ЭР осуществляется специализированными прехиломикрон-транспортирующими везикулами (PCTV), которые отличаются от тех, что участвуют в транспорте белка для секреции [56]. Ряд исследований выявили основные характеристики PCTV: содержат apoB48 и apoAIV; не имеют ЭР-резидентных белков; могут сливаться с КГ и доставлять груз в его цистерны [291]. Они также отличаются от COPII-производных везикул, переносящих белок, по размеру, плотности, составу и, что наиболее поразительно, биогенезу из мембран ЭР. Например, если в отсутствие Sar1 образование COPII-производных везикул полностью прекращается, то PCTV продолжают формироваться и увеличиваться в несколько раз в диаметре [56]. При этом добавление рекомбинантного Sar1 в истощенную Sar1 систему не только восстанавливает образование COPII-производных везикул, но и возвращает образование прехиломикрон-транспортирующих везикул к уровню, обнаруженному в нативном цитозоле [160].

В прехиломикрон-транспортирующих везикулах были обнаружены все пять компонентов COPII [56], и было показано, что белки покрытия хотя и не нужны для образования PCTV, необходимы для слияния PCTV с комплексом Гольджи [160].

Остается неясным, как ПрeХМ покидают мембрану ЭР. На сегодняшний момент известен единственный полностью активный цитозольный белок, который может самостоятельно генерировать прехиломикрон-транспортирующие везикулы – L-FABP (FABP1). То, что везикулы, полученные с использованием только рекомбинантного L-FABP, представляли собой истинные РСТВ, было подтверждено их размером (в среднем ~ 250 нм), плавучей плотностью и наличием ароВ48, ароАIV и пузырькового мембранных белка 7 (VAMP7), маркерных белков для РСТВ [42, 150].

Интересно, что РСТВ, генерируемые L-FABP, не могли обеспечить слияние и, следовательно, не могли доставлять ПрeХМ в КГ. Авторы предположили, что эти результаты могут быть связаны с тем, что эти РСТВ не содержат белков СОРII, которые необходимы для слияния с мембранами КГ. Хотя L-FABP, несомненно, является ключевым белком в биогенезе РСТВ, другие белки, вероятно, также будут играть важную роль [160]. Например, рецептор CD36 имеет существенное значение для формирования РСТВ [12, 41, 43, 208].

Для образования РСТВ-почки не требуется гуанинтрифосфат (GTP), а необходим АТФ [56], тогда как биогенез везикулярного транспорта белка является GTP-зависимым [58]. При этом разнообразные ингибиторы протеинкиназы А и протеинкиназы В не оказывали какого-либо влияния на формирование РСТВ-почки, а обработка кальфостином С (общим ингибитором всех изоформ протеинкиназы С) продемонстрировала значительное снижение образования РСТВ, что предполагает их участие [235].

После того, как РСТВ высвобождаются в цитозоль, они должны соединиться с цис-полюсом КГ. Адресное слияние обеспечивают SNARE-белки (soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptors) [112, 130, 240, 242, 256]. Они представляют собой мембранные белки, которые локализуются в транспортере (v-SNARE) и их родственных

целевых мембранах (t-SNARE). Каждый белок SNARE содержит характерную \sim 70-аминокислотную последовательность, называемую мотивом SNARE [138]. Исходя из присутствия остатков аргинина (R) или глутамина (Q) в их центрах, SNARE классифицируются либо как R-SNARE (локализованный на везикулах/транспортерах), либо как Q-SNARE (локализованный на целевых мембранах) [54]. R-SNARE стыкуется со своей родственной мембраной-мишенью посредством сложного механизма, в котором R-SNARE связывается с Q-SNARE, формируя структуру в виде спирали. За счет изменения конформации SNARE-белки приближают мембранны органелл друг к другу на очень близкое расстояние, при котором они способны слиться даже при очень низких концентрациях кальция [138, 240, 241, 256]. Исследования показали, что для слияния PCTV с КГ необходим VAMP7 в качестве v-SNARE [13, 160, 256, 272].

Основные молекулярные взаимодействия в механизмах транспорта хиломикрона через комплекс Гольджи.

О механизмах транспорта ХМ через комплекс Гольджи известно немного. При этом немногочисленные экспериментальные данные авторы стараются объяснить на основании гипотез транспорта белков через КГ. На сегодняшний день обсуждаются две основные модели транспорта ХМ: «везикулярная» модель, сформулированная G. Palade (1975) [196], и модель «созревания и прогрессии» цистерн [135]. Однако чаще всего принимается, что ХМ транспортируются через КГ везикулярными переносчиками. Рассмотрим основные молекулярные взаимодействия, обеспечивающие транспорт грузовых молекул через органеллу.

Цистерны КГ представляют собой двумембранные липидные мешочки с многочисленными интегральными и периферическими белками.

К собственным белкам КГ можно отнести гликозилтрансферазы и гликозидазы, которые в структуре стопки локализуются последовательно в соответствии с этапами гликозилирования грузовых белков. Однако нельзя четко определить зону локализации того или иного фермента в структуре КГ,

т.к. в значительной степени места их расположения перекрывают друг друга [162].

В основе транспорта грузовых молекул через КГ лежат SNARE-механизмы слияния-разделения мембран. При многоэтапном внутриклеточном транспорте SNARE обеспечивают адресное слияние мембран переносчиков в структуре КГ. Поэтому при доставке грузовых молекул до определенного клеточного «адреса» на донорской и акцепторной мембранах должна встретиться определенная пара SNARE-белков [117, 169].

Цистерны КГ удерживаются в стопочной структуре органеллы благодаря сложно организованному матриксу, белки которого взаимодействуют с цитоскелетом клетки. Матрикс не только поддерживает структуру органеллы. Его белки также участвуют в сортировке и обеспечивают механизмы транспорта секреторных молекул [31, 182]. К белкам матрикса КГ относятся: белок GM130, белки GRASP-65 и GRASP-55 (Golgi ReAssembly Stacking Proteins), белок p115, семейство Гольджинов, джантин и некоторые другие. Расположение белков матрикса относительно структур стопки органеллы четко определено. Например, между ЭР и цис-комpartmentом КГ, а также на концевых участках медиальных цистерн регистрируется GM130 [166, 182, 232]. Также на цис-полюсе органеллы находят белковый комплекс P115-GM130-GRASP65. В медиальном compartmentе КГ локализуется трансмембранный белок Гольджин-45 [227]. На транс-полюсе располагаются белки Гольджин-245 и Гольджин-97. Жесткая локализация ряда белков в структуре КГ помогает идентифицировать мембранны органеллы.

Большая транспортная нагрузка формирует «лентовидную» структуру КГ (латеральное соединение нескольких стопок в единый комплекс), в образовании которой принимают участие белки матрикса с некоторыми другими белками органеллы [205].

В структурах секреторного пути описаны три типа белков-покрытий, которые, полимеризуясь на мембране, формируют жесткие сферические конструкции: клатриновое, COPI и COPII.

Коатомер II (COPII) участвует в секреторном транспорте на участке ЭР – комплекс Гольджи [26, 226]. Коатомер I (COPI) встречаются в пределах всей стопки КГ, но чаще со стороны цис-полюса. Он состоит из 7 субъединиц: γ -COP, ζ -COP, β -COP, δ -COP и $\alpha\beta\epsilon$ -COP, размером около 100 килодалтон каждая, плотно упакованных в единую белковую структуру. Субъединицы синтезируются независимо друг от друга в цитозоле, а затем в течение 1-2 часов собираются в макромолекулярную структуру, функционирующую как единое целое [152].

Клатриновое покрытие образуется полимеризацией белка клятрина на ПМ и мембранах транс-полюса КГ и эндосомальных трубочках [245], в результате чего на поверхности мембран образуются корзиноподобные структуры из пяти- или шестиугольников.

Молекулярные механизмы образования каймы были почти полностью реконструированы, однако многие аспекты взаимодействия молекул и координации их деятельности остаются еще спорными. Тем не менее, все белковые покрытия формируются по общей схеме.

Процесс образования каймы начинается с присоединения к мембране специального адапторного белка. Это белок ARF1, для коатомера I, или Sar1p, для коатомера II, или AP-1 (AP-2, AP-3, AP-4) для клятринового покрытия [183]. Эти белки способны образовывать комплексы с молекулами макроэргами – гуаниндинифосфатом (GDP) и гуанинтрифосфатом (GTP). Комплекс адапторов с гуанинтрифосфатом способен жестко присоединяться к мембране. Напротив, адаптор в гуаниндинифосфатно связанной форме может существовать как в цитозоле, так и связанным с мембраной, однако эта связь не устойчива. После жесткого присоединения к мембране адапторы привлекают собственно белковые комплексы, коатомер I, коатомер II или клятрин, которые начинают полимеризоваться, формировать кайму и

сворачивать мембрану в сферу [67]. Адапторные белки являются белками с GTP-азной активностью, поэтому после их связывания с гуанинтрифосфатом начинается очень медленный гидролиз, который может катализироваться другими молекулами, по мере их присоединения, например, субъединицами коатомеров, динамином и другими. После окончания, гидролиза комплекс адаптора с гуаниндинифосфатом отделяется от мембраны.

На сегодняшний день не вызывает сомнения ключевая роль белков покрытий в транспорте, которая, в основном, сводится к формированию транспортных переносчиков на разных этапах секреторного транспорта. Однако разные научные школы по-разному объясняют их роль в тех или иных моделях транспорта молекул через КГ.

Ключевую роль в поддержании пространственной организации как экзо- так и эндоцитозных путей играют элементы цитоскелета – микротрубочки и микрофиламенты [244]. Положение КГ в клетке поддерживается так же моторными белками: динеином [75], который отвечает за перемещение мембран к минус-концу микротрубочек, и кинезином,двигающим мембранны к плюс-концу [137]. Существует мнение, что система микротрубочек хоть и является важной, но не единствено необходимой для переноса белков и сохранения структуры КГ. Полагают, что микротрубочки облегчают перенос мембран на большие расстояния, в то время как возврат резидентных белков ЭР и КГ – процесс независимый от микротрубочек.

Обсуждается участие актина и актинсвязывающихся белков (анкирина, миозина, спектрина) в секреторном транспорте. Показана роль актиновых филаментов в отщеплении везикул от цистерн. Кроме того, они могут играть роль опорной структуры, а также способствовать пространственному контролю мембранныго транспорта [174, 205]. Так блокирование сборки актина ингибирует транспорт как на участке ЭР – КГ, в пределах стопки [244], так и на поздних этапах секреции белков [287].

Заключение

Таким образом, ультраструктурная организация энteroцита кишечной ворсинки достаточно подробно изучена. Однако в мировой литературе практически отсутствует подробное описание строения комплекса Гольджи, в том числе, во время транспорта липидов. Не описано взаимодействие гладкой и шероховатой эндоплазматической сети. Остаются неясные вопросы организации межклеточных контактов: не описана детальная локализация десмосом и пальцевидных контактов, в том числе во время всасывания липидов; не ясен характер контактов энteroцитов с дендритными клетками и лимфоцитами, а также ряд других.

Последовательность этапов транспорта ХМ через энteroцит крысы описана рядом авторов [3, 4, 224]. Однако остается неясным ряд вопросов. Где впервые появляются ХМ, и почему ряд авторов утверждает о нахождении липидов в апикальной зоне энteroцита в процессе всасывания жиров? Как ПрeХМ покидают ЭР и какие механизмы позволяют им пройти через стопку органеллы? Как ХМ доставляются к базолатеральной части плазмолеммы и концентрируются около базальной мембранны и проходят ее?

Современные молекулярно-биологические исследования сосредоточены на процессах ресинтеза ХМ и их выхода из ЭР. Прочие вопросы молекулярных механизмов трансцитоза липидов в энteroците кишечной ворсинки еще предстоит узнать. На сегодняшний момент спорными остаются данные о поглощении липидов. Практически ничего неизвестно о механизмах транспорта ХМ через КГ. Эти и прочие смежные вопросы требуют детального изучения и уточнения, что важно для понимания механизмов всасывания липидов в кишечной ворсинке.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ультраструктурные механизмы всасывания липидов изучались на крысах линии Вистар комплексом электронно-микроскопических методов. Работа на крысах проводилась с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», 1977 г., Хельсинской декларации 1975 г. в ее редакции от 2000 г. Животные перед всеми экспериментами содержались на стандартной лабораторной диете в клетках с дном из сетки. Все манипуляции с животными проводились под наркозом, который рассчитывался в дозе 0,1 мл на 100 г массы тела животного из комбинации препаратов золетила и рометара в соотношении 3/1.

Для изучения секреторного пути хиломикронов в энteroците кишечной ворсинки была использована следующая экспериментальная модель. Животному-донору шприцом с полиэтиленовой трубкой-наконечником вводилось внутрижелудочно 1,5 мл кукурузного масла. Через 60 мин. у животного вскрывалась брюшная полость и шприцом из начального отдела тонкой кишки забирался химус. У крысы-реципиента также вскрывали брюшную полость и в начальный отдел тонкой кишки вводили химус крысы-донора. Для исследования иссекался начальный отдел тонкой кишки через 5, 10, 25 и 45 минут после введения химуса (таблица 1).

Животное выводились из эксперимента до окончания действия наркоза после вскрытия грудной клетки быстрым введением насыщенного раствора калия хлорида внутрисердечно в дозе 1-2 ммоль/кг.

Контрольной группой стали 5 крыс после 24-часового голодания.

Электронная микроскопия эпоксидных срезов

Образцы ткани фиксировались 2,5% глутаровым альдегидом, разведенным 0,05 М какодилатным буфером (рН 7,2). Затем образцы отмывались какодилатным буфером (рН 7,2) и постфиксировались 1%-ным раствором OsO₄ в течение 1 часа. Далее образцы снова отмывались тем же буфером и обрабатывались 0,3%-ным раствором тиокарбогидразида и вновь

фиксировались OsO₄. После этого образцы обезвоживались спиртами восходящей концентрации. Для этого они помещались последовательно в 50%, 70%, 90% и 100%-этанол, по 10 минут в каждый раствор с трехкратной сменой. Далее образцы помещались в смесь 100%-этанола и эпоксидной смолы («Epon 812») в пропорции 1:1 на 2 часа при комнатной температуре. После удаления смеси добавлялась эпоксидная смола, которая полимеризовалась в течение 24 часов в термостате при +60°C [8].

Ультратонкие срезы изготавливались на ультратоме на ультратоме Leica Ultracut-UCT (Leica, Germany).

Таблица 1 – Распределение материала исследования в соответствии с использованными методами

Материал исследования	Кол-во жив. / обр.	Методы исследования				Всего
		ТЭМ	СЭМ	ЭТ/3D	М/м	
1. Контроль – животные после 24-часового голодания	5/10	30	2	3/3	30	65/3
2. Экспериментальная группа (животное донор+реципиент):	(20+40)	150	-	3/3	150	303/3
- через 5 мин. после введения химуса;	5/10	30	-	-	30	60
- через 10 мин. после введения химуса;	5/10	30	-	-	30	60
- через 25 мин. после введения химуса;	5/10	30	-	3/3	30	63/3
- через 45 мин. после введения химуса.	5/10	60	-	-	60	120
ВСЕГО:	25/50	180	2	6/6	180	365/6

Примечание: ТЭМ – трансмиссионная электронная микроскопия; СЭМ – сканирующая электронная микроскопия; ЭТ/3D – электронная томография / трехмерная реконструкция электронно-томографического изображения; М/м – морфометрия.

Способы улучшения контраста

Для усиления контраста белковых покрытий (COP I, COP II и клатрина) использовали 1%-раствор таниновой кислоты приготовленный на 0,05 М какодилатном буфере (рН 7,0). Для этого, после обработки 1%-раствором OsO₄, клетки отмывались буфером и обрабатывались таниновой кислотой 1 час. После промывания образцов буфером и трижды раствором PBS образцы обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заключали в эпоксидную смолу по схеме, приведенной выше. Дополнительный контраст получали путем обработки ультратонких срезов раствором уранилацетата и цитрата свинца [8].

Для улучшения контраста липидов мембран мы применяли протоколы ОТОТО – методика Seligman A.M. (1966), в модификации [234]. Для этого образцы после фиксации 1%-раствором глутарового альдегида на 0,15 М растворе НЕРЕС (рН 7,2) промывали 6 раз 0,05 М какодилатным буфером (рН 7,0). Далее образцы обрабатывали смесью 2% OsO₄ на дистиллированной воде и 3% ферроцианидом калия (1:1) на 0,2 М какодилатном буфере, (рН 7,4) в течение 1 часа на льду. Затем образцы промывали 6 раз 0,05 М какодилатным буфером (рН 7,0) и помещали на 5 мин. при комнатной температуре в 0,5 % тиокарбогидразид. Затем образцы вновь промывали какодилатным буфером 3 раза и обрабатывали 20 мин. OsO₄ при комнатной температуре. Затем повторяли еще один цикл: тиокарбогидразид – какодилатный буфер (3 раза) – OsO₄. Далее после шестикратной промывки PBS проводили дегидратацию в спиртах восходящей концентрации и заливку в смолу.

Сканирующая электронная микроскопия

Подготовка образцов для сканирующей электронной микроскопии нативных препаратов включала следующие этапы: 20-минутную промывку препаратов в среде 199, 30-минутную обработку в 1%-растворе таниновой кислоты на 0,1М какодилатном буфере (рН 7,4), постфиксацию в течение часа в 1%-растворе OsO₄, отмывку в 0,05M какодилатном буфере (рН 7,4) и

повторную 30-минутную обработку 1%-таниновой кислотой. Все операции проводились при комнатной температуре.

После отмывки в дистиллированной воде препараты обезвоживали в 50%, 70%, 90%-этаноле, в смеси этанола и ацетона (1:1) и ацетоне по 10 минут в каждом из растворов с трехкратной сменой. Далее образцы: высушивали в углекислоте путем перехода через критическую точку [8]; монтировали на предметный столик; напыляли сплавом золота и палладия в аппарате Eico-111-B и просматривали в сканирующем электронном микроскопе Hitachi-S-405 AS.

Электронная томография

Метод использовался для доказательства дискретности мембранных структур эндоплазматического ретикулюма и комплекса Гольджи (везикул, цистерн) или наличия мембранных связей между структурами.

Электронная томограмма была изготовлена на электронном микроскопе Tecnai 12 EM (FEI, The Netherlands), оборудованном гониометром и имеющим ускоряющее напряжение 120 kV. Для этого 150-200 нм серийные эпоновые срезы высушивались при комнатной температуре и окрашивались протеином-А, конъюгированным с 10 нм золотом, разведенным на дистиллированной воде (1:25). Плотность мечения составляла менее 1-2 гранул на 100 нм². Гранулы золота нужны компьютеру микроскопа в качестве маркера одного и того же участка среза при сопоставлении и ориентации изображений. После окраски и высушивания сетка помещалась в держатель гониометра электронного микроскопа.

Для начала срез предварительно облучался 3-5 минут дефокусированным пучком электронов без диафрагмы для получения равномерного среза одинаковой толщины. После «отжига» среза диафрагму устанавливали на обычное место и начинали отбирать вертикальные срезы КГ с использованием системы поиска в составе программы «AnalySis». Изображение отбиралось при увеличении 26000 или 43000. После выбора

структуры начинали забор изображений, начиная с угла $+180^\circ$ до -180° наклона гониометра через каждый градус (361 изображение).

После забора всю серию изображений посылали на компьютер с программой для построения томограмм IMOD. Компьютер, используя гранулы золота, выстраивал срезы по одной оси. Далее вычислялась оптическая плотность для каждой единицы объема изучаемой структуры, и строились серийные виртуальные срезы толщиной 2-3 нм. На их основе программа IMOD строила трехмерное изображение изучаемой структуры. Формальное разрешение метода составило 4-6 нм, а при анализе виртуальных серийных срезов вдоль всех трех осей (XYZ) уровень разрешения достигал до 2-3 нм. Для каждой группы животных оценивались, как минимум, три томограммы.

Получение серийных изображений с помощью детектора обратно рассеянных электронов в сканирующем электронном микроскопе, оборудованном внутренним ультратомом.

Серийные ультратонкие срезы были получены методом, описанным H. C. Kalson et al. (2011), на сканирующем электронном микроскопе «Quanta 250» (FEI), оборудованном ультратомом «GATAN» (ускоряющее напряжение в 1,5 кВ) [239].

Для этого образцы ткани ворсинки тонкой кишки фиксировались 2%-глутаровым альдегидом, отмывались 0,05 М какодилатным буфером (рН 7,2) и постфиксировались в 1%-редуцированном OsO_4 [8]. Затем образцы снова отмывались, обрабатывались в 0,3%-растворе тиокарбогидразида, отмывались и вновь постфиксировались редуцированным OsO_4 для усиления контраста мембран. Далее шла процедура обезвоживания спиртами восходящей концентрации и заключения в эпоксидную смолу [8].

Образец ткани, залитый в эпоксидную смолу, монтировался на держателе сканирующего электронного микроскопа и затачивался на ультратоме. Затем поверхность образца напылялась слоем золота, и держатель помещался в микроскоп. Образец сканировался пучком

электронов и под поверхностью образца (от обратного рассеяния тонким слоем электронов) детектор обратно рассеянных электронов формировал изображение. Изображение фиксировалось после каждого срезания слоя смолы толщиной в 70 нм. В результате получилась серия срезов, которые позволили получить послойное электронно-микроскопическое изображение кишечной ворсинки для изучения формы и локализации клеток и других структур кишечной ворсинки, их топографии и взаимосвязей.

Морфометрический анализ

Для объективной интерпретации данных, полученных с помощью электронной микроскопии, а также для оценки степени выраженности изменений, происходящих в кишечной ворсинке тонкой кишки и отдельных ее структурах в процессе всасывания липидов, производили количественную оценку ряда параметров.

Измеряли длину и толщину кишечной ворсинки тонкой кишки; диаметр и высоту микроворсинки энteroцита; толщину базальной мембранны кишечного эпителия и диаметр ее пор.

В составе клеток собственной пластинки кишечной ворсинки идентифицировали дендритные клетки по следующим признакам: клетка овальной, округлой или многоугольной формы, имеет отростки; цитоплазма клетки светлая, ядро смещено от центра; клетка обычно располагается под эпителиальным слоем, ее отростки проникают между энteroцитами, часто образуя с ними плотный контакт [63, 64, 217, 220]. Измеряли диаметр дендритных клеток, а также длину плотного контакта с энteroцитом.

Морфологическая идентификация структур КГ проводилась по следующим критериям: везикуло-тубулярные мембранны, расположенные рядом с цис-полюсом стопки Гольджи, содержащие в своем составе СОPI-и/или СОPII-производные почки, определялись как везикуло-тубулярные кластеры (промежуточный компартмент); тубулярно-сетчатые сплетения, прилежащие транс-стороне стопки, определяемой по наличию клатриновых почек (транс-сеть).

Тубулярными мы считали мембранные профили в структуре комплекса Гольджи, находящиеся латерально на уровне цистерн стопки и имеющие отношение длины к ширине $>1,5$. Круглыми мы считали мембранные профили правильной окружной формы. Если такие профили имели диаметр 50-65 нм, и электроннодense кайму, то они определялись как COPI-производные, т.е. образованные с помощью COPI-окаймления [194].

Определяли количество цистерн в стопке КГ, ширину цистерны в центральной части, ширину расширений латерального края стопки, диаметр везикулярных структур КГ, относительное количество мембран везикул, тубул и цистерн КГ.

Относительное количество структур разных морфологических форм ко всем мембранам КГ рассчитывалось путем подсчета точек пересечения после наложения морфометрической сетки (100 x 100 нм) на анализируемые структуры комплекса Гольджи.

Измеряли длину межклеточных контактов энteroцита: плотного, щелевого, промежуточного, пальцевидного и десмосомы. Кроме того, для пальцевидных контактов определяли длину контактирующей поверхности между 2-мя десмосомами, длину проекции контакта на БЛПМ, ширину контактной щели.

Подсчитывали количество липидных частиц во время трансцитоза в просвете ГЭР, цис- и транс-цистерн КГ, межконтактной щели.

В нашем исследовании каждая величина была получена после анализа как минимум 30 электронно-микроскопических изображений.

Статистический анализ

Статистический анализ проводился при помощи программы Statistica 6.0. Для каждого параметра вычисляли средние значения, их стандартные ошибки и доверительные интервалы, дисперсии, среднее квадратическое отклонение и размах варьирования признака. Оценку достоверности различий между показателями разных экспериментальных групп осуществляли с помощью t-критерия Стьюдента.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3. 1. Строение кишечной ворсинки начального отдела тонкой кишки крысы после 24-часового голодания

Кишечные ворсинки начального отдела тонкой кишки крысы представляют собой выступающие в просвет кишки, уплощенные структуры, форму которых можно охарактеризовать как листовидную (рисунок 1а). Между кишечными ворсинками локализуются углубления, получившие название крипты. Средняя длина ворсинки 675 ± 43 мкм, ширина – 110 ± 32 мкм. Рельеф поверхности ворсинок неровный и соответствует группам эпителиальных клеток (рисунок 1а).

Ворсинка покрыта однослойным призматическим эпителием, подавляющая часть клеток которого представлена каемчатым энteroцитом (всасывающими клетками со щеточной каемкой). Среди них также встречаются бокаловидные клетки, лимфоциты и др. (рисунок 1в).

Базальная часть плазмолеммы энteroцита располагается на слое хорошо выраженной базальной мембранны, которая имеет редкие поры диаметром от 500 нм до 2 мкм. Она представляет собой полоску фибриллярного материала средней электронной плотности шириной 30-50 нм (рисунок 1б).

В непосредственной близости от базальной мембранны обнаружены «светлые» клетки до 20 мкм диаметром с неровными контурами и множеством цитоплазматических отростков. Клетки имеют относительно гомогенный матрикс низкой электронной плотности. В цитоплазме регистрируются немногочисленные органеллы: свободные рибосомы, митохондрии, цистерны гладкого эндоплазматического ретикулюма. Филаментозные структуры в клетке практически не выявляются.

«Светлые» клетки образуют с энteroцитами плотные соединения. В зоне соединения наружные плотные пластинки плазмолеммы соседних клеток на участке шириной в среднем 0,4 мкм имеют места слияния, в

области которых выявляются тонкие филаменты. Отростки «светлых» клеток регистрируются в отверстиях пор базальной мембранны (рисунок 1б).

Под базальной мембраной располагается волокнистая структура собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки с различными клетками, в которую погружены лимфатические и кровеносные микрососуды (рисунок 1в). Кровеносные микрососуды располагаются непосредственно под базальной мембраной (рисунок 1в) и, в совокупности, формируют сеть, соответствующую форме ворсинки.

Среди клеточных элементов стромы кишечной ворсинки чаще всего отмечались макрофаги, базофилы, лимфоциты, а также дендритные клетки, миофибробласты, гладкие мышечные клетки.

Лимфатические капилляры, в количестве 1-3, расположены, как правило, в центральной части ворсинки и, у животных после 24-часового голодания, представлены узкими щелевидными образованиями.

Каемчатый энteroцит апикальной части ворсинки тонкой кишки представлен поляризованной клеткой призматической формы. Встречаются клетки с четырьмя и семью «гранями». Апикальная часть плазмолеммы образует микроворсинки, которые формируют щеточную каемку с гликокаликсом, электронная плотность которого повышается у основания микроворсинки (рисунок 2а). Диаметр микроворсинки составил в среднем $84 \pm 0,8$ нм, высота 1235 ± 23 нм.

На апикальной части плазмолеммы в основании щеточной каемки мы не обнаружили окаймленных ямок, а также везикул, окаймленных клатрином, или кавесом (рисунок 2а).

В цитоплазме энteroцита непосредственно под щеточной каемкой формируется зона шириной 200-300 нм средней электронной плотности и, не содержащая мембранных профилей, в том числе окружной формы (рисунок 2б).

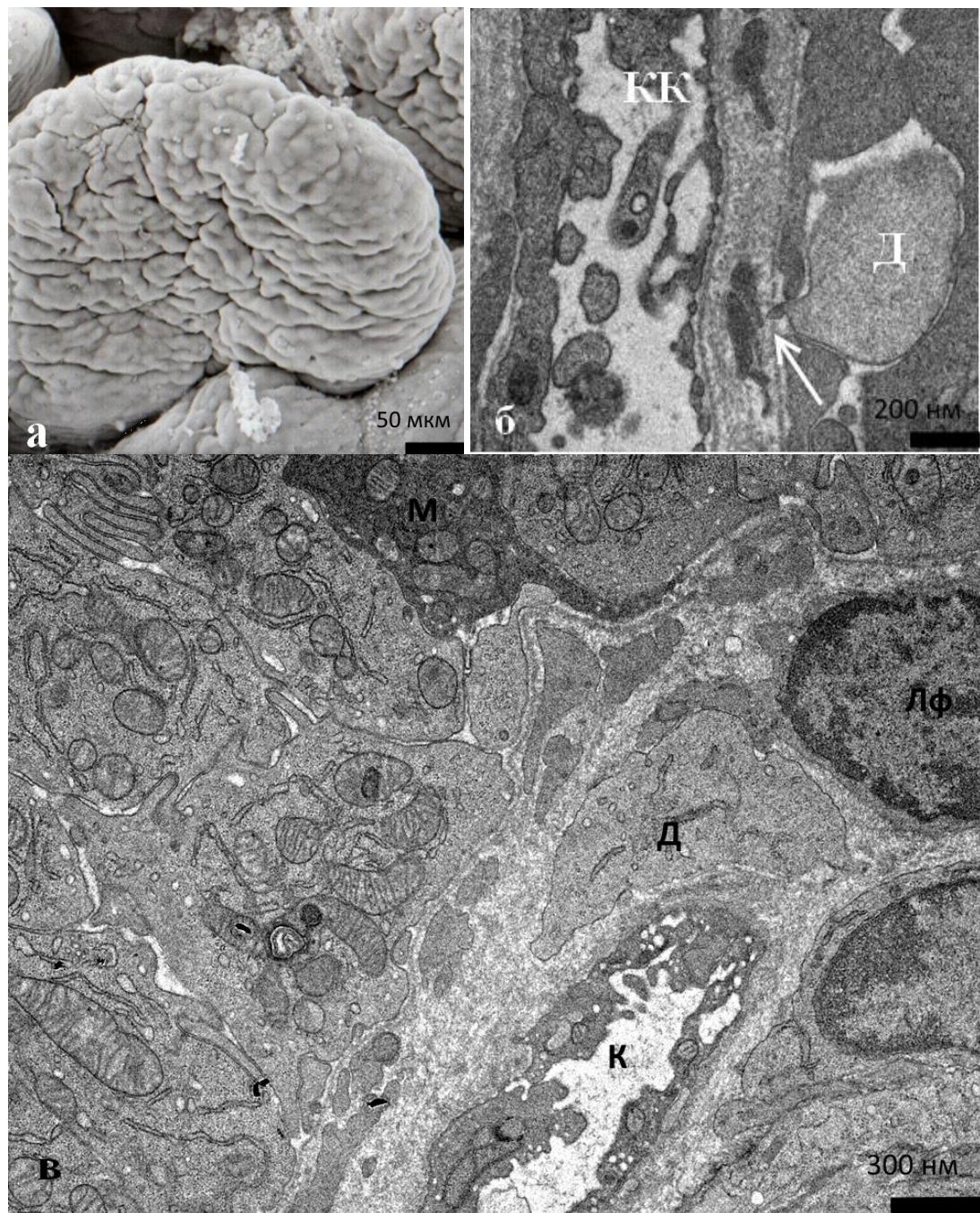


Рисунок 1 – Ворсинка начального отдела тонкой кишки крысы после 24-часового голодания: а – микроворсинка листовидной формы. СЭМ. Бар 50 мкм; б – отросток дендритной клетки (Д) в поре базальной мембраны (↑), КК – кровеносный капилляр. ТЭМ. Бар 200 нм; в – центральная зона ворсинки: Д – дендритная клетка, К – кровеносный капилляр, Лф – лимфоцит, М – макрофаг. ТЕМ. Бар 300 нм.

Ниже этой зоны расположен участок цитоплазмы, содержащий филаментозный материал, формирующий апикальное сплетение (рисунок 6а). В него вплетаются тонкие филаменты, окружающие плотный контакт, расположенный на базолатеральной части плазмолеммы сразу под щеточной каемкой, а также актиновые филаменты центральной части микроворсинок.

В цитоплазме апикальной части клетки расположены профили гладкой и шероховатой эндоплазматической сети. Между ними лежат многочисленные митохондрии овальной или округлой формы (рисунок 3а).

Профили шероховатого эндоплазматического ретикулюма немногочисленны. Они локализуются вблизи стопок комплекса Гольджи как со стороны цис-, так и транс-полюса органеллы. Обнаружены области близкой локализации цистерн ШЭР с цистерной КГ, а также зоны мембранных соединений структур этих органелл. Мембрана цистерны ШЭР со стороны цис-полюса КГ не имеет электронно-плотных участков, а также мембранных почек с электронно-плотной каймой (рисунок 4а, 4б).

Профили ГЭР в энteroцитах кишечной ворсинки многочисленны. Они локализуются в апикальной части клетки, часть из них лежит в непосредственной близости от БЛПМ около «пояса» адгезивных соединений. Просвет цистерн ГЭР средней электронной плотности без включений (рисунок 3а, 3б).

Ядро энteroцита относительно крупное, овальной или округлой формы с хорошо выраженным зонами эухроматина. Оно расположено в центральной области клетки, ближе к апикальной поверхности и ориентировано вдоль длинной оси клетки. Гетерохроматин сконцентрирован по периферии ядра, под кариолеммой (рисунок 3б).

Структуры КГ расположены над ядром. Длинная ось стопки органеллы ориентирована вдоль БЛПМ (рисунок 3б). Органелла представлена дискретными стопками, т. е. не образующими лентовидной структуры за счет тубулярных соединений цистерн соседних стопок (рисунок 4а).

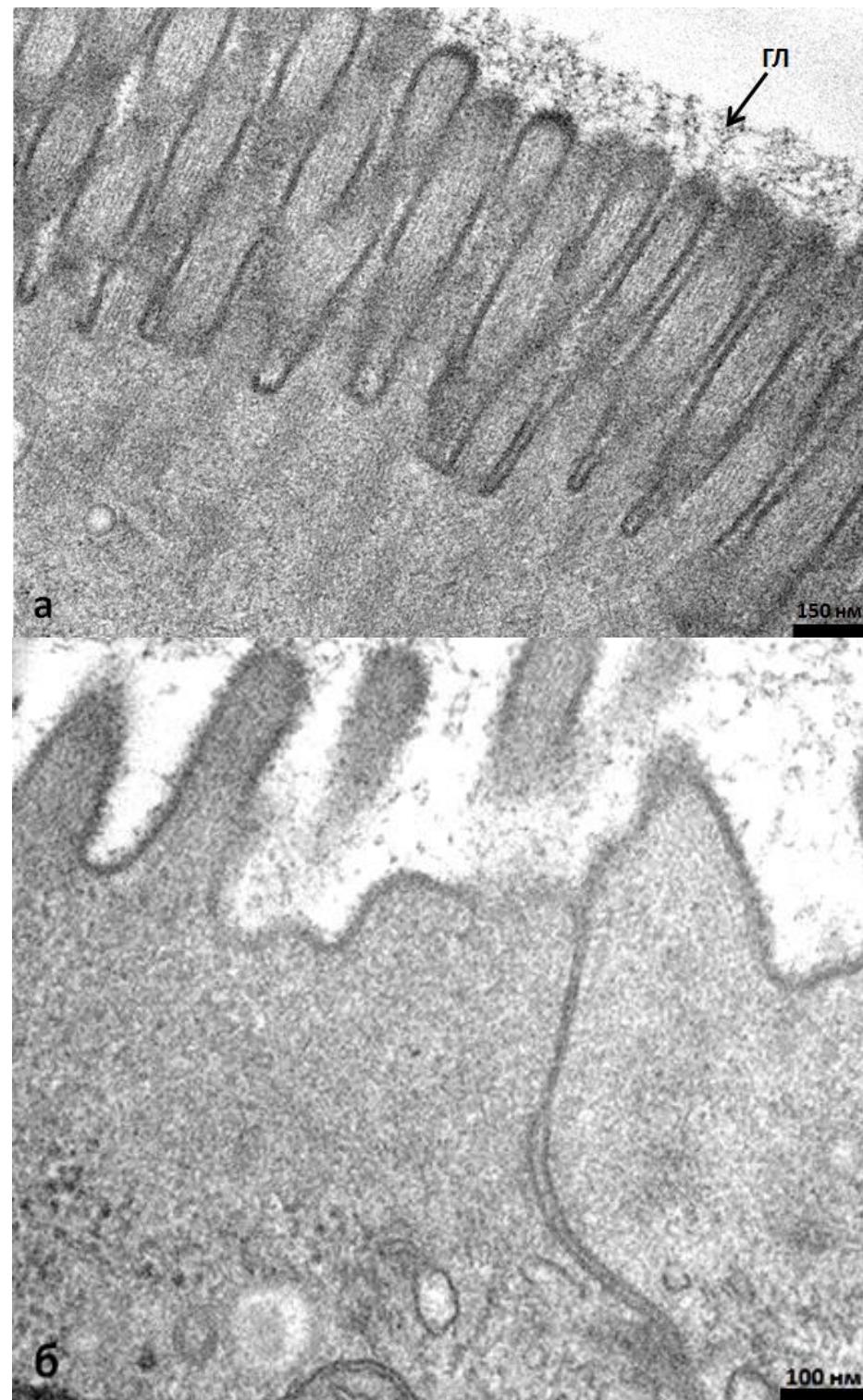


Рисунок 2 – Апикальная часть плазмолеммы энteroцита крысы после 24-часового голодания: а – микроворсинки с гликокаликсом (ГЛ). ТЕМ. Бар 150 нм; б – апикальная часть цитоплазмы без инвагинаций и округлых профилей. ТЕМ. Бар 100 нм.

Каждая стопка состоит из 5-6 уплощенных цистерн. Среднее число цистерн в стопке - $5,6 \pm 1,2$. Диаметр цистерн в среднем 600 ± 24 нм, ширина в средней части – $36 \pm 2,1$ нм. Ширина расширений латерального края стопки составила $65 \pm 2,1$ нм (таблица 2).

На мешочки стопки КГ приходится $60 \pm 2,5\%$ мембран органеллы. Цис-сеть не выражена или слабо выражена. Первая цис-цистерна имеет перфорации (рисунок 5а, 5б). Медиальные цистерны с перфорациями имеют латеральные расширения просвета цистерн 50-80 нм. На отдельных срезах, а также на ЭМ-томограммах была обнаружена близкая локализация цистерны ШЭР с последней медиальной цистерной КГ (рисунок 4б, 5а).

Транс-полюс КГ представлен перфорированной цистерной и транс-сетью. Транс-сеть может иметь близкую ассоциацию с транс-цистерной или располагаться на некотором расстоянии от нее. На тубулярные структуры КГ приходится в среднем $30 \pm 2,5\%$ мембран органеллы.

В непосредственной близости от цистерн КГ на цис-полюсе, латеральном крае стопки, в меньшей степени на транс-полюсе локализуются округлые мембранные профили 50-100 нм в диаметре (рисунок 5а, 5б). Электронно-микроскопическая томография показала, что большая часть из них представлена дискретными округлыми образованиями, и лишь некоторые из них связаны с цистернами КГ узкой мембранный «шейкой». Часть везикул имеют электронно-плотную кайму. По данным трехмерных реконструкций (рисунок 5а, 5б) на округлые мембранные профили приходится в среднем $10 \pm 2,5\%$ мембран КГ.

Энтероциты кишечной ворсинки образуют плотно расположенный слой клеток с хорошо развитыми межклеточными соединениями. На базолатеральной части плазмолеммы межклеточные контакты сложно организованы и представляют комплекс соединений, расположение которых имеет определенную закономерность (рисунок 6а).

Плотный контакт (zonula occludens) замыкает межклеточную щель сразу ниже основания микроворсинки (рисунок 6а, 6б).

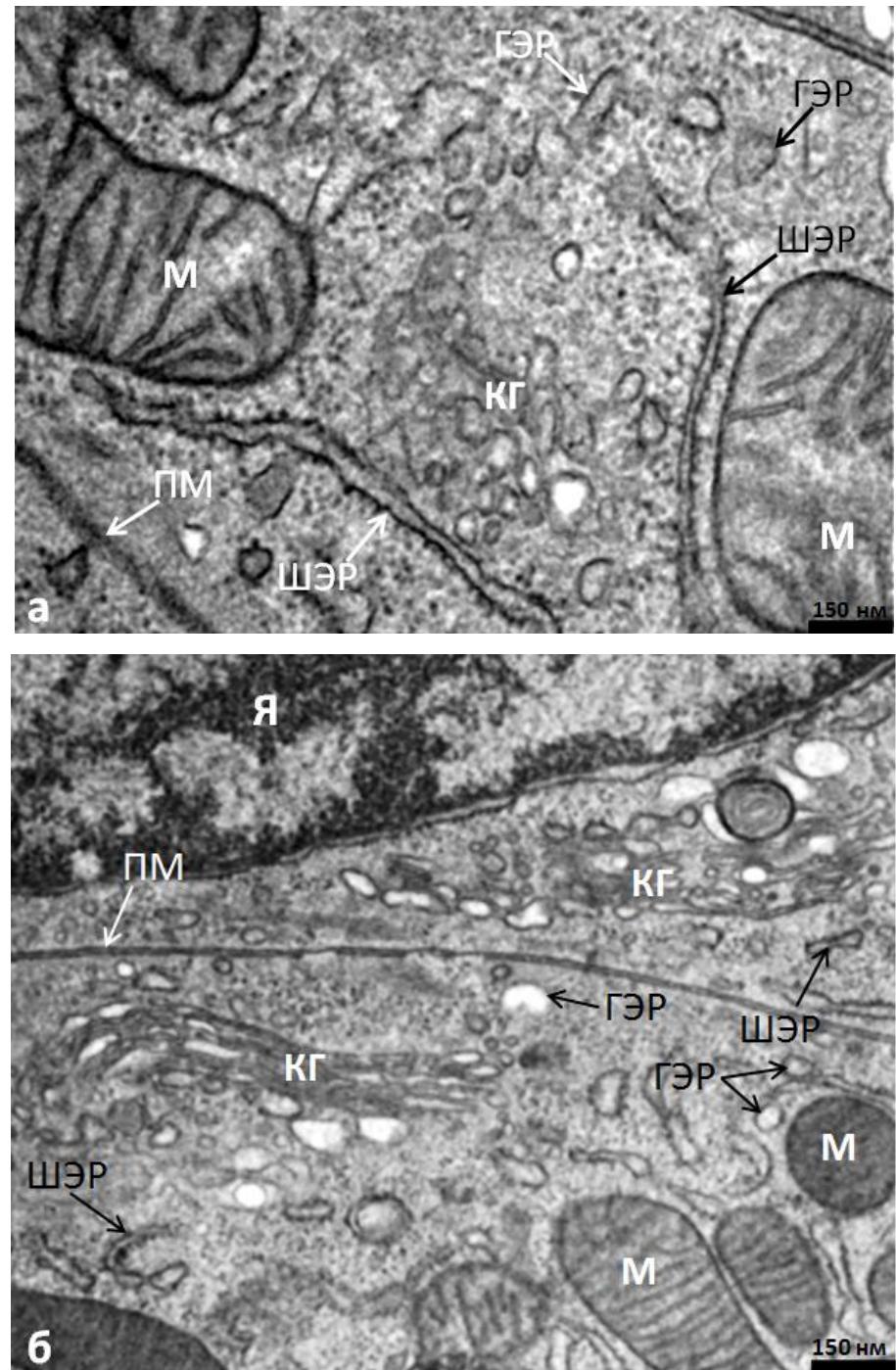


Рисунок 3 – Ультраструктура энteroцита кишечной ворсинки крысы после 24-часового голодания: а – апикальная часть клетки; б – участок цитоплазмы вдоль базолатеральной части плазмолеммы. Я – ядро, ПМ – плазмолемма, КГ – комплекс Гольджи, М – митохондрии, ГЭР – гладкий эндоплазматический ретикулум, ШЭР – шероховатый эндоплазматический ретикулум, ПМ – плазмолемма. ТЕМ. Бар 150 нм.

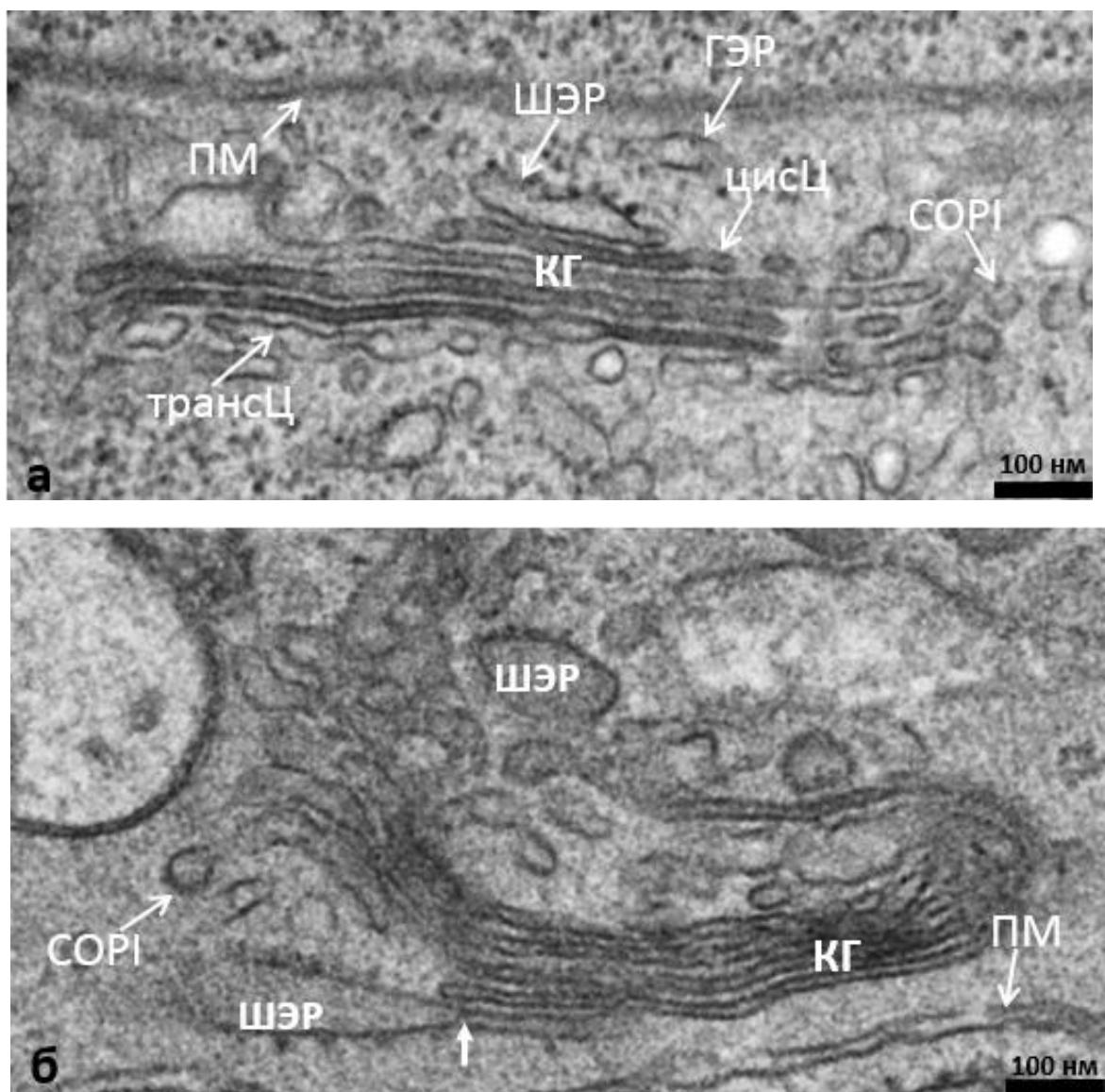


Рисунок 4 – Ультраструктура комплекса Гольджи (КГ) энтероцита кишечной ворсинки после 24-часового голодания: а – стопка КГ; б – соединение цистерны шероховатого эндоплазматического ретикулюма с медиальной цистерной КГ. ПМ – плазмолемма, КГ – комплекс Гольджи, ГЭР – гладкий эндоплазматический ретикулюм, ШЭР – шероховатый эндоплазматический ретикулюм, COPI – COPI-производная везикула, цисЦ – цис-цистерна КГ, трансЦ – транс-цистерна КГ, ↑ – место соединения цистерны шероховатого эндоплазматического ретикулюма с медиальной цистерной КГ.

ТЭМ. Бар 100 нм.

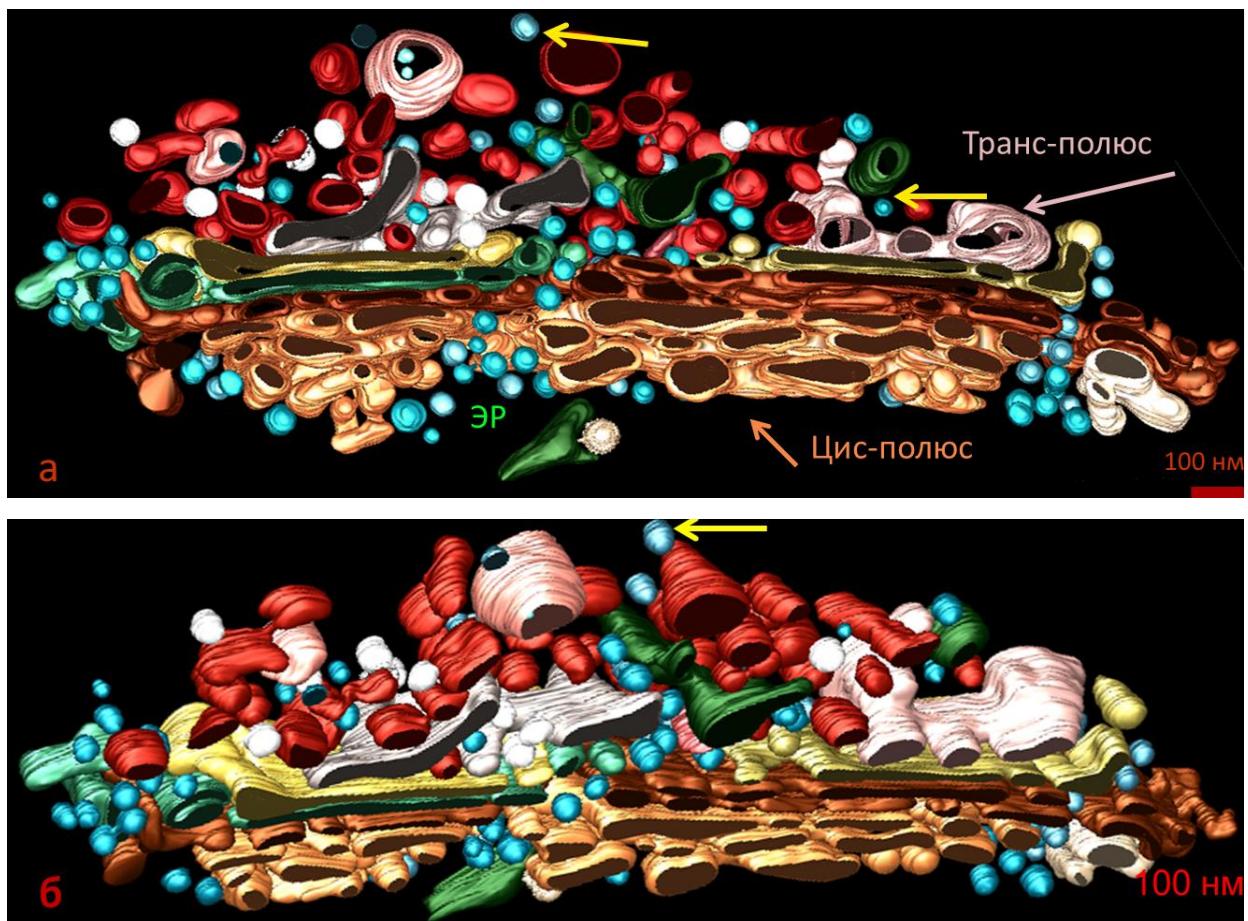


Рисунок 5 – 3D-реконструкция комплекса Гольджи энteroцита начального отдела тонкой кишки крысы после 24-часового голодания. Цветовая шкала: зеленый – эндоплазматический ретикулум; светло-коричневый – цис-сеть и цис-цистерна; темно-коричневый, зеленый, оливковый – медиальные цистерны; розовый – транс-цистерна; красный – транс-сеть; голубой (желтая стрелка) – COPI-производные везикулы. ЭМ-томография (угол вращения: а = 180^0 , б = 120^0). Бар 100 нм.

Контакт выглядит как участок базолатеральной части плазмолеммы двух соседних клеток, на протяжении которого наблюдается слияние наружных слоев плазматической мембранны. Ширина контакта – 0,2 мкм. В области контакта в цитоплазме выявляются тонкие филаменты. Ниже плотного контакта регистрируется щелевой контакт (gap junction). Мембранны соседних клеток в этой области параллельны и лежат на расстоянии 2-3 нм (рисунок 6а). Под щелевым контактом расположен промежуточный контакт (zonula adherens). Плазмолеммы соседних клеток в области контакта лежат на расстоянии 15-20 нм. Между ними расположен материал средней электронной плотности. Зона, прилежащая к контакту со стороны цитоплазмы, имеет повышенную электронную плотность. К этой зоне примыкает сеть тонких филаментов. Она вплетается в апикальное сплетение энteroцита (рисунок 6а, 6в). Ниже располагаются одна или несколько десмосом (macula adherens). Они разделены, обычно, некоторым расширением межклеточной щели (рисунок 6а, 6д). Дистальнее формируется зона сложных интердигитирующих контактов (рисунок 6а, 6б, 6в). Первый ИДК располагается на уровне цистерны КГ. На уровне ядра ИДК выражены в меньшей степени. Контакт ориентирован в вертикальной плоскости параллельно длинной оси стопки КГ. Длина и количество выростов в ИДК выше в проксимальной и дистальной частях клетки. Рядом расположены ИДК, которые разделены между собой десмосомой (рисунок 6г). На протяжении контакта десмосомы не встречаются. Средняя длина контактирующих поверхностей соседних энteroцитов, ограниченных двумя десмосомами составила 715 ± 20 нм. Ширина контактной щели равномерна и составляет в среднем 40 нм. Длина проекции ИДК на базолатеральную часть плазматической мембранны составила 130 ± 6 нм. Между соседними десмосомами расположены пучки актиновых филаментов.

Наконец, завершает комплекс контактов базолатеральной части плазмолеммы десмосома, расположенная в непосредственной близости от базальной части плазматической мембранны энteroцита.

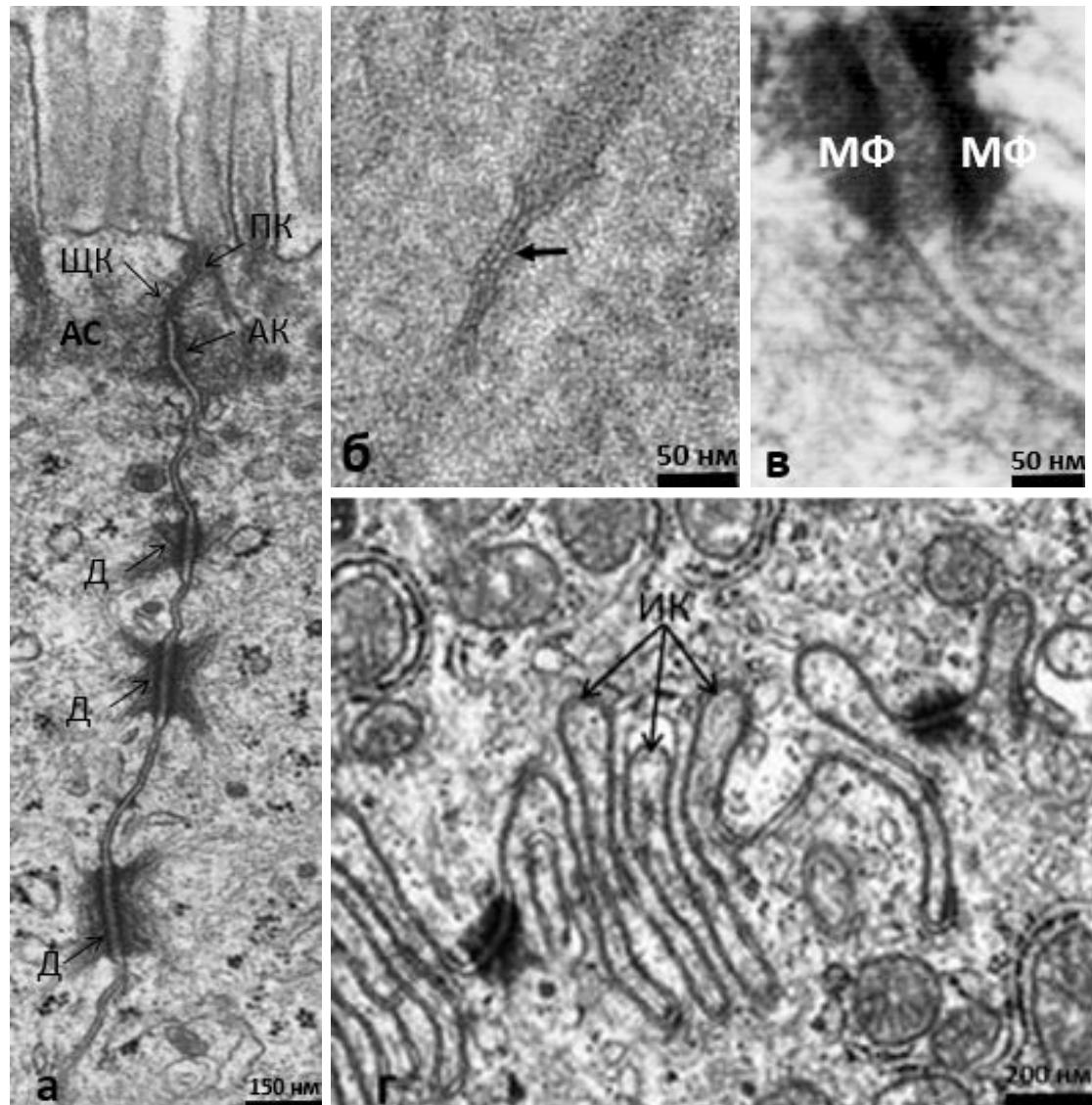


Рисунок 6 – Ультраструктура межклеточных контактов базолатеральной части плазмолеммы энteroцита крысы после 24-часового голодания: а – расположение контактов. ТЭМ. Бар 150 нм; б – плотный контакт (↑). ТЭМ. Бар 50 нм; в – адгезивный контакт. ТЭМ. Бар 50 нм; г – пальцевидный контакт. ТЭМ. Бар 200 нм.

ПК – плотный контакт, ЩК – щелевой контакт; АС – апикальное сплетение, АК – адгезивный контакт, Д – десмосома, ИК – пальцевидный контакт, МФ – микрофиламенты.

3. 2. Структура и временные характеристики транспортного пути липидов из просвета кишки в собственную пластинку кишечной ворсинки

Через 5 минут после введения химуса в полость начального отдела тонкой кишки крысы средний диаметр микроворсинки энteroцита (по данным ТЭМ) увеличился и составил 106 ± 19 нм, высота микроворсинки уменьшилась в среднем до 863 ± 40 нм.

В образцах, контрастированных по протоколу ОТОТО, наблюдаются участки концентрации липидов в виде электронно-плотных образований диаметром 5-30 нм в примембранном слое кишки, гликокаликсе (рисунок 7а) и плазматической мембране микроворсинки (рисунок 7б).

На апикальной части плазмолеммы в основании щеточной каемки мы, также как и в контрольных образцах, не обнаружили окаймленных ямок, а также везикул, окаймленных клатрином или кавеосом. Под плазмолеммой зона относительно однородной цитоплазмы средней электронной плотности без мембранных структур и электронно-плотных включений, в том числе и на образцах контрастированных по протоколу ОТОТО.

Мембранные профили цистерн ГЭР расположены в непосредственной близости от БЛПМ под «поясом» адгезивных соединений. Несмотря на близкую локализацию, мы не обнаружили мембранные соединения между БЛПМ и цистернами ГЭР (рисунок 8а). Цистерны ШЭР локализуются вблизи стопок КГ, как на цис-, так и на транс-полюсе органеллы (рисунок 8а). Цистерны гладкого и шероховатого ЭР часто связаны между собой и переходят одна в другую (рисунок 8а). Мембрана цистерн ШЭР имеет однородную электронную плотность без почек и инвагинаций.

В цистернах ГЭР, расположенных в непосредственной близости от плотного соединения БЛПМ, мы наблюдаем появление одиночных осмиофильных структур, диаметром от 20 до 60 нм (таблица 4). Их среднее количество – $3,2\pm0,6$ на срез.

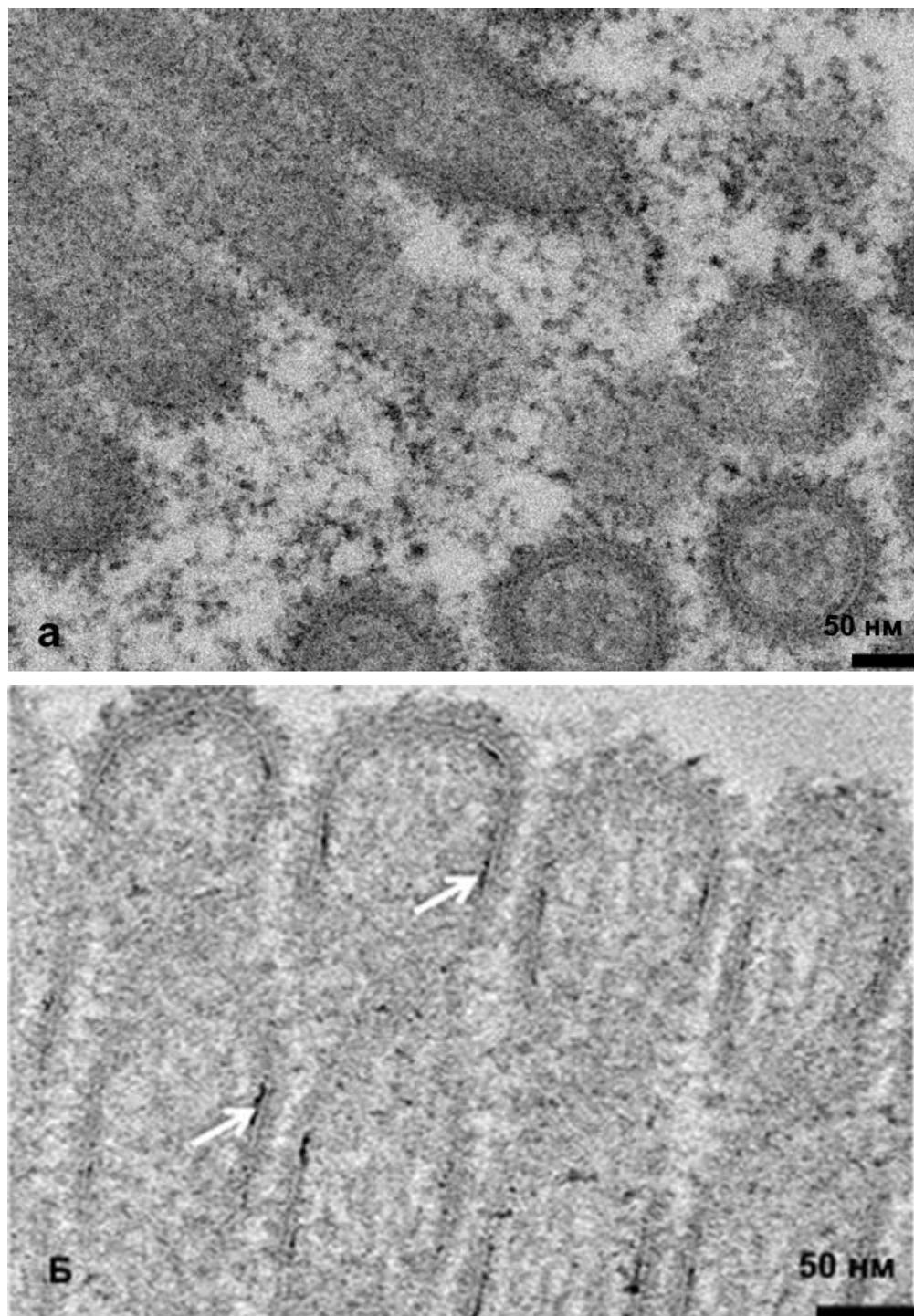


Рисунок 7 – Микроворсинки энteroцита крысы через 5 минут после введения химуса: а – концентрация липидов в пристеночной зоне кишки и гликокаликсе микроворсинок; б – концентрация липидов в плазмолемме микроворсинок. ТЕМ, протокол ОТОТО. Бар 50 нм.

В просвете цистерн ШЭР осмиофильтные включения не выявлены, однако часть электронно-плотных частиц наблюдается в области соединения цистерн ГЭР и ШЭР.

КГ расположен вблизи цистерн ГЭР и формирует компактную стопку из 4-6 плоских цистерн с небольшим расширением просвета в латеральной области стопки. Стопка ориентирована продольной осью вдоль БЛПМ. Цис-и транс-сеть КГ средней степени выраженности. Округлые мембранные профили диаметром 60-80 нм регистрируются на цис-полюсе органеллы, на латеральном крае стопки и, в меньшей степени, на транс-полюсе органеллы. Просвет цистерн на всем его протяжении однородный, средней электронной плотности. Электронно-плотные структуры окружной формы в профилях мембран КГ не выявляются, в том числе и в окружных мембранных профилях, ассоциированных со стопкой органеллы.

Межконтактная щель пальцевидных контактов энteroцита равномерная, шириной 30-40 нм без электронно-плотных включений.

Через 10 минут после введения химуса в полость начального отдела тонкой кишки, по данным ТЭМ, обнаруживаются осмиофильтные образования диаметром 20-60 нм в просвете цистерн ГЭР, расположенных в непосредственной близости БЛПМ. Их среднее количество увеличивается и достигает $5,3 \pm 0,6$ на срез. Регистрируются отдельные электронно-плотные частицы в просвете цистерн КГ на цис-полюсе органеллы (рисунок 86).

На апикальной части плазмолеммы энteroцита, под щеточной каемкой электронно-плотных участков, мембранных инвагинаций и почек по-прежнему не регистрируется. Не выявляется также никаких окружных мембранных структур в зоне цитоплазмы, расположенной под щеточной каемкой, а также осмиофильтных структур и включений.

На цистернах ШЭР и в непосредственной близости от них окружных мембранных структур изолированных, либо связанных с цистернами «шейкой» не выявлено, в том числе и с электронно-плотной каймой.

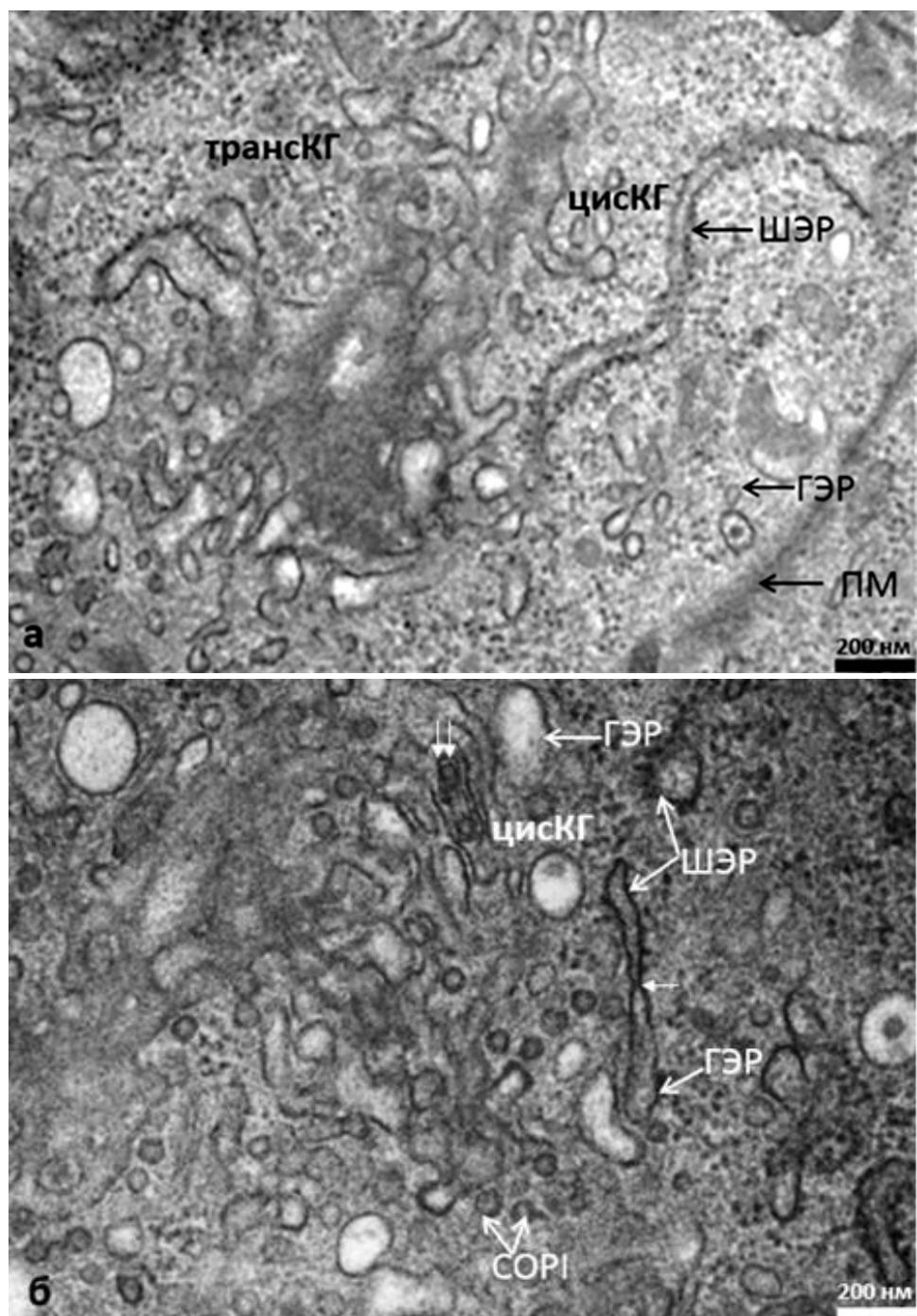


Рисунок 8 – Ультраструктура энteroцита после введения химуса:
 а – через 5 минут; б – через 10 минут. ПМ – плазмолемма, цисКГ – цис-
 полюс комплекса Гольджи, трансКГ – транс-полюс комплекса Гольджи, ГЭР –
 гладкий эндоплазматический ретикулюм, ШЭР – шероховатый
 эндоплазматический ретикулюм, COPI – COPI-производная везикула, ↑ –
 место соединения шероховатого и гладкого эндоплазматического
 ретикулюма, ↑↑ – липиды на цис-полюсе комплекса Гольджи,
 ТЕМ. Бар 200 нм.

Крупных мембранных изолированных структур («мегавезикул») вблизи стопки КГ, либо цистерн ЭР, в том числе и с электронно-плотными включениями также не обнаружено.

Структура КГ значимых изменений не претерпевает. Органелла сохраняет параллельную базолатеральной части плазмолеммы ориентацию. На цистерны КГ приходится в среднем $57\pm0,2\%$ мембран органеллы. На свободные 60-80 нм везикулы – $11\pm0,2\%$, на тубулярные структуры – $32\pm0,2\%$. Эти показатели не имеют достоверных различий с характеристиками КГ контрольной группы.

Через 10 минут после введения химуса одиночные осмиофильтные округлые образования диаметром 40-60 нм обнаруживаются в цис-полюсе, а в некоторых случаях, в просвете медиальных цистерн стопки органеллы на латеральном крае. Их среднее количество достигает $6,1\pm0,5$ на срез (рисунок 9, таблица 4).

На томограммах мы обнаруживаем единичные мембранные тубулярные соединения диаметром 30 нм между цистерной ГЭР и цис-цистерной КГ, содержащей осмиофильтные включения (рисунок 9).

Везикулы КГ диаметром 50-100 нм, расположенные на цис-полюсе и латеральном крае стопки, не содержат электронно-плотного вещества (рисунок 9а-г). Часть округлых мембранных профилей соединены с латеральным краем цистерн стопки мембранный «шлейф» (рисунок 9б).

Транс-полюс КГ представлен последней мало перфорированной цистерной, примыкающей к стопке. Транс-сеть КГ выражена мало. В просвете мембранных структур транс-полюса КГ электронно-плотные осмиофильтные округлые профили не выявляются.

Интердигитирующие контакты базолатеральной части плазмолеммы имеют равномерную ширину и однородную электронную плотность просвета на всем их протяжении. Ширина контактной щели составила в среднем $40\pm0,3$ нм.

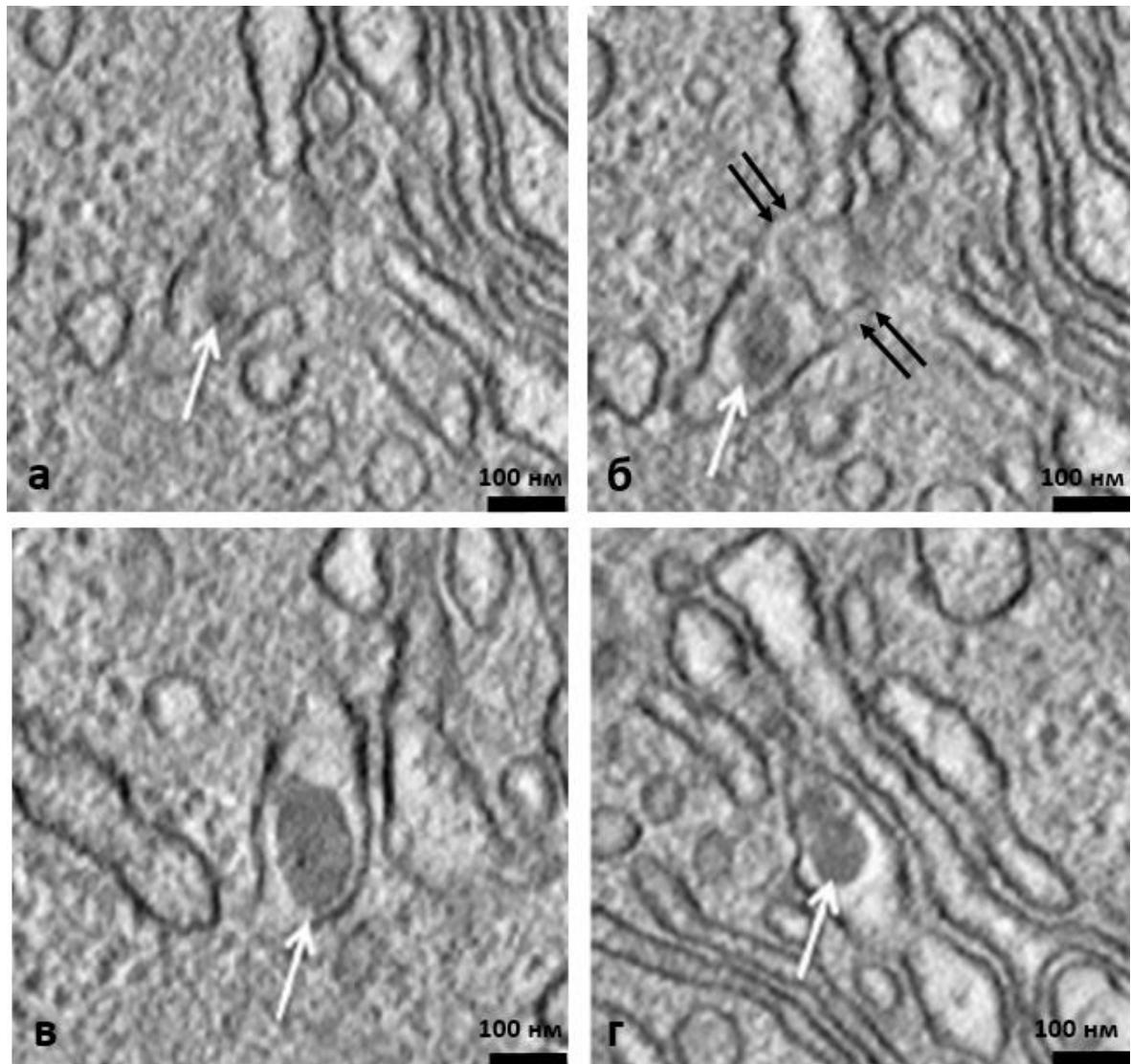


Рисунок 9 – Цис-полюс комплекса Гольджи (КГ) энteroцита кишечной ворсинки крысы через 10 минут после введения химуса:

а-г - серийные виртуальные срезы (угол вращения: а = 180^0 , б = 120^0 , в = -120^0 , г = -180^0): ↑ – цистерна гладкого эндоплазматического ретикулюма (ГЭР) с липидами, ↑↑ – мембранные соединения ГЭР с цис-цистерной КГ, ЭМ-томография. Бар 100 нм.

Через 25 минут после введения химуса в полость начального отдела тонкой кишки строение апикальной части энteroцита не меняется. По-прежнему в апикальной части цитоплазмы мы не выявляем осмиофильных включений. В просвете канальцев ГЭР электронно-плотные частицы встречаются редко. При этом они регистрируются на электронограммах на всем протяжении стопки КГ.

Структура органеллы меняется. Количество цистерн статистически не изменяется (таблица 4). При этом увеличивается диаметр цистерн до 832 ± 24 нм. На цистерны стопки КГ приходится в среднем $48\pm2,5\%$ мембран органеллы, что на 12% меньше, чем в контрольной группе.

Латеральные края цистерн КГ мешкообразно расширены (рисунок 10а, 10б). Диаметр просвета цистерн в этой области увеличивается от цис- к транс-полюсу стопки и составляет в среднем 230 ± 32 нм. В расширениях цистерн наблюдаются осмиофильные включения диаметром от 100 до 300 нм (рисунок 10а, 10б). Они состоят из осмиофильных частиц, количество и диаметр которых увеличивается от цис- к транс-полюсу стопки КГ. Так, на цис-полюсе регистрируется в среднем $2,3\pm0,2$ частицы на срез со средним диаметром 58 ± 11 нм. На транс-полюсе – 35 ± 7 частиц, со средним диаметром 86 ± 15 нм (таблица 2).

На латеральном крае стопки регистрируются 50-100 нм везикулы. Некоторые из них соединены тонкой «шейкой» с цистерной КГ (рисунок 11а, 11г). Они не содержат электронно-плотных частиц и включений. На везикулярные профили приходится $11\pm2,5\%$ мембран органеллы, что статистически не отличается от контрольной группы (таблица 2).

Транс-полюс КГ представлен перфорированной транс-цистерной и примыкающей к стопке транс-сетью (рисунок 10б). На транс-полюсе КГ наблюдаются мешкообразные мембранные структуры с осмиофильными частицами (рисунок 10б), часть из них лежит в непосредственной близости от базолатеральной части плазмолеммы.

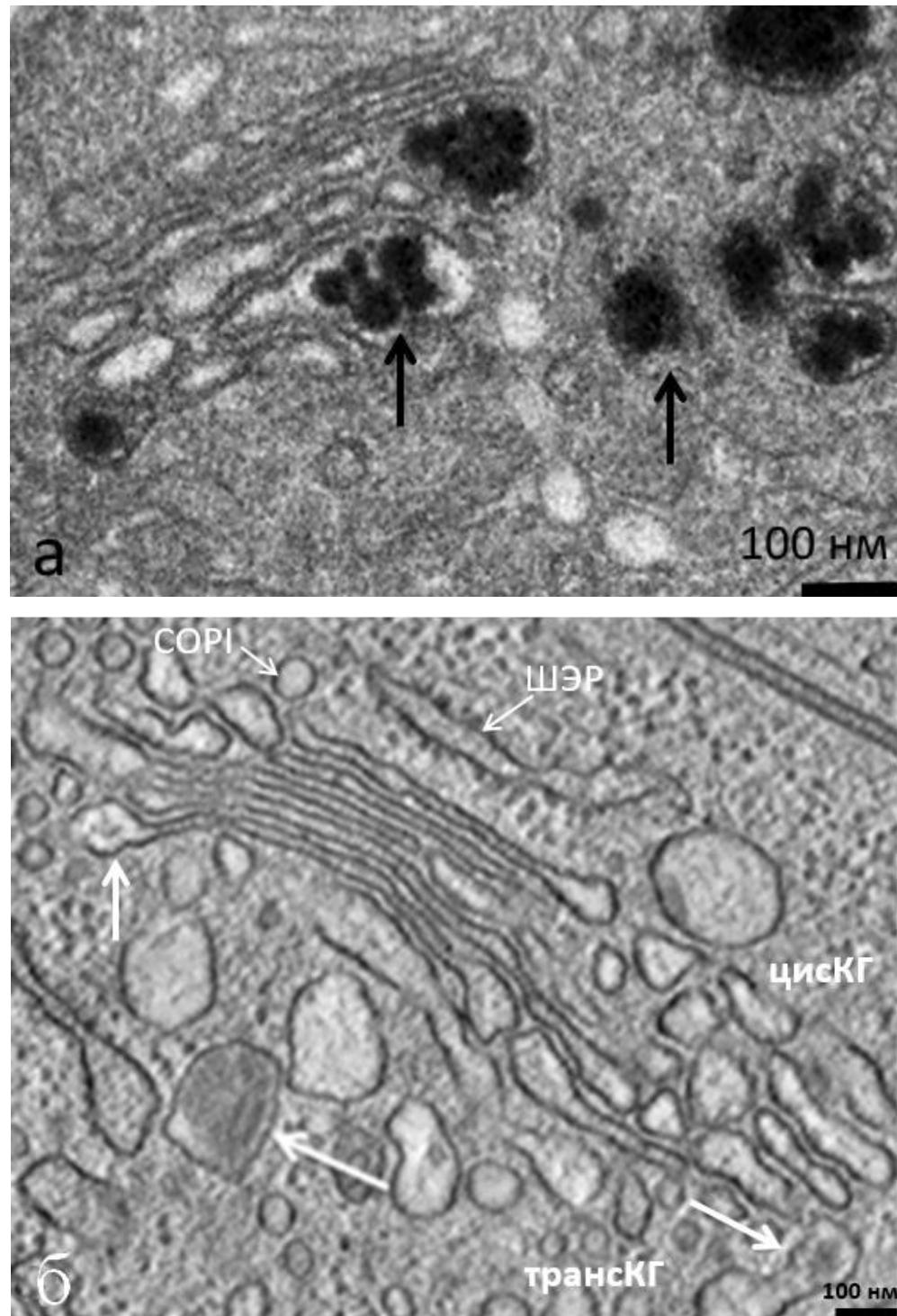


Рисунок 10 – Комплекс Гольджи (КГ) энteroцита кишечной ворсинки крысы через 25 минут после введения химуса:

а - липиды (↑) в цис- и медиальных цистернах КГ, ТЭМ. Бар 100 нм;

б – липиды (↑) на транс-полюсе КГ, ЭМ-томография. Бар 100 нм.

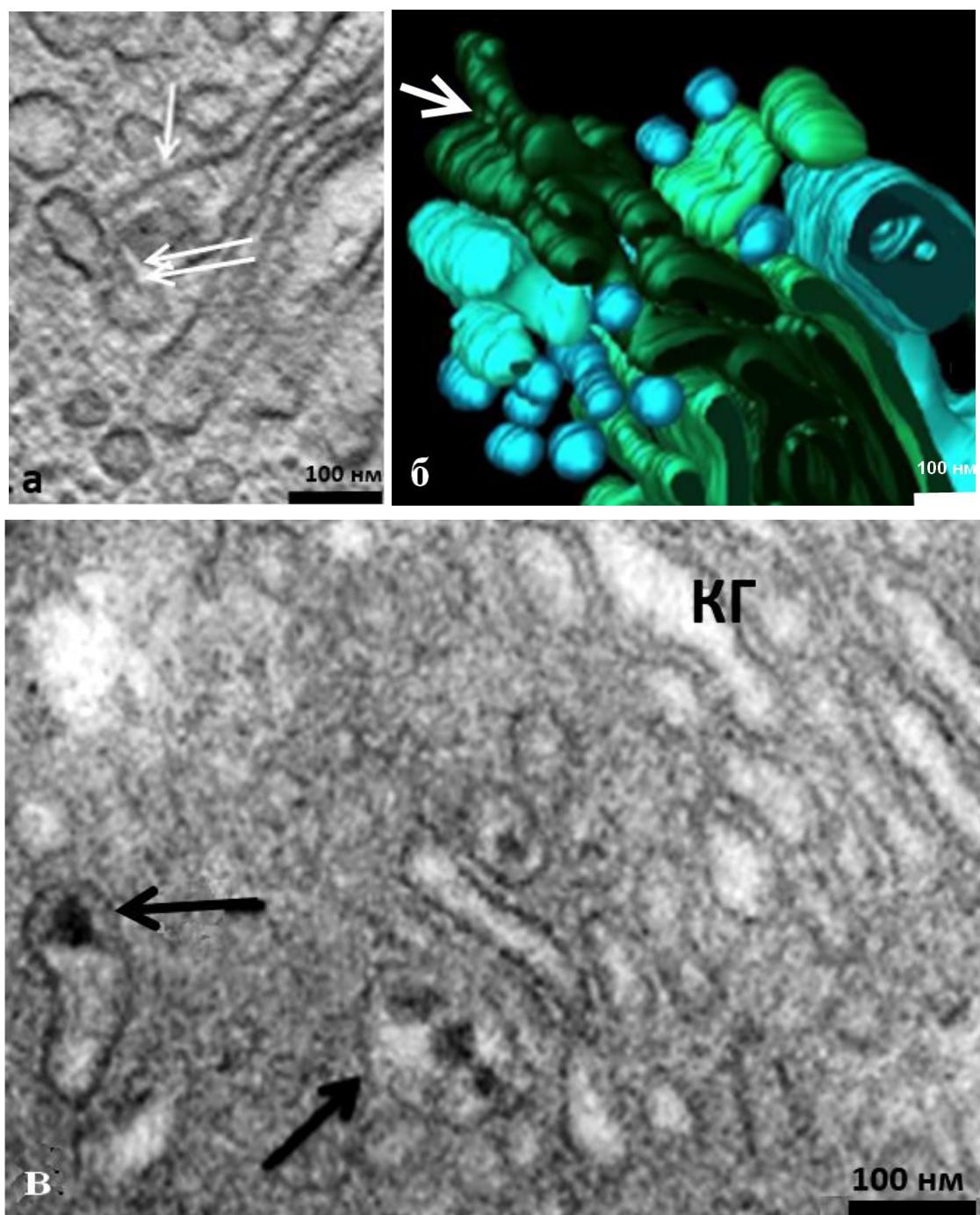


Рисунок 11 – Комплекс Гольджи (КГ) энteroцита кишечной ворсинки крысы
после введения химуса через 25 и 45 минут:

а – липиды в просвете цистерны (↑) через 25 мин. эксперимента, (↑↑) – соединение COPI-производной везикулы с цистерной КГ, ЭМ-томограмма;

б – (↑) тубулярное соединение между цистернами КГ через 25 мин. эксперимента, 3D-реконструкция латерального края стопки;

в – липиды в пост-Гольджи переносчиках через 45 мин. эксперимента.

ТЭМ. Бар 100 нм.

Между соседними цистернами КГ на томограммах обнаруживаются тубулярные мембранные соединения (рисунок 11б). На тубулярные структуры приходится в среднем $41\pm2,5\%$ мембран органеллы, что несколько выше, чем в контрольной группе (таблица 2).

Осмиофильные частицы регистрируются между плазматическими мембранами соседних клеток в зоне сложных ИДК. Их среднее количество на срез составило $12,7\pm0,6$. Ширина интердигитирующих контактов в базальной части клетки имеет неравномерные расширения. Средняя ширина контактной щели увеличилась в 2 раза по сравнению с контрольной группой и составила $80\pm0,3$ нм (таблица 3). Длина проекции контакта на БЛПМ увеличилась в 1,2 раза и составила 165 ± 6 нм (таблица 3). Длина контактирующей поверхности между двумя десмосомами достоверно не меняется (таблица 3).

В собственной пластинке кишечной ворсинки осмиофильных включений не обнаружено.

Между энteroцитами регистрируются одиночные лимфоциты и дендритные клетки. Последние формируют контакты с энteroцитами. Их отростки регистрируются в порах базальной мембранны или в непосредственной близости от них.

Через 45 минут после введения химуса в начальный отдел тонкой кишки животного осмиофильные включения в цистернах ГЭР не обнаруживаются. Отдельные электронно-плотные частицы могут регистрироваться в мембранных переносчиках КГ около ИДК в дистальном отделе базолатеральной части плазмолеммы (рисунок 11в).

Сложные ИДК формируют расширения до 150 нм шириной и содержат скопления хиломикронов (рисунок 12в). Ширина контактной щели увеличивается по сравнению со сроком 25 мин. эксперимента в 1,5 раза и составляет $120\pm0,3$ нм. При этом длина контактирующей поверхности ИДК между двумя десмосомами достоверно не изменяется и составляет в среднем 686 ± 20 нм при средней проекции контакта на базолатеральную часть

плазмолеммы 230 ± 11 нм, что в 1,4 раза выше, чем на сроке 25 мин. эксперимента (таблица 4). Тем не менее, часть ИДК, расположенных вблизи базальной мембранны, не имеет расширений контактной щели и не содержит осмиофильных включений (рисунок 13а).

Между десмосомами, ограничивающими ИДК, параллельно БЛПМ, регистрируются пучки микрофиламентов, в которые вплетаются промежуточные филаменты десмосом (рисунок 12б).

Скопление липидов наблюдается между базальной частью плазмолеммы энteroцита и базальной мембранны, под базальной мембранны, в интерстиции собственной пластиинки (рисунок 13а-в). На серийных срезах, полученных с помощью сканирующего микроскопа с внутренним микротомом и детектором обратного рассеивания электронов, регистрируется скопление дендритных клеток между энteroцитами и в собственной пластиинке кишечной ворсинки. Дендритные клетки, диаметром до 20 мкм, имеют цитоплазму средней электронной плотности бедную органеллами и длинные цитоплазматические отростки (рисунок 14, 15).

В зоне скопления липидов базальная мембрана истончена или имеет поры. Отростки дендритных клеток проникают в поры базальной мембранны, а также образуют контакты с энteroцитами (рисунок 14). В отверстиях пор базальной мембранны могут располагаться и отростки энteroцитов (рисунок 13а). Часть отростков регистрируется в непосредственной близости от пор базальной мембранны, другие проходят через поры (рисунок 14).

Таким образом, через 45 мин. после введения химуса в полость начального отдела тонкой кишки большая часть липидов покидает энteroцит и скапливается между ИДК и в собственной пластиинке кишечной ворсинки.

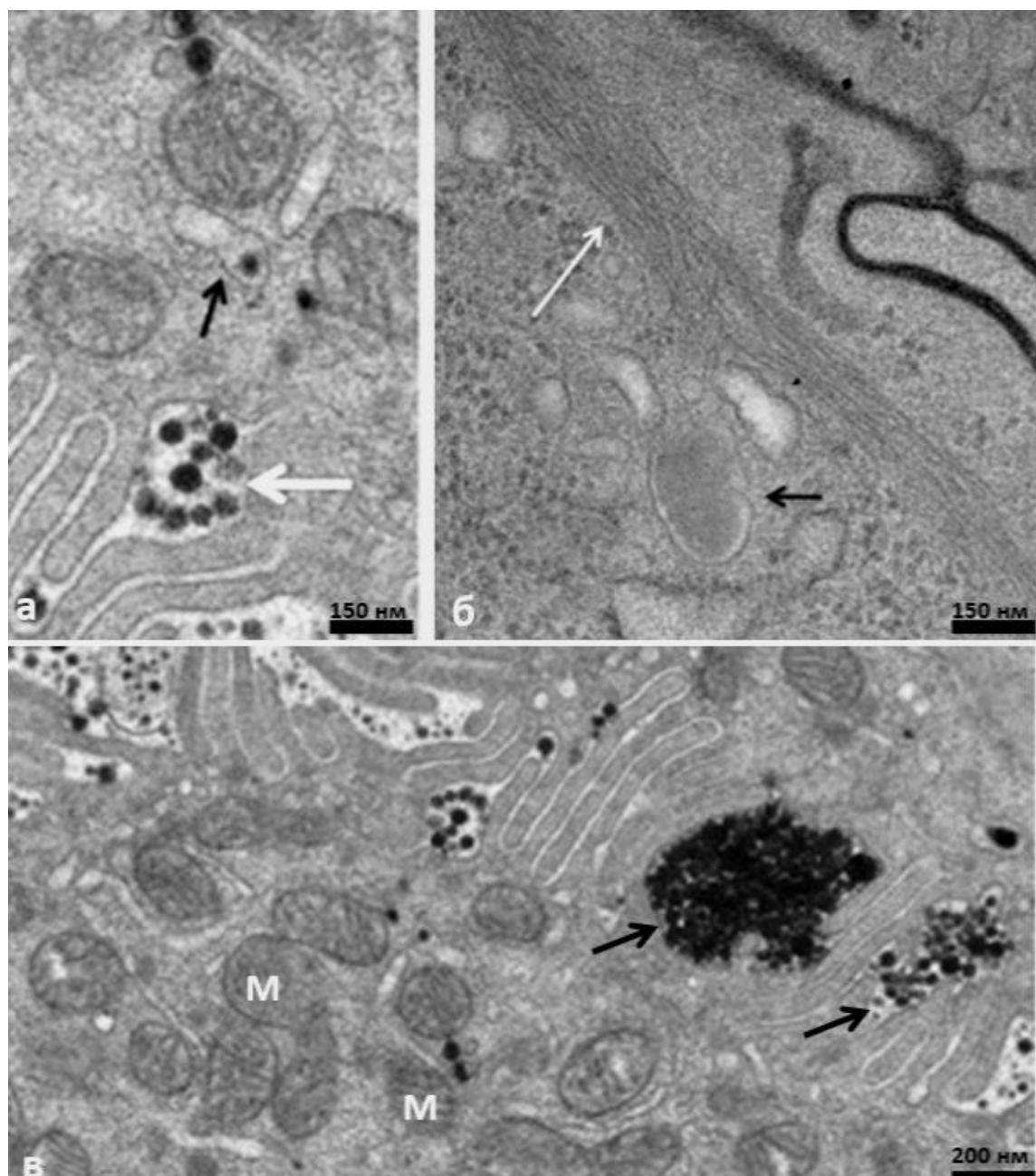


Рисунок 12 – Межклеточные контакты через 45 минут после введения химуса:

а – липиды в просвете пост-Гольджи переносчика – черная стрелка, в интердигитирующих контактах – белая стрелка. ТЭМ. Бар 150 нм;

б – актиновые филаменты вдоль базолатеральной поверхности энteroцита – белая стрелка, липидный транспортер – черная стрелка. ТЭМ. Бар 150 нм;

в – скопление липидов в интердигитирующих контактах – черная стрелка, М – митохондрии. ТЭМ. Бар 200 нм.

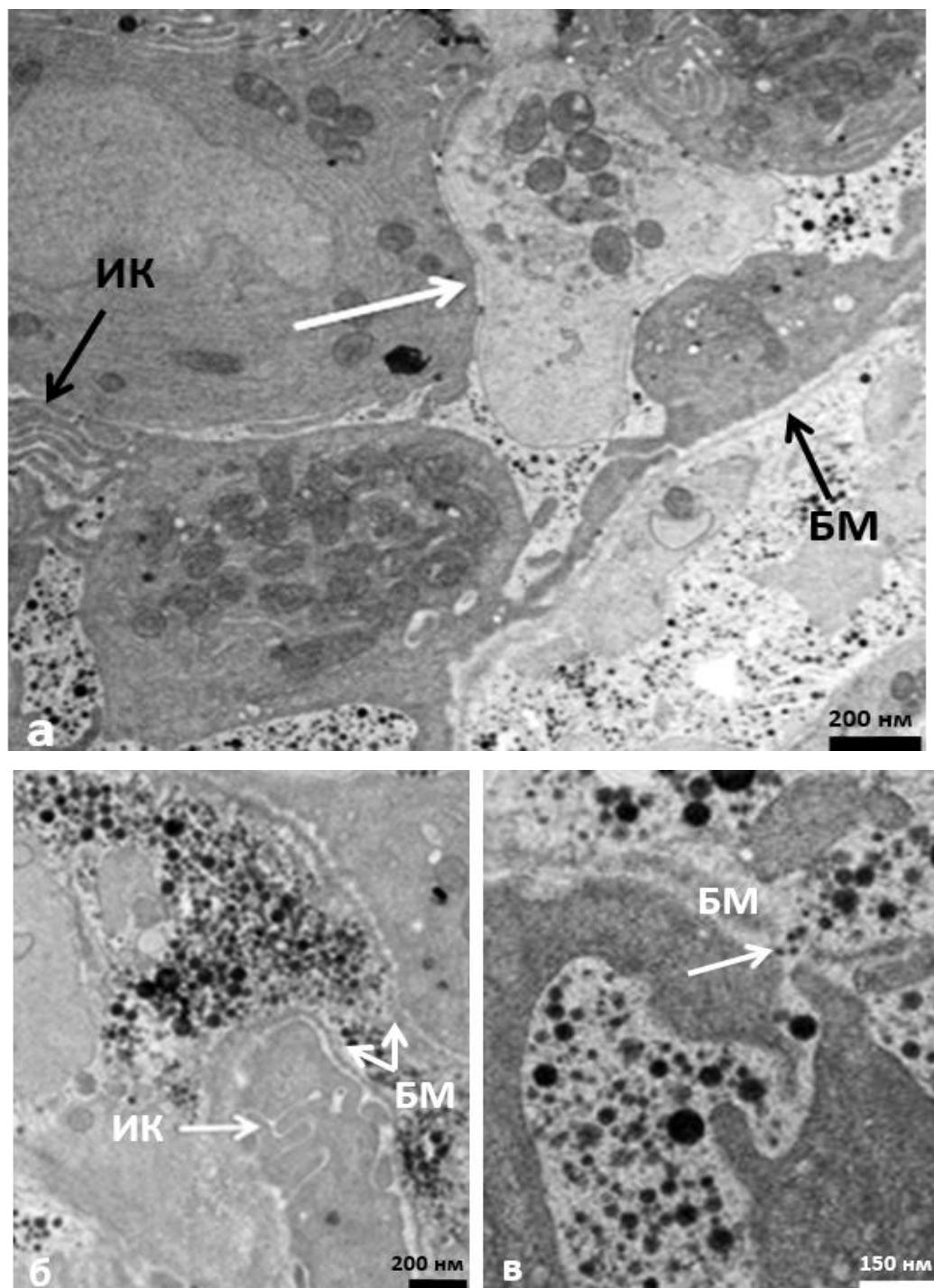


Рисунок 13 – Липиды в области базальной мембранны эпителия кишечной ворсинки через 45 минут после введения химуса:

а – дендритная клетка в составе эпителиального пласта – белая стрелка. ТЭМ. Бар 150 нм; б – отсутствие липидов в области интердигитирующих контактов. ТЭМ. Бар 200 нм; в – прохождение липидов через пору базальной мембранны – белая стрелка. ТЭМ. Бар 150 нм.

БМ – базальная мембрана, ИК – интердигитирующий контакт.

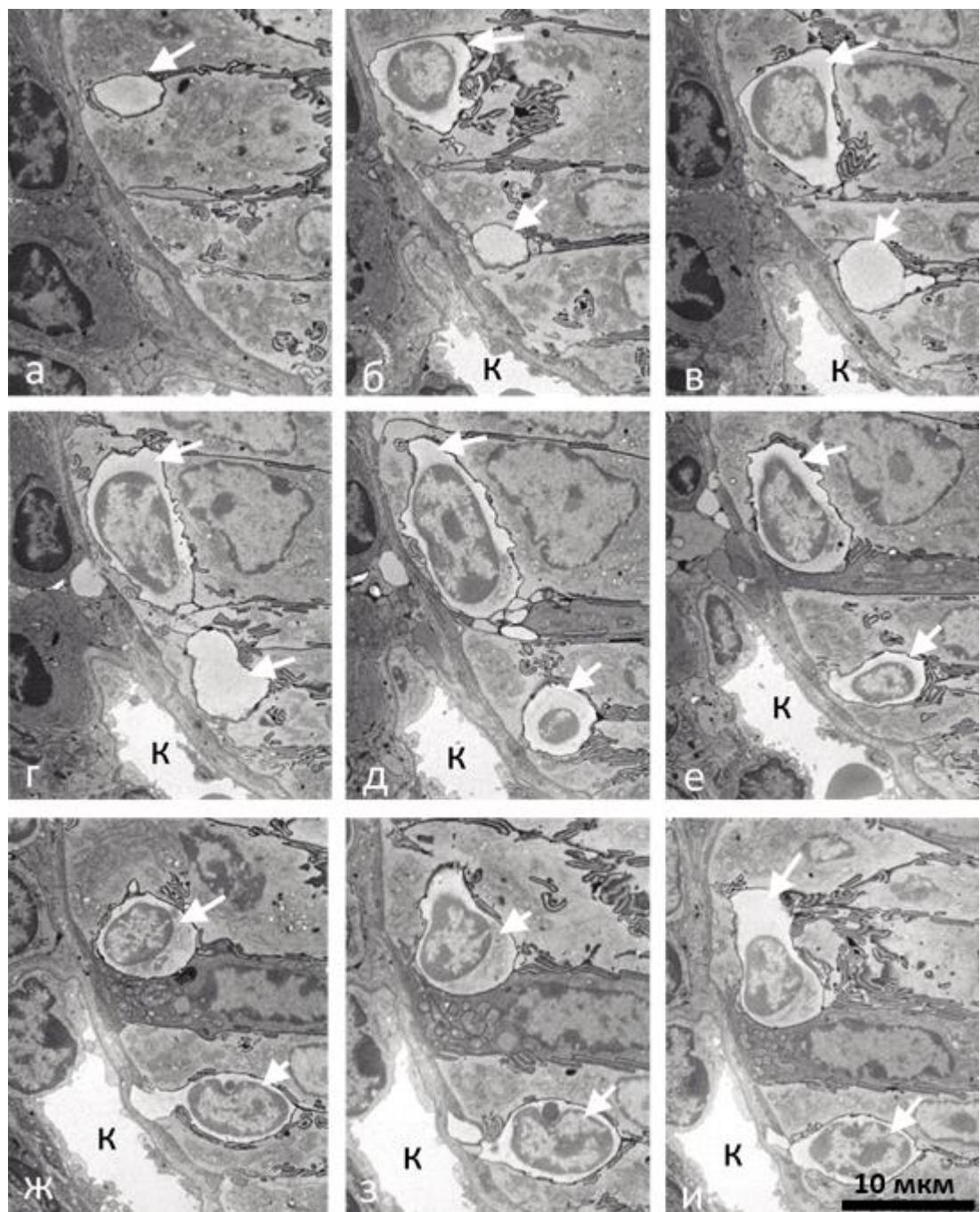


Рисунок 14 – Серийные срезы эпителия кишечной ворсинки крысы

через 45 минут после введения химуса:

↑ – дендритная клетка; К – кровеносный капилляр. СЭМ с детектором обратно рассеянных электронов, оборудованный внутренним ультратромом.

Бар 10 мкм.

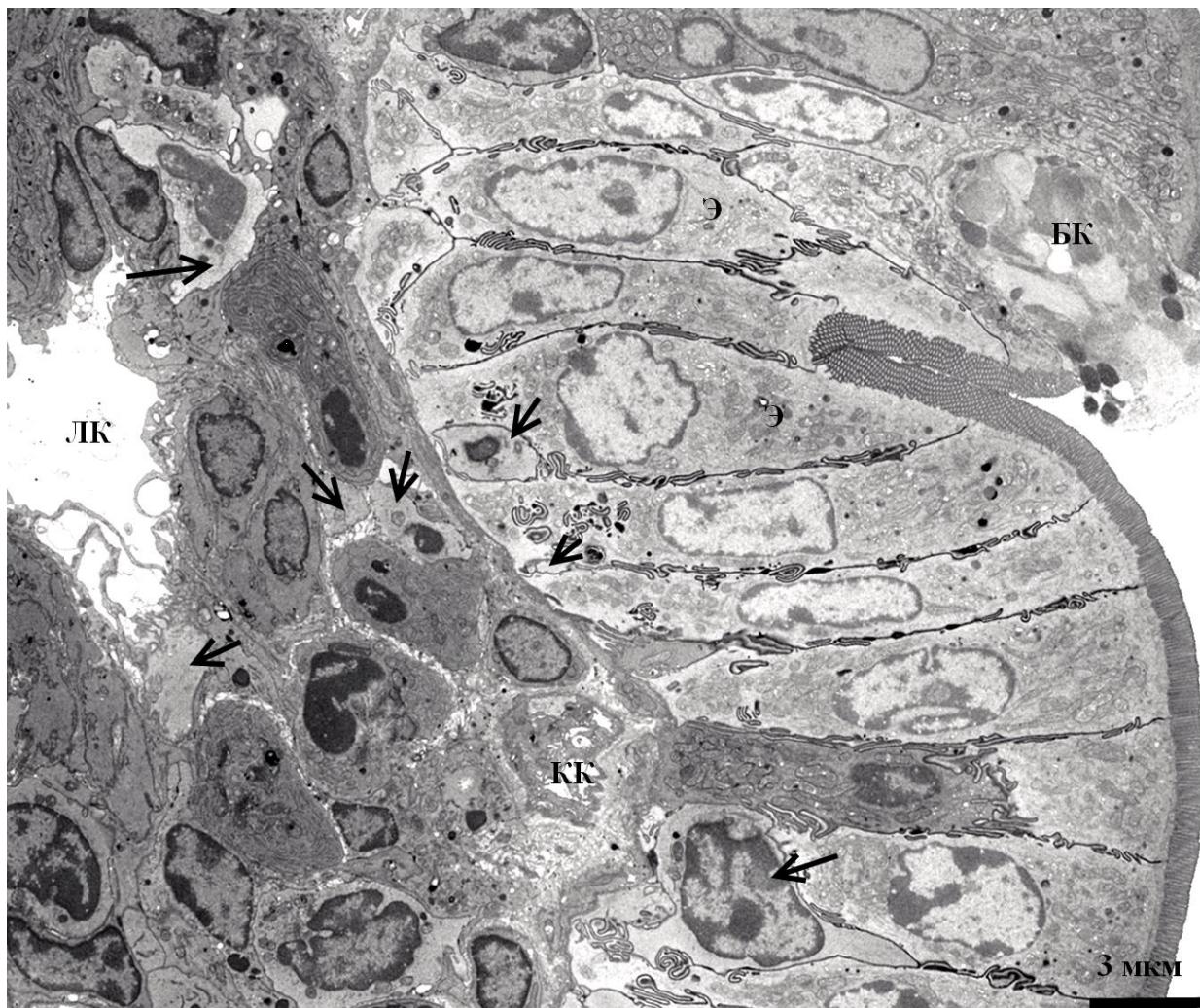


Рисунок 15 – Кишечная ворсинка через 45 минут после введения химуса.

СЭМ с детектором обратно рассеянных электронов, оборудованный внутренним ультратомом. Бар 3 мкм.

Э – энteroцит, БК – бокаловидная клетка, ЛК – лимфатический капилляр, КК – кровеносный капилляр, ↑ – дендритная клетка.

Таблица 2 – Морфометрическая характеристика структур комплекса Гольджи энteroцита кишечной ворсинки в контрольной группе и через 25 минут после введения химуса

№	Показатели	Контроль	Через 25 мин. после введения химуса
1.	Число цистерн (шт.)	5,6±1,2	5,8±0,8
2.	Диаметр цистерн (нм)	600±24	832±24*
3.	Ширина цистерн в центральной части (нм)	36±2,1	38±1,8
4.	Ширина расширений латерального края стопки	65±2,1	230±32*
5.	% мембран везикул	10±2,5	11±2,5
6.	% мембран тубул	30±2,5	41±2,5*
7.	% мембран цистерн	60±2,5	48±2,5*

Примечание: * – различия с контрольными значениями статистически достоверны при $p \leq 0,05$.

Таблица 3 – Морфометрическая характеристика пальцевидных контактов базолатеральной части плазматической мембраны

№	Показатели	Контроль	Через 25 мин. эксперимента	Через 45 мин. эксперимента
1.	Длина контактирующей поверхности между двумя десмосомами (нм)	715±20	763±20	686±20
2.	Длина проекции контакта на БЛПМ (нм)	130±6	165±6*	230±11*
3.	Ширина контактной щели (нм)	40±0,3	80±0,3*	120±0,3*

Примечание: * – различия с контрольными значениями статистически достоверны при $p \leq 0,05$.

Таблица 4 – Морфометрическая характеристика липидных частиц во время трансцитоза

№	Время эксперимента	5 мин.		10 мин.		25 мин.	
		Локализация	Кол-во (ед. на срез)	Диаметр (нм)	Кол-во (ед. на срез)	Диаметр (нм)	Кол-во (ед. на срез)
1.	ГЭР	3,2±0,6	50±12	5,3±0,6*	53±11	-	-
2.	Цис-КГ	-	-	6,1±0,5	52±11	2,3±0,2*	58±11
3.	Транс-КГ	-	-	-	-	35±7*	86±15*
4.	Межконтактная щель	-	-	-	-	12,7±0,6*	88±15

Примечание: * – различия статистически достоверны при $p \leq 0,05$ через 10 мин. эксперимента по сравнению с 5-ю мин.; через 25 мин. для показателя диаметр частиц по сравнению с 10-ю мин., остальные показатели – по сравнению с предыдущим этапом транспорта.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Транспорт липидов через эпителий кишечной ворсинки можно условно разделить на следующие этапы: поглощение низкомолекулярных липидов из просвета кишки в энteroцит и доставка в ЭР; образование незрелых хиломикронов (прехиломикронов) внутри просвета ЭР; транспорт ХМ через КГ; секреция ХМ во внеклеточное пространство между соседними энteroцитами; транспорт в интерстиций собственной пластиинки кишечной ворсинки.

Поглощение низкомолекулярных липидов из просвета кишки в энteroцит и доставка в ЭР. В первых электронно-микроскопических исследованиях транспорта липидов из просвета тонкой кишки [292] были описаны липидные капли, которые скапливаются в апикальной части цитоплазмы. Тогда были высказаны предположения, что липиды транспортируются в энteroцит с помощью эндоцитоза. Скопление липидных капель в апикальной части цитоплазмы было обнаружено и в более ранних исследованиях [5]. Возможность эндоцитоза продолжает обсуждаться [159].

Существуют как минимум две гипотезы всасывания липидов из просвета кишки в энteroцит. Согласно первой гипотезе это осуществляется мембранными переносчиками (везикулами и / или кавеолами). В частности, Palay S.L. and Karlin L. (1959) обнаружили маленькие жировые капли (максимальный диаметр 65 мкм) в щеточной каемке энteroцита через 20 мин. после липидной нагрузки. В то же время жировые частицы были видны внутри пиноцитозных пузырьков непосредственно в соседней терминальной сети, причем все внутриклеточные жировые капли были свободно обернуты в тонкую мембрану, внешняя поверхность которой иногда покрыта тонкодисперсным компонентом цитоплазмы. Наличие указанной оболочки позволило авторам предположить, что она сформировалась из клеточной мембраны в ходе пиноцитоза [198].

Существует предположение, что мембранным белком, способствующим поглощению жирных кислот, является кавеолин. Он способен вовлекать белок CD36 в кавеолы, что, предположительно, может усиливать поглощение жирных кислот через CD36 [199].

Однако несмотря на то, что исследователями были обнаружены скопления округлых осмиофильных структур в апикальной части плазмолеммы, в данных работах отсутствует электронно-микроскопическое подтверждение переноса липидов кавеолами или везикулами.

В нашем исследовании мы не обнаружили осмиофильных частиц в апикальной зоне энтероцита ни на одном из сроков эксперимента. Также не были зарегистрированы инвагинации, клатриновые почки, клатриновые везикулы и электронно-плотные участки плазмолеммы с характерным клатриновым покрытием, а также кавеолы с осмиофильным содержимым.

Поскольку триацилглицерин плохо растворим в мембранах (около 2%) [109, 159], диацилглицерин может выйти или в просвет ЭР, как субстрат для образования ПрeХМ, или в цитозоль, как компонент липидных капель [153, 274]. Биогенез липидных капель и их возможное формирование в энтероците продолжает обсуждаться [23, 159]. Тем не менее, мы можем предположить, что обнаруженные авторами округлые осмиофильные образования обусловлены высокой липидной нагрузкой на энтероцит, что было показано в ранее проведенных исследованиях [5].

В нашей работе мы применили модель «синхронизации транспорта» липидов, в которой использовалась инфузия химуса начального отдела тонкой кишки крысы донора. В условиях исключения избыточной «липидной нагрузки» нам не удалось обнаружить ни мембранных почек на апикальной части плазматической мембраны, ни кавеосом в субапикальной зоне цитоплазмы энтероцита, что позволяет говорить о низкой вероятности переноса липидов с помощью кавеол, как предполагалось авторами.

В последние годы, в связи с расшифровкой молекулярных механизмов транспорта, была выдвинута гипотеза о возможности поглощения

низкомолекулярных липидов путем диффузии [106, 107, 108, 211, 280] и / или облегченной диффузии в наружный липидный слой плазматической мембраны энteroцита [17, 73, 125, 151, 289]. В настоящее время считается, что белково-опосредованная система поглощения жирных кислот является доминирующим средством, с помощью которого жирные кислоты поглощаются мембранными белками, связывающими жирные кислоты, то есть переносчиками жирных кислот на апикальной мембране энteroцитов [263]. Было идентифицировано большое количество переносчиков жирных кислот, которые облегчают их поглощение клеткой [186]. Это белки ABC-транспортеры, ATP-азы P-типа, семейство Niemann-Pick типа C, (NPC-белки).

LXR-чувствительный фосфолипид-ремоделирующий фермент (Lpcat3) участвует в ремоделировании мембранных фосфолипидов энteroцитов, обеспечивая тем самым пассивную диффузию длинноцепочечных жирных кислот, а также облегчает перенос липидов в белок MTRP для последующей инициации образования липопротеинов [50, 87].

Облегченная диффузия низкомолекулярных липидов может осуществляться несколькими белками. Во-первых, белком FABPpm, связанным с плазматической мембраной, который присоединяется к внешнему монослою ПМ и участвует в связывании жирных кислот с мембранами микроворсинок [255]. Во-вторых, мембранным липидсвязывающим белком CD36, который имеет большой внутренний туннель [149], что позволяет перемещать длинноцепочечные ЖК [40] и окисленные липопротеины низкой плотности [258]. В-третьих, рецептором-мусорщиком класса В типа I (SR-B1), имеющим строение, сходное с CD36, находящимся в ПМ и способным связывать химически модифицированные липопротеины [144].

Таким образом, ЖК могут перемещаться вдоль ПМ латеральной диффузией или с помощью белка-переносчика.

Дополнительным доказательством транспорта ЖК из просвета кишки в ПМ энteroцита диффузией, а также их перемещения по плазматической мембране стал использованный нами протокол контрастирования образцов ОТОТО, который позволил визуализировать концентрацию липидов в наружном листке ПМ микроворсинки энteroцита. При этом, мы также не наблюдали скопление липидов в субапикальной зоне. Этот факт служит дополнительным доказательством низкой вероятности эндоцитоза липидов в энteroците кишечной ворсинки, по крайней мере, при небольших объемах их всасывания.

Впервые осмиофильные «капли» липидов появляются в просвете цистерн ГЭР, расположенных около плотного соединения между соседними энteroцитами через 5 минут после введения химуса в просвет кишки.

Цистерны гладкого ЭР, содержащие электронно-плотные частицы, нами были обнаружены в непосредственной близости от плотного соединения (*zonula occludens*), расположенного сразу ниже основания микроворсинки на базолатеральной части ПМ. Данное соединение представляет собой сплошной пояс шириной около 0,2 мкм, имеющий на всем протяжении участки слияния наружных слоев ПМ. Поэтому плотное соединение создает «барьер» латеральной диффузии холестерина и жирных кислот по наружному листку плазмолеммы. Однако низкомолекулярные липиды из наружного листка могут транспортироваться на цитозольный листок плазмолеммы, а оттуда – на мембрану ГЭР.

Это предположение подтверждается регистрацией на электронограммах цистерн ГЭР с липидными каплями в просвете в непосредственной близости от плотного контакта. При этом, несмотря на очень близкое расположение мембран ГЭР и ПМ, ни одной зоны их слияния или мембранных структур-переносчиков между ними не зарегистрировано. На всех фотографиях их разделял слой цитоплазмы не менее 10 нм. Поэтому можно заключить, что в данном случае транспорт липидов с ПМ на

мембрану ГЭР опосредован одной из невезикулярных транспортных систем клетки [32, 33, 48, 202, 253, 277].

Роль транспортеров липидов с ПМ в ЭР могут играть два цитоплазматических белка семейства FABP – FABP1 (или FABP печени) и FABP2 (или FABP кишечника). FABP2 способен связываться с ПМ и единовременно присоединять одну ЖК. FABP1 связывает две ЖК и способен распознавать широкий спектр лигандов [92, 246]. Описаны и другие возможные транспортеры, но их роль в транспорте липидов до конца не изучена.

Транспорт прехиломикронов из ЭР через комплекс Гольджи к базолатеральной части плазматической мембраны.

На первой стадии образования прехиломикрона триацилглицерин связывается в просвете ЭР с АроB48 (аполипопротеином B) [281]. При этом в цистернах ШЭР липидные частицы не обнаруживаются, а цистерны гладкого и шероховатого ретикулюма связаны между собой. В просвет цистерны ГЭР триацилглицерин перемещается с помощью МТТР [209, 293].

На следующем этапе АроA-IV добавляется к поверхности частицы, содержащей АроB48, что позволяет сформировать более крупную частицу. Считается, что АроA-IV стабилизирует и / или поддерживает поверхность прехиломикронов в ЭР, обеспечивая дополнительное липидирование ядра.

Если молекулярные механизмы образования ПрЕХМ в целом понятны, то о молекулярных механизмах, участвующих в транспорте ХМ через КГ, известно немного. При этом основные гипотезы часто экстраполируют данные о механизмах секреции белков через КГ на модели транспорта липидов.

В большинстве гипотез транспорта липидов через КГ принимается, что ХМ транспортируются СОPII-производными везикулами. Sabesin S.M. and Frase S. (1977) подтвердили, что липидные частицы, образующиеся в ЭР, могут выходить из ЭР и транспортироваться к КГ [224].

Действительно, секреторные белки концентрируются на мембране ЭР с помощью так называемых белков покрытия СОРИ, которое концентрирует также рецепторы и другие белки, а также, сворачивая мембрану в сферическую конструкцию, формирует транспортер для переноса грузовых молекул из цистерн ЭР в КГ [26, 226]. Транспортер формируется на определенных участках, сайтах выхода из ЭР (ERES, ER exit сайты).

Тем не менее, мы не обнаружили выходные сайты ни на мембранах ШЭР, ни на цистернах ГЭР, в том числе и содержащих ПрeХМ. Эти факты подтверждают мнение ряда авторов, что транспорт ПрeХМ из ЭР в КГ СОРИ-независимый [12, 56, 236].

Процесс образования СОРИ-каймы на ЭР начинается с присоединения к мембране специального адапторного белка Sar1. Не ясен механизм участия СОРИ в транспорте ПрeХМ, однако многочисленные исследования показывают несомненную роль Sar1 в перемещении липидов из ЭР в КГ. Так, при экспрессии клетки Sar1b в клетках Caco-2 и McArdleRH7777, секretируется большее количество ApoB48 и ApoB100, а также формируются хиломикроны больших размеров [84, 119, 142, 143].

Существует два паралогических белка, Sar1a и Sar1b с гомологией 91% [116]. Функциональные различия между этими белками не изучались [131]. Однако было показано, что только мутация гена SAR1B приводит к болезням накопления липидов. Предполагается, что белок Sar1b позволяет сформировать СОРИ-производные везикулы больших размеров, чем Sar1a, в большей степени уменьшая жесткость мембранны [117, 267].

Еще одна особенность транспорта ПрeХМ между ЭР и КГ в том, что он независим от GTP [215], который необходимыми для образования СОРИ-производных везикул [28, 58].

Для процесса образования СОРИ, вероятно, необходим белок ApoB48, который добавляется во время образования каймы будущего переносчика ПрeХМ. Это предложение подтверждается исследованиями, показывающими связь Sar1b, Sec23, и Sec24C с ApoB48 [236] и неспособность белков

покрытия СОРИI формировать прехиломикрон-транспортирующие везикулы на мемbrane ЭР после того, как АпрB48 был удален из последней.

На клетках McA-RH7777 было показано присутствие липопротеинов высокой плотности в СОРИI-производных везикулах [104]. Тем не менее, диаметр ХМ составляет более 90 нм, что ставят под сомнение возможность СОРИI-производных везикул транспортировать ПрeХМ и липопротеины очень низкой плотности, т. к. у млекопитающих диаметр СОРИI-производных почек и СОРИI-производных везикул составляет 65-80 нм [184].

Крупномолекулярные белковые агрегаты, например, проколлаген, встраиваются в цистерну КГ с помощью комплекса белков покрытия СОРИI [237] и с участием белкового комплекса TANGO1 [262].

Поэтому было высказано предположение, что перенос ПрeХМ из ЭР к КГ осуществляется СОРИI-производными «мегавезикулами» (прехиломикрон-транспортирующими везикулами) диаметром 250 нм [56, 235].

Интересно, что белок L-FABP *in vitro* способен генерировать «мегавезикулы» из мембран ЭР энteroцитов без каких-либо цитозольных белков, участвующих в секреторном транспорте [56]. Однако такие переносчики не могли сливаться с мембранами КГ. Вероятнее всего L-FABP является ключевой молекулой в биогенезе прехиломикрон-транспортирующих везикул, однако в многоступенчатом процессе переноса ХМ из ЭР в КГ необходимы и другие белки [160].

В образовании «мегавезикул», как считают авторы, принимают участие белки TANGO1 и Mia2/cTAGE5 (TALI), участвующие в перемещении крупных молекулярных конгломератов из ЭР в КГ в клетках млекопитающих [261].

Возможная роль «мегавезикул» в транспорте ПрeХМ от ЭР к КГ продолжает обсуждаться [59, 156]. Имеются сведения о наличии в фибробластах агрегатов проколлагена I, формирующих структуру длинной до 300 нм, которые образуются внутри просвета цистерн ЭР. [78, 177, 206].

Транспортер достаточно большого размера может сформироваться COPII-покрытием и с участием субъединицы Sec31 и белков TANGO [286].

Показано, что белок TANGO1 связывает TALI, и оба взаимодействуют с ApoB и необходимы для рекрутирования ApoB-содержащих липидных частиц в места выхода ЭР для их последующего экспорта. Хотя экспорт ApoB требует функции как TANGO1, так и TALI, экспорт проколлагена XII теми же клетками требует только TANGO1. Эти результаты показывают общую роль TANGO1 в экспорте негабаритных грузов из ЭР [261].

Однако в нашем исследовании мы не обнаружили морфологических доказательств формирования «мегавезикул» для транспортировки ПрeXM. Ни на одном из срезов трансмиссионной электронной микроскопии, ни на срезах, полученных электронно-микроскопической томографией мы не наблюдали изолированных мегавезикул, а также почек, покрытых COPII и содержащих осмиофильное вещество, что подтверждает гипотезу о независимом от COPII-производных везикул выходе ПрeXM из ЭР [12, 56].

В транспорте липопротеидов очень низкой плотности показана роль еще одного адапторного белка – ARF1 [124]. В культуре клеток с отрицательно доминирующим мутантом ARF1 образование липопротеидов очень низкой плотности (ЛОНП) уменьшается, а липопротеидов, богатых триглицеридами, повышается. И наоборот, в случае избыточного давления ARF1 секреция ЛОНП возрастает [231].

Белок ARF1 участвует в образовании COPI-покрытия, которое в свою очередь приводит к формированию 52 нм COPI-производных везикул [183]. Коатомер I (COPI) встречается в пределах всей стопки КГ, но чаще со стороны цис-полюса. Его функция определяется авторами в зависимости от принятия им той или иной модели транспорта через КГ [81]. На сегодняшний день не вызывает сомнения ключевая роль белков покрытий в транспорте липидов, которая в основном, сводится к формированию транспортных переносчиков на разных этапах секреторного транспорта, однако интерпретации этой роли продолжают обсуждаться.

При многоэтапном внутриклеточном транспорте возникает необходимость в обеспечении адресного слияния мембран секреторного пути с мембранным переносчиком грузовых молекул. Эту роль выполняет особый класс трансмембранных белков – SNARE белки. Было показано, что для слияния везикул, содержащих ПрeХМ, с КГ необходимо присутствие SNARE-комплекса, представляющего собой VAMP7 в качестве R-SNARE, а также синтаксина 5, rbet1 и vtila в качестве Q-SNARE [290]. Хотя VAMP7 в клетках млекопитающих обычно локализуется в эндосомах и является преимущественно пост-Гольджи белком [99, 178, 290], в кишечнике он уникально присутствует в ЭР. Ингибирование антителами VAMP7 или нарушение работы гена приводит к прекращению продукции ПрeХМ [12].

Механизмы транспорта хиломикронов через комплекс Гольджи.

О процессе созревания ПрeХМ в КГ известно мало [200]. Однако их транспорт через КГ является обязательным, так как в этом компартменте клетки ПрeХМ меняют свой липидный состав, гликозилируются белки АроB48, включаются в состав ПрeХМ АроA1 и прочее [72].

Наши исследования показали, что через 25 мин. основной объем электронно-плотных частиц наблюдается на транс-полюсе КГ. При этом количество электронно-плотных частиц в цистернах КГ на транс-полюсе органеллы почти в 2 раза выше, чем на цис-полюсе. То есть мы наблюдаем концентрирование липидных частиц в просвете цистерн стопки от цис- к транс-полюсу. Через 45 мин. все липиды покидают стопку.

На сегодняшний день обсуждаются несколько моделей секреторного транспорта, однако чаще всего принимается, что ХМ транспортируются через КГ везикулярными переносчиками.

«Везикулярная» модель, предложенная Дж. Палладе, предполагает, что цистерны после их формирования существуют постоянно, а транспортируемые молекулы перемещаются от цистерны к цистерне заключенными в мелкие транспортные везикулы [196]. Роль транспортеров отводилась COPI- и COPII-производные везикулам.

Попытка экстраполяции наших данных на существующие модели секреторного транспорта показала, что нет морфологических доказательств переноса ХМ через КГ COPI-производными везикулами. В структуре КГ энteroцита около 10% мембран приходится на округлые дискретные мембранные профили диаметром 60-100 нм – COPI-производные везикулы, которые формируются на латеральном крае стопки при полимеризации на мембране цистерн белков COPI-покрытия. Ключевым фактором для полимеризации покрытия является малая ГТФаза – белок ARF, без которого невозможно образование везикулы. Блокирование функций ARF-белка снижает или блокирует транспорт ХМ [231]. Так у нокаутных Arfrp1-мышей наблюдалось резкое снижение высвобождения липидов из кишечного эпителия в лимфу и кровь, а также выраженная задержка роста животных из-за снижения абсорбции жира [25] и накопление в КГ белка АроAI. При этом усвоение жирных кислот, а также образование и созревание ПрeХМ на первом этапе, проходящем на уровне мешочеков ЭР, не менялось.

Достаточно большие размеры ХМ (до 300 мкм), значительно превышающие диаметр 50-60 нм COPI-производных везикул, также не дают оснований предполагать их непосредственного участия в транспорте липидов через стопку КГ в качестве транспортных переносчиков. Мы также не обнаружили дискретных округлых мембранных профилей, а также мембранных почек, содержащих электронно-плотный материал в зоне КГ.

Имеет противоречия и классический вариант модели «прогрессии и созревания цистерн». Согласно данной модели [135], белки, попав в просвет цистерны на цис-стороне стопки, перемешаются вдоль стопки, не покидая просвета этой цистерны. По мере передвижения от цис- к транс-полюсу белки постепенно «созревают». При этом новые цистерны формируются на цис-стороне стопки из прибывающих к КГ мембранных транспортеров, тогда как на транс-стороне стопки из последней цистерны формируются переносчики, несущие грузовые молекулы к ПМ. В данной модели везикулам

отводилась роль транспортных переносчиков ферментов, что обеспечивает поэтапное созревание цистерн.

Основным противоречием модели «созревания и прогрессии» применительно к транспорту липидов стали данные, демонстрирующие концентрацию ХМ в процессе их прохождения от цис- к транс-полюсу стопки КГ, механизм которого, на сегодняшний день, сложно объясним.

В отличие от предыдущих моделей, «kiss-and-run» - модель или модель «слияния и последующего разделения» компартментов [173, 175, 176], имеет потенциал, чтобы объяснить большинство существующих данных о транспорте ХМ через стопку КГ. Модель была предложена для объяснения механизмов транспорта белков через КГ в клетках млекопитающих А. А. Мироновым совместно с Г. В. Безнусенко (2012, 2013) и основывается на механизме неполного слияния мембран [172, 176].

Данная модель предполагает, что во время транспорта белков соседние компартменты КГ попарно соединяются тонкими 30-нм трубочками. Образование и разрыв трубочек обеспечивают COPI-производные везикулы, которые контролируют «kiss-and-run» или механизм неполного слияния мембран. Временное объединение двух цистерн в одном месте с последующим разделением в другом позволяет обеспечить перемещение и концентрацию транспортируемых грузов по мере прохождения через стопку. Если «грузовая» область транспортирует макромолекулы (например, проколлаген), то транспортеры не встраиваются в стопку КГ, а продвигаются вдоль стопки, сливаясь с дистальной цистерной и отделяясь от проксимальной.

Показано, что для окончательной сборки ХМ необходимо взаимодействие белков, участвующих в образовании COPI-покрытия, белков матрикса и Rab-белков-рецепторов [113, 216, 221]. При этом активность COPI является обязательным условием транспорта [155]. В «kiss-and-run» - модели COPI-везикулы являются морфологической основой механизма неполного слияния мембран, который необходим для восстановления-разобщения

SNARE-комплекса, позволяющего формировать временные тубулярные соединения между цистернами КГ.

Запуск механизма слияния везикул осуществляется ионами кальция, которые выходят из ближайшей цистерны ЭР. Это приводит к присоединению цитозольной фосфолипазы А₂ к мембранам пластинчатого комплекса [259]. Данный фермент катализирует отщепление одной цепи жирных кислот от фосфатидиловой кислоты и повышает чувствительность мембраны к обычной концентрации кальция в цитозоле. Более того, равновесие между образованием и слиянием пузырьков смещается в пользу их слияния. При слиянии с цистерной КГ COPI-производной везикулы, несущей на мемbrane часть Q-SNARE (membrin, GOS28), на мемbrane КГ восстанавливается SNARE-комплекс, что приводит к слиянию соседних мембран комплекса Гольджи между собой. Цистерны, объединяясь между собой, оказываются связанными тонкими мембранными трубочками.

Фосфолипаза-2 позволяет осуществить дополнительное слияние между доменом, содержащим транспортируемые белки, и средним компартментом КГ за счет повышения чувствительности мембран к ионам кальция. При этом количество везикул уменьшается, так как равновесие смещается в сторону поглощения везикул.

В медиальном компартменте КГ важную роль играет цитозольный SNARE-белок Ykt6, который встраивается в мембрану органеллы, ацетилируется и, в дальнейшем, участвует в слиянии транспортного переносчика с мембраной КГ.

Таким образом, транспортный переносчик встраивается сбоку в стопку КГ. После слияния двух последовательно расположенных компартментов запускается процесс, ведущий к разрыву тубулярного соединения между двумя предыдущими компартментами. При этом часть проксимального компартмента интегрируется в дистальный. Длина последнего увеличивается.

После того, как транспортируемый домен оказывается ближе к транс-полюсу КГ, для него становится возможным слияние, с, так называемым, эндосомальным тубулярным транс-сплетением. При этом транс-сплетение перемещается к транс-полюсу КГ и из него формируется последняя цистерна органеллы – транс-цистерна. Она, в отличие от цис- и медиальных цистерн, имеет отличительную особенность – содержит мембранные почки, покрытые клатрином. Если транспорт через цистерну отсутствует, этой цистерны на пластиинчатом комплексе нет. При этом самая последняя медиальная цистерна органеллы прикрывается цистерной ЭР. Данная закономерность была нами также показана в отсутствии липидной нагрузки после 24-часового голодания животных.

При возобновлении транспорта через стопку КГ, транс-сплетение присоединяется к медиальной цистерне органеллы, оттесняя цистерну ЭР. Оно содержит клатриновые почки и местами тоже прикрыто цистерной ЭР. Видимо, при оттеснении цистерны ЭР от стопки происходит резкое увеличение выброса из ЭР ионов кальция, что потенцирует слияние транспортного переносчика, несущего с грузовыми молекулами, с транс-сплетением КГ.

Это слияние определяется сменой SNARE-белков, которые фиксируют транспортный переносчик на транс-полюсе стопки. Здесь переносчик освобождается от ферментов гликозилирования и направляется к ПМ [172].

Таким образом, для объяснения транспортировки агрегатов ХМ через КГ наибольшую состоятельность, на наш взгляд, имеет «kiss-and-ran» - модель, которая напоминает модель «созревания и прогрессии цистерн», но объясняет роль временных тубулярных соединений между ЭР и цис-Гольджи, а также между компартментами КГ. Кроме того, модель позволяет объяснить роль COPI-производных везикул, в частности их необходимое участие в секреции ХМ при небольшом количестве в структуре КГ. COPI-везикулы, регулируя процесс формирования/разделения тубулярных соединений между соседними мембранами КГ, обеспечивают формирование

белковых, липидных и концентрационных градиентов вдоль стопки, а также способны блокировать транспорт через КГ [233].

Роль межклеточных контактов и цитоскелета энteroцита в трансцитозе хиломикронов.

О возможных механизмах выхода ХМ из зоны пальцевидных контактов энteroцита к собственной пластинке слизистой оболочки тонкой кишки известно немного.

Трансцитоз липидов представляет собой сложный многоступенчатый процесс. На начальном этапе всасывания липидов важную роль играют микроворсинки, которые не только увеличивают площадь поверхности клетки, но и, сокращаясь, способствуют продвижению липидов по плазматической мембране от «щеточной каемки» к базолатеральной части. Нами было показано, что на начальном этапе всасывания липидов происходит уменьшение длины микроворсинки одновременно с увеличением ее диаметра по сравнению с контролем. Морфологическую основу этого процесса обеспечивает сложно организованный цитоскелет микроворсинки.

Центральная часть цитоскелета микроворсинки формируется актиновыми микрофиламентами и взаимодействующими с ними белками. Она закреплена в апикальной сети актомиозина и промежуточных филаментов, так называемой терминальной сети энteroцита [203]. В ядре микроворсинки актиновые филаменты связаны в пучок белками эспином, фирмбрином и, апикально, виллином [167], которые сшивают и стабилизируют актиновые волокна [264]. Фимбрин, увеличивает жесткость и порядок расположения микроворсинок [61]. В его отсутствии микроворсинки становятся короче и имеют менее упорядоченное «ядро» [204]. Виллин и фирмбрин связываются с разными доменами F-актина и могут работать совместно [254, 266]. Тем не менее, при удалении данных белков структура микроворсинки меняется незначительно, что указывает на их возможную компенсацию другими, к настоящему времени неизвестными, молекулами [187].

Микроворсинка укорачивается и нарушается ее архитектура при отсутствии белка Crb3 и апикального белка ERM-эзрина, сшивающего актин с апикальной мембраной энteroцита, что указывает на их роль в формировании и стабилизации [225] щеточной каемки [62], хотя основные механизмы остаются неясными [101].

Микрофиламенты поддерживают пальцевидную форму апикальной части плазматической мембраны благодаря спиральной системе мембранны-микрофиламентных связей.

Терминальная сеть энteroцита состоит из филаментозного материала и цитоскелетной сети, связанной с соединительными комплексами клетки. В ней выявляются белки миозин и диедрин [179]. Keller T. C. et al. (1985) исследовали роль миозина в сокращении терминальной сети и предположил существование, по меньшей мере, двух разных подмножеств миозина [223]. Benesh A.E. et al. (2010) показали, что миозин-1а связывает актин с апикальной частью плазматической мембраны энteroцита [71] и обеспечивает скольжение мембраны микроворсинки вдоль пучков актина [168].

Таким образом, в терминальной сети энteroцита формируется сложный комплекс цитоскелетных и сократительных белков, взаимодействие которых обеспечивает сокращение микроворсинки, что может способствовать продвижению липидов вдоль апикальной части плазматической мембраны.

Через 45 мин. после начала всасывания большинство липидов скапливается между сложными пальцевидными контактами, над и под базальной мембраной. Продвижение липидов из зон пальцевидных контактов к базальной мембране способствует сложно организованный комплекс контактов базолатеральной части плазмолеммы и цитоскелета клетки. Мы подтвердили данные Krndija D. et al. (2019), которые продемонстрировали иммуно-флюоресцентным анализом акцино-миозиновую «манжетку» вдоль базо-латеральной поверхности плазмолеммы [18]. Нами были обнаружены

пучки тонких филаментов, расположенных между десмосомами, ограничивающими пальцевидный контакт.

Во время трансцитоза липидов ширина межконтактной щели, заполненной осмиофильными частицами, увеличивается, по сравнению с контролем, в два раза на 25-й минуте эксперимента и в три раза на 45-й минуте. Одновременно длина латеральной проекции пальцевидных контактов на базолатеральную поверхность ПМ энтероцита возрастает приблизительно в 1,5 раза через 25 мин. после начала всасывания и почти в два раза через 45 мин. после начала всасывания. Следует отметить, что указанные изменения становятся более выраженным в направлении базального полюса энтероцита. При этом длина контактирующих поверхностей в пальцевидном контакте между соседними десмосомами не меняется. Это свидетельствует о том, что десмосомы не только обеспечивают прочность монослоя, связывая в единую сеть тонкие филаменты соседних энтероцитов, но и, вплетаясь в тонкие филаменты клетки, предотвращают «перенаполнение» липидами межклеточной щели и повреждение монослоя. Наши наблюдения позволяют предположить существование некоторого механизма, «выдавливающего» липиды из зоны интердигитирующих контактов к базальной мембране энтероцита, который может обеспечиваться сокращением пучков актиновых микрофиламентов.

Нагнетаясь в пространстве между энтероцитом и базальной мембраной, липиды создают давление, способствующее дальнейшему их продвижению.

Наши исследования показали, что у крыс после 24-часового голодания, базальная мембрана представлена тонкой полоской однородного аморфного вещества средней электронной плотности. Фенестры в мембране встречались редко, тем не менее, в зонах фенестр регистрировались клетки иммунной системы. Рядом авторов было высказано предположение, что фенестры тонкой кишки связаны с регуляцией всасывания питательных веществ, в частности липидов, из межклеточного пространства эпителия к собственной пластинке слизистой оболочки, что было продемонстрировано увеличением

количества и размера фенестр базальной мембранны после кормления животных [74].

Мы нашли морфологические доказательства участия клеток иммунной системы в процессе всасывания липидов. В эксперименте мы регистрировали скопления липидов над и под базальной мембраной, а также в просвете пор вместе с отростками дендритных клеток, которые были идентифицированы нами на основе ультраструктурных критериев [64].

Таким образом, изученные нами особенности строения энteroцита в отсутствии и во время транспорта липидов из просвета кишки в собственную пластинку кишечной ворсинки позволяют говорить о существовании некоторого насосного механизма, способствующего продвижению липидов через эпителий кишки и их нагнетанию в строму ворсинки.

Транспорт липидов через базальную мембрану в собственную пластинку кишечной ворсинки.

На следующем этапе ХМ должны преодолеть базальную мембрану, лежащую на границе эпителиального слоя и собственной пластинки кишечной ворсинки [141]. Ранее было высказано предположение [74], что ХМ проходят через фенестры, предназначенные для мигрирующих клеток иммунной системы. А также было показано, что количество и размер фенестр увеличивается в тощей кишке животных после кормления, что может быть связано с регуляцией всасывания питательных веществ [74, 140, 260].

Действительно, после 24-часового голодания у крыс поры в базальной мембране регистрируются редко. Напротив, через 45 минут после введения химуса мы наблюдаем многочисленные поры с липидами в просвете, в части из которых обнаруживаются цитоплазматические отростки клеток с ультраструктурой, характерной для дендритных клеток, описанных ранее в литературе [1].

Долгое время не было известно о существовании дендритных клеток в эпителии кишки, и их принимали за лимфоциты [220]. Однако

ультраструктура «светлых» клеток в составе эпителия и лимфоцитов имеет различия. Цитоплазма дендритных клеток относительно бедна органеллами, а их отростки образуют плотные соединения с энтероцитами [64], которые также были нами продемонстрированы.

Известно, что дендритные клетки вовлечены в перенос бактерий через кишечный эпителий [64, 217]. При этом они легко открывают плотные соединения между энтероцитами, синтезируя белки плотных соединений CD11b и CD8a, CX3CR1 [63], и проникают своими отростками в просвет кишки, не нарушая при этом целостности эпителиального пласта.

Таким образом, базальная мембрана представляет собой образование, которое обеспечивает динамическое взаимодействие между эпителиальным слоем и собственной пластинкой, хотя обычно считается жесткой структурой, действующей в качестве барьера [141].

Проходя через базальную мембрану, ХМ оказываются в основном веществе собственной пластиинки слизистой оболочки, между ее клетками, вокруг кровеносных и лимфатических капилляров. После появления ХМ в интерстиции, последний растягивается. Это вызывает сокращение гладкомышечных клеток кишечной ворсинки [281].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом, проведённое нами исследование позволяет представить транспортный путь липидов через эпителиальный пласт кишечной ворсинки следующим образом.

При движении из полости кишки в собственную пластиночку липиды преодолевают целый ряд барьеров, основными из которых являются: плазматическая мембрана микроворсинки энteroцита (апикальная часть плазматической мембраны энteroцита), гладкий эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи, базолатеральная часть плазматической мембраны энteroцита, базальная мембрана кишечного эпителия. В соответствии с данными структурами транспорт липидов через кишечный эпителий можно разделить на этапы.

На первом этапе липиды из полости тонкой кишки попадают в бислой апикальной части плазматической мембраны энteroцита путем диффузии. Сокращение филаментов терминальной сети микроворсинок энteroцита обеспечивает течение липидов до плотного контакта, который препятствует дальнейшему их движению в клеточной мембране. Липиды выходят из бислоя плазмолеммы и направляются в ГЭР, цистерны которого располагаются в непосредственной близости от плотного контакта. Продолжительность данного этапа составляет 5 минут.

На втором этапе липиды с помощью белков-переносчиков перемещаются в цистерну ГЭР, ресинтезируются, получая комплекс белков, прежде всего ApoB48, и транспортируются в стопку КГ. Наше исследование показало, что перемещение ПрeХМ, сформировавшихся в ГЭР происходит без участия СОPII-производных везикул, а также иных дискретных переносчиков. Мы обнаружили, что структуры, содержащие липиды, соединены с цистернами ГЭР и КГ тонкими мембранными трубочками. Липиды встречаются в цистернах гладкого ЭР и первых цистернах КГ на цис-полюсе органеллы через 10 минут от начала эксперимента.

Третий этап транспорта соответствует перемещению хиломикронов через стопку КГ. По нашему мнению, наиболее вероятной моделью транспорта ХМ через КГ является модель «kiss-and-run». В ее основе лежит механизм «неполного слияния» мембран, который реализуют COPI-производные везикулы. Они, восстанавливая (при неполном слиянии) или разобщая (при отщеплении) комплекс SNARE-белков, способствуют встраиванию и постепенному перемещению переносчика с липидами вдоль стопки КГ. Слияние COPI-производных везикул с мембранами КГ приводит к образованию временных тубулярных соединений между компартментами стопки. При этом мембранный переносчик с хиломикронами никогда не остается полностью изолированным от цистерн КГ. Липиды встречаются на протяжении всей стопки КГ в латеральных расширениях цистерн, а также в пост-Гольджи переносчиках через 25 мин. от начала всасывания.

На четвертом этапе липиды проходят через базолатеральную часть плазматической мембраны и накапливаются в межклеточном пространстве пальцевидного контакта.

Пятый этап транспорта соответствует прохождению липидов через базальную мембрану эпителия тонкой кишки в интерстиций собственной пластинки кишечной ворсинки. Перемещение хиломикронов через базальную мембрану возможно благодаря порам, которые формируются отростками дендритных клеток. Накопление липидов в пространстве пальцевидного контакта и выход их в интерстиций собственной пластинки кишечной ворсинки происходит к 45-й мин. эксперимента.

Особую роль в транспорте липидов через эпителиальный пласт кишечной ворсинки играет комплекс межклеточных контактов энteroцита и цитоскелет клетки. В частности, плотный контакт, который располагается вблизи основания микроворсинки энteroцита, обусловливает переход липидов из бислоя плазмолеммы в цитоплазму. Десмосомы, расположенные между пальцевидными контактами, обеспечивают прочность эпителиального слоя и предотвращают чрезмерное накопление липидов в межклеточном

пространстве, а также способствуют объединению тонких филаментов цитоскелета соседних энteroцитов в общую сеть. Кроме этого, нами обнаружены пучки актиновых филаментов, расположенные вдоль базолатеральной части плазмолеммы и вплетающиеся в микрофиламенты десмосом. Мы полагаем, что подобное взаиморасположение элементов цитоскелета, связанных с межклеточными контактами, способно обеспечить сокращение участка клетки и выдавливание ХМ в сторону базальной мембранны.

Таким образом, в среднем через 45 мин., большая часть липидов попадает из полости тонкой кишки в собственную пластинку кишечной ворсинки.

ВЫВОДЫ

1. Ультраструктура кишечной ворсинки тонкой кишки крысы после 24-часового голодания, в том числе каемчатого энteroцита, имеет характеристики низкой функциональной активности.

2. Липиды транспортируются через эпителиальный слой кишечной ворсинки в течение 45 мин.: за первые 5 минут они достигают эндоплазматического ретикулюма; через 10 минут уже транспортируются из эндоплазматического ретикулюма в комплекс Гольджи; к 20-й минуте покидают стопку цистерн комплекса Гольджи; а через 45 минут регистрируются в собственной пластинке.

3. Поглощение липидов апикальной частью плазмолеммы происходит практически без эндоцитоза, транспорт незрелых хиломикронов из эндоплазматического ретикулюма в комплекс Гольджи – без формирования COPII-производных везикул.

4. Во время транспорта липидов через комплекс Гольжи наблюдаются: концентрация хиломикронов от цис- к транс-полюсу; формирование временных тубулярных соединений между компартментами стопки; отсутствие липидов в COPI-производных везикулах. Наиболее вероятной моделью транспорта хиломикронов через стопку является «kiss-and-run» - модель, основанная на механизме «неполного слияния» мембран.

5. Транспорт хиломикронов через базальную мембрану кишечного эпителия опосредован дендритными клетками, отростки которых, образуя с энteroцитом плотный контакт, проходят через базальную мембрану, формируя в ней поры.

6. Комплекс межклеточных контактов энteroцита, функционально связанных с элементами цитоскелета, лежит в основе «насосного механизма», обеспечивающего перемещение липидов через клетку и выдавливание хиломикронов из зоны межклеточных контактов в интерстиций собственной пластинки кишечной ворсинки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Протокол синхронизации транспорта липидов позволяет адекватно оценить временные характеристики транспортного пути на каждом этапе транспорта, и его использование дает возможность не только для детального изучения структур и молекулярных механизмов, но и для сравнения результатов разных групп исследователей, работающих по данной проблеме.
2. Электронно-микроскопический анализ высокого разрешения (включая электронно-микроскопическую томографию) необходим для доказательств дискретного или непрерывного характера транспортных механизмов молекул в клетке.
3. Метод усиления контрастирования по протоколу ОТОТО позволяет в электронно-микроскопических исследованиях визуализировать липиды в клеточных мембранах без специальной окраски, что может быть использовано для дальнейшего изучения механизмов транспорта липидов и его регуляции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

МТТР – белок-переносчик микросомального триглицерида, микросомальная триглицеридтрансфераза

БЛПМ – базолатеральная часть плазматической мембраны

ГЭР – гладкий эндоплазматический ретикулум

ЖК – жирные кислоты

ИДК – пальцевидные (интердигитирующие) контакты

КГ – комплекс Гольджи

ПМ – плазматическая мембрана, плазмолемма

ПреХМ – прехиломикрон, незрелый хиломикрон

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ТЭМ – трансмиссионная электронная микроскопия

ХМ – хиломикрон

ШЭР – шероховатый эндоплазматический ретикулум

ЭР – эндоплазматический ретикулум, эндоплазматическая сеть

CD36 (SR-B2 или FAT) – жирно-кислотная транслоказа

CIDEB (cell death-inducing DFF45-like effector B) – вызывающий гибель клеток DFF45-подобный эффектор B

COPI (coatomer protein I) – первый комплекс белков покрытия

COPII (coatomer protein II) – второй комплекс белков покрытия

FABP (fatty acid binding proteins) – белки, связывающие жирные кислоты

FATP4 (fatty acid transport protein 4) – протеин 4 транспорта жирных кислот

PCTV (prechylomicron transport vesicle) – прехиломикрон-транспортная везикула, «мегавезикула»

SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptors) – растворимые белки слияния мембран, опосредованного N-этималеимид-чувствительными рецепторами

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бобрышев, Ю. В. Дендритные клетки и их потенциальная значимость для иммунотерапии атеросклероза / Ю. В. Бобрышев, А. Н. Орехов. – Текст : непосредственный // Атеросклероз и дислипидемии. – 2013. – № 4. – С. 4–15.
2. Гайлите, В. Э. Пиноцитозный механизм транспорта ионов кальция и свинца в кишечном эпителии крысят в первые дни их жизни / В. Э. Гайлите, Р. Е. Андрушкайтэ. – Текст : непосредственный // Мембранные пищеварение и всасывание : тезисы докладов 3-го Всесоюзного симпозиума, Юрмала, 19–21 марта 1986 г. – Рига : Зинатне, 1986. – С. 30–32.
3. Зуфаров, К. А. Временная организация функционирования цитоплазматических структурных энтероцитов в процессе всасывания / К. А. Зуфаров, А. Ю. Юлдашев. – Текст : непосредственный // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1980. – Т. 78, № 6. – С. 76–83.
4. Зуфаров, К. А. Межсистемные и межорганные взаимоотношения в процессе всасывания / К. А. Зуфаров, А. Ю. Юлдашев. – Текст : непосредственный // Scripta medica. – 1980. – Т. 53, № 2. – С. 87–91.
5. Карелина, Н. Р. Морфогенез, микроскопическая анатомия и ультраструктура ворсинок тощей кишки (экспериментально-морфологическое исследование) : 14.00.02 : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Карелина Наталья Рафаиловна. – Москва, 1994. – 39 с. – Текст : непосредственный.
6. Карелина, Н. Р. Топографические особенности организации лимфатических капилляров и резорбции липидов в ворсинках тощей кишки белой крысы / Н. Р. Карелина, В. В. Камышова, В. В. Банин. – Текст : непосредственный // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1984 – Т. 87, № 11. – С. 53–61.
7. Комиссарчик, Я. Ю. Электронная микроскопия клеток и тканей / Я. Ю. Комиссарчик, А. А. Миронов. – Ленинград : Наука, 1990. – 143 с. – Текст : непосредственный.

8. Миронов, А. А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине : методическое руководство / А. А. Миронов, Я. Ю. Комиссарчик, В. А. Миронов. – Санкт-Петербург : Наука, 1994. – 400 с. – Текст : непосредственный.

9. Пестерева, Н. А. Ультраструктура лимфатических капилляров стенки тонкой кишки / Н. А. Пестерева. – Текст : непосредственный // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1981. – Т. 81, № 7. – С. 35–41.

10. Ультраструктурные основы процесса образования лимфы / Н. Р. Карелина, И. С. Сесорова, Г. В. Безнусенко [и др.]. – Текст : непосредственный // Морфология. – 2017. – Т. 151, № 2. – С. 7–19.

11. A genetic model for absent chylomicron formation: Mice producing apolipoprotein B in the liver, but not in the intestine / S. G. Young, C. M. Cham, R. E. Pitas [et al.]. – Text : direct // J. Clin. Invest. – 1995. – Vol. 96. – P. 2932–2946.

12. A novel multiprotein complex is required to generate the prechylomicron transport vesicle from intestinal ER / S. Siddiqi, U. Saleem, N. A. Abumrad [et al.]. – Text : direct // J. Lipid Res. – 2010. – Vol. 51. – P. 1918–1928.

13. A protein assembly-disassembly pathway in vitro that may correspond to sequential steps of synaptic vesicle docking, activation, and fusion / T. Söllner, M. K. Bennett, S. Whiteheart [et al.]. – Text : direct // Cell. – 1993. – Vol. 75. – P. 409–418.

14. A simple, rapid, and sensitive fluorescence assay for microsomal triglyceride transfer protein / H. Athar, J. Iqbal, X. C. Jiang [et al.]. – Text : direct // J. Lipid Res. – 2004. – Vol. 45. – P. 764–772.

15. A single copy of apolipoprotein B-48 is present on the human chylomicron remnant / M. L. Phillips, C. Pullinger, I. Kroes [et al.]. – Text : direct // J. Lipid Res. – 1997. – Vol. 38. – P. 1170–1177.

16. Abumrad, N. A. Role of the gut in lipid homeostasis / N. A. Abumrad, N. O. Davidson. – Text : direct // Physiol Rev. – 2012. – Vol. 92, № 3. – P. 1061–1085.

17. Abumrad, N. Membrane transport of long-chain fatty acids: evidence for a facilitated process / N. Abumrad, C. Harmon, A. Ibrahimi. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 1998. – Vol. 39. – P. 2309–2318.

18. Active cell migration is critical for steady-state epithelial turnover in the gut / D. Krndija, F. El Marjou, B. Guirao [et al.]. – Text : direct // *Science*. – 2019. – Vol. 365. – P. 705–710.

19. An in vitro system for the editing of apolipoprotein B mRNA / D. M. Driscoll, J. K. Wynne, S. C. Wallis [et al.]. – Text : direct // *Cell*. – 1989. – Vol. 58, № 3. – P. 519–525.

20. Analysis of the role of microsomal triglyceride transfer protein in the liver of tissue-specific knockout mice / M. Raabe, M. M. Veniant, M. A. Sullivan [et al.]. – Text : direct // *J. Clin. Invest.* – 1999. – Vol. 103. – P. 1287–1298.

21. Anderson, J. H. Scanning and transmission electron microscopic studies of jejunal microvilli of the rat, hamster and dog / J. H. Anderson, A. B. Taylor. – Text : direct // *J. Morphol.* – 1973. – Vol. 141, № 3. – P. 281–291.

22. ApoA-IV: current and emerging roles in intestinal lipid metabolism, glucose homeostasis, and satiety / A. B. Kohan, F. Wang, C.-M. Lo [et al.]. – Text : direct // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2015. – Vol. 308, № 6. – P. 472–481.

23. Arf1/COPI machinery acts directly on lipid droplets and enables their connection to the ER for protein targeting / F. Wilfling, A. R. Thiam, M. J. Olarte [et al.] // *eLife*. – 2014. – № 3 : e01607.

24. Asymmetric distribution of pause transfer sequences in apolipoprotein B-100 / M. H. Kivlen, C. A. Dorsey, V. R. Lingappa [et al.]. – Text : direct // *J. Lipid. Res.* – 1997. – Vol. 38. – P. 1149–1162.

25. Bannykh, S. I. Getting into the Golgi / S. I. Bannykh, N. Nishimura, W. E. Balch. – Text : direct // *Trans. Cell. Biol.* – 1998. – Vol. 8. – P. 21–25.

26. Bannykh, S. I. The organization of endoplasmic reticulum export complexes / S. I. Bannykh, T. Rowe, W. E. Balch. – Text : direct // *J. Cell Biol.* – 1996. – Vol. 135. – P. 19–35.

27. Barlowe, C. COPII: a membrane coat that forms andoplasmic reticulum-derived vesicles / C. Barlowe. – Text : direct // FEBS Lett. – 1995. – Vol. 369. – P. 93–96.

28. Barlowe, C. Purification and characterization of SAR1p, a small GTP-binding protein required for transport vesicle formation from the andoplasmic reticulum / C. Barlowe, C. d'Enfert, R. Schekman. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 1993. – Vol. 268. – P. 873–879.

29. Basement membrane components are potent promoters of rat intestinal epithelial cell differentiation in vitro / U. Hahn, A. Stallmach, E. G. Hahn [et al.]. – Text : direct // Gastroenterology. – 1990. – Vol. 98, №2. – P. 322–335.

30. Bernard, A. Absorption sanguine des acides gras chez le rat: influence de la longueur de chaine et du degré d'insaturation / A. Bernard, H. Earlier. – Text : direct // Reprod. nutr. dev. – 1991. – Vol. 31, № 3. – P. 292.

31. Bidirectional transport by distinct populations of COPI-coated vesicles / L. Orci, M. Stamnes, M. Ravazzola [et al.]. – Text : direct // Cell. – 1997. – Vol. 90. – P. 335–349.

32. Black, D. D. Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. I. Development of intestinal lipid absorption: cellular events in chylomicron assembly and secretion / D. D. Black. – Text : direct // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol. – 2007. – Vol. 29, № 33. – P. 519–524.

33. Bourke, A. M. New approaches for solving old problems in neuronal protein trafficking / A. M. Bourke, A. B. Bowen, M. J. Kennedy. – Text : direct // Mol. Cell Neurosci. – 2018. – Vol. 91. – P. 48–66.

34. CAMSAP3 orients the apical-to-basal polarity of microtubule arrays in epithelial cells / M. Toya, S. Kobayashi, M. Kawasaki [et al.]. – Text : direct // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2016. – Vol. 113, № 2. – P. 332–337.

35. Cardiac expression of microsomal triglyceride transfer protein is increased in obesity and serves to attenuate cardiac triglyceride accumulation / E. D. Bartels, J. M. Nielsen, L. I. Hellgren [et al.]. – Text : direct // PLoS One. – 2009. – № 4. – P. 5300.

36. Cartwright, I. J. Direct evidence for a two-step assembly of ApoB48-containing lipoproteins in the lumen of the smooth endoplasmic reticulum of rabbit enterocytes / I. J. Cartwright, J. A. Higgins. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 48048–48057.

37. Casley-Smith, J. Intestinal microcirculation: spatial organization and fine structure / J. Casley-Smith, B. Gannon. – Text : direct // *Physiology of the Intestinal Circulation*. – New York: Raven Press, 1984. – P. 9–31.

38. Casley-Smith, J. R. The structure and functioning of the blood vessels, interstitial tissue, and lymphatics / J. R. Casley-Smith. – Text : direct // *Lymphangiology*. – Stuttgart: Schattauer Verlag, 1983. – P. 27.

39. Casley-Smith, J. R. The structure of normal small lymphatics / J. R. Casley-Smith, H. W. Flory. – Text : direct // *Quart. J. Exp. Physiol.* – 1961. – Vol. 46, № 1. – P. 101–106.

40. CD36 binds oxidized low density lipoprotein (LDL) in a mechanism dependant upon fatty acid binding / A. G. Jay, A. N. Chen, M. A. Paz [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2015. – Vol. 290, № 8. – P. 4590–4603.

41. CD36 deficiency impairs intestinal lipid secretion and clearance of chylomicrons from the blood / V. A. Drover, M. Ajmal, F. Nassir, [et al.]. – Text : direct // *J. Clin. Invest.* – 2005. – Vol. 115. – P. 1290–1297.

42. CD36 is important for chylomicron formation and secretion and may mediate cholesterol uptake in the proximal intestine / A. M. Nauli, F. Nassir, S. Zheng [et al.]. – Text : direct // *Gastroenterology*. – 2006. – Vol. 131. – P. 1197–1207.

43. CD36 mediates both cellular uptake of very long chain fatty acids and their intestinal absorption in mice / V. A. Drover, D. V. Nguyen, C. C. Bastie [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283. – P. 13108–13115.

44. Cellular uptake of fatty acids driven by the ER-localized acyl-CoA synthetase FATP4 / K. Milger, T. Herrmann, C. Becker [et al.]. – Text : direct // *J. Cell Sci.* – 2006. – Vol. 119. – P. 4678–4688.

45. Characterization of a novel intestinal glycerol-3-phosphate acyltransferase pathway and its role in lipid homeostasis / I. Khatun, R. W. Clark, N. B. Vera [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2016. – Vol. 291. – P. 2602–2615.

46. Chow, S. L. A dual, concentration-dependent absorption mechanism of linoleic acid by rat jejunum in vitro / S. L. Chow, D. Hollander. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 1979. – Vol. 20. P. – 349–356.

47. CideB facilitates the lipidation of chylomicrons in the small intestine / L. J. Zhang, C. Wang, Y. Yuan [et al.]. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 2014. – Vol. 55. – P. 1279–1287.

48. CideB is required for the biogenesis of VLDL transport vesicle / A. Toulmay, S. Tiwari, S. Siddiqi [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2013. – Vol. 288. – P. 5157–5165.

49. CideB, an ER- and lipid droplet-associated protein, mediates VLDL lipidation and maturation by interacting with apolipoprotein B / J. Ye, J. Z. Li, Y. Liu [et al.]. – Text : direct // *Cell Metab.* – 2009. – № 9. – P. 177–190.

50. Cifarelli, V. Intestinal CD36 and Other Key Proteins of Lipid Utilization: Role in Absorption and Gut Homeostasis / V. Cifarelli, N. A. Abumrad. – Text : direct // *Compr. Physiol.* – 2018. – Vol. 8, № 2. – P. 493–507.

51. Comparison of class B scavenger receptors, CD36 and scavenger receptor BI (SR-BI), shows that both receptors mediate high density lipoproteincholesterol ester selective uptake but SR-BI exhibits a unique enhancement of cholesterol ester uptake / M. A. Connelly, S. M. Klein, S. Azhar [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 1999. – Vol. 274. – P. 41–47.

52. Comparison of human jejunal and ileal fat absorption by electron microscopy / C. M. Surawicz, D. S. Levine, D. R. Saunders [et al.]. – Text : direct // *Gastroenterology*. – 1988. – Vol. 94, № 6. – P. 1376–1382.

53. Compensatory increase in hepatic lipogenesis in mice with conditional intestine-specific MTTP deficiency / Y. Xie, E. P. Newberry, S. G. Young [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 281. – P. 4075–4086.

54. Conserved structural features of the synaptic fusion complex: SNARE proteins reclassified as Q- and R-SNAREs / D. Fasshauer, R. B. Sutton, A. T. Brunger [et al.]. – Text : direct // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – Vol. 95. – P. 15781–15786.

55. Control of tumourigenesis by the Scribble/Dlg/Lgl polarity module / P. O. Humbert, N. A. Grzeschik, A. M. Brumby [et al.]. – Text : direct // Oncogene. – 2008. – Vol. 27. – P. 6888–6907.

56. COPII proteins are required for Golgi fusion but not for andoplasmic reticulum budding of the pre-chylomicron transport vesicle / S. A. Siddiqi, F. S. Gorelick, J. T. Mahan [et al.]. – Text : direct // J. Cell Sci. – 2003. – Vol. 116, № 2. – P. 415–427.

57. COPII vesicles derived from mammalian andoplasmic reticulum microsomes recruit COPI / T. Rowe, M. Aridor, J. M. McCaffery [et al.]. – Text : direct // J. Cell Biol. – 1996. – Vol. 135. – P. 895–911.

58. COPII: a membrane coat formed by Sec proteins that drive vesicle budding from the andoplasmic reticulum / C. Barlowe, L. Orci, T. Yeung [et al.]. – Text : direct // Cell. – 1994. – Vol. 77. – P. 895–907.

59. COPII-coated membranes function as transport carriers of intracellular procollagen I / A. Gorur, L. Yuan, S. J. Kenny, [et al.]. – Text : direct // J. Cell Biol. – 2017. – Vol. 216, № 6. – P. 1745–1759.

60. Co-translational interactions of apoprotein B with the ribosome and translocon during lipoprotein assembly or targeting to the proteasome / R. Pariyarat, H. Wang, J. D. Aitchison [et al.]. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 2001. – Vol. 276. – P. 541–550.

61. Crawley, S. W. Shaping the intestinal brush border / S. W. Crawley, M. S. Mooseker, M. J. Tyska. – Text : direct // J. Cell Biol. – 2014. – Vol. 207. – P. 441–451.

62. Crumbs3 is essential for proper epithelial development and viability / E. L. Whiteman, S. Fan, J. L. Harder [et al.]. – Text : direct // Mol. Cell. Biol. – 2014. – Vol. 34. – 43–56.

63. CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance / J. H. Niess, S. Brand, X. Gu [et al.]. – Text : direct // *Science*. – 2005. – Vol. 307(5707). – P. 254–258.

64. Dendritic cells shuttle microbes across gut epithelial monolayers / M. Rescigno, G. Rotta, B. Valzasina [et al.]. – Text : direct // *Immunobiology*. – 2001. – Vol. 204, № 5. – P. 572–581.

65. Danielsen, E. M. Lipid raft organization and function in the small intestinal brush border / E. M. Danielsen, G. H. Hansen. – Text : direct // *J. Physiol. Biochem.* – 2008. – Vol. 64, № 4. – P. 377–82.

66. Danielsen, E.M. Lipid raft organization and function in brush borders of epithelial cells / E. M. Danielsen, G. H. Hansen. – Text : direct // *Mol. Membr. Biol.* – 2006. – Vol. 23, № 1. – P. 71–79.

67. Danino, D. Dynamin family of mechanoenzymes / D. Danino, J. E. Hinshaw. – Text : direct // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2001. – Vol. 13, № 4. – P. 454–60.

68. Demonstration of a physical interaction between microsomal triglyceride transfer protein and apolipoprotein B during the assembly of ApoB-containing lipoproteins / X. Wu, M. Zhou, L. S. Huang [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 1996. – Vol. 271. – P. 10277–10281.

69. Desaki, J. A cellular reticulum of fibroblast-like cells in the rat intestine: scanning and transmission electron microscopy / J. Desaki, T. Fujiwara, T. Komuro. – Text : direct // *Arch. Histol. Jpn.* – 1984. – Vol. 47, № 2. – P. 179–186.

70. Differential distribution of villin and villin mRNA in mouse intestinal epithelial cells / K. Boiler, M. Arpin, E. Pringault [et al.]. – Text : direct // *Differentiation*. – 1988. – Vol. 39, № 1. – P. 51–57.

71. Differential Localization and Dynamics of Class I Myosins in the Enterocyte Microvillus / A. E. Benesh, R. Nambiar, R. E. McConnell [et al.]. – Text : direct // *Mol. Biol. Cell.* – 2010. – Vol. 21, № 6. – P. 970–978.

72. Direct continuities between cisternae at different levels of the Golgi complex in glucose-stimulated mouse islet beta cells / B. J. Marsh, N. Volkmann,

J. R. McIntosh [et al.]. – Text : direct // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2004. – Vol. 101. – P. 5565–5570.

73. Disruption of the *Saccharomyces cerevisiae* homologue to the murine fatty acid transport protein impairs uptake and growth on long-chain fatty acids / N. J. Faergeman, C. C. DiRusso, A. Elberger [et al.]. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272. – P. 8531–8538.

74. Dynamics of basal lamina fenestrations in the rat intestinal villous epithelium in response to dietary conditions / R. Azumi, K. Morita, Y. Mizutani [et al.]. – Text : direct // Biomed. Res. – 2018. – Vol. 39, № 2. – P. 65–74.

75. Dynein light intermediate chains maintain spindle bipolarity by functioning in centriole cohesion / L. A. Jones, C. Villemant, T. Starborg [et al.]. – Text : direct // J. Cell Biol. – 2014. – Vol. 207, № 4. – P. 499–516.

76. Ensari, A. Exploring the villus / A. Ensari, M. N. Marsh. – Text : direct // Gastroenterol. Hepatol. Bed Bench. – 2018. – Vol. 11, № 3. – P. 181–190.

77. Epithelial-mesenchymal interactions in the production of basement membrane components in the gut / P. Simon-Assmann, F. Bouziges, C. Arnold [et al.]. – Text : direct // Development. – 1988. – Vol. 102. – P. 339–347.

78. ER-to-Golgi carriers arise through direct en bloc protrusion and multistage maturation of specialized ER exit domains / A. A. Mironov, A. A. Mironov Jr, G. V. Beznoussenko [et al.]. – Text : direct // Dev. Cell. – 2003. – V. 5. – P. 583–594.

79. Espin cross-links cause the elongation of microvillus-type parallel actin bundles in vivo / P. A. Loomis, L. Zheng, G. Sekerková [et al.]. – Text : direct // J. Cell Biol. – 2003. – Vol. 163. – P. 1045–1055.

80. Exposure to dietary lipid leads to rapid production of cytosolic lipid droplets near the brush border membrane / Z. Soayfane, F. Tercé, M. Cantiello [et al.]. – Text : direct // Nutr. Metab. (Lond.). – 2016. – Vol. 13. – P. 48.

81. Expression of an uncleavable N-terminal rasgap fragment in insulin secreting cells increases their resistance towards apoptotic stimuli without affecting

their glucose-induced insulin secretion / J.-Y. Yang, J. Walicki, A. Abderrahmani [et al.]. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 2005. – Vol. 280. – P. 32835–32842

82. Expression of apolipoprotein B in the kidney attenuates renal lipid accumulation / M. Krzystanek, T. X. Pedersen, E. D. Bartels [et al.]. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 2010. – Vol. 285. – P. 10583–10590.

83. Expression of carboxyl-terminally truncated forms of human apolipoprotein B in rat hepatoma cells: Evidence that the length of apolipoprotein B has a major effect on the buoyant density of the secreted lipoproteins / Z. M. Yao, B. D. Blackhart, M. F. Linton [et al.]. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 1991. – Vol. 266. – P. 3300–3308.

84. Expression of Sar1b enhances chylomicron assembly and key components of the coat protein complex II system driving vesicle budding / E. Levy, E. Harmel, M. Laville [et al.]. – Text : direct // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2011. – Vol. 31, № 11. – P. 2692–2699.

85. Ezzell, R. M. Differential localization of villin and fimbrin during development of the mouse visceral endoderm and intestinal epithelium / R. M. Ezzell, M. M. Chafel, P. T. Matsudaira. – Text : direct // Development. – 1989. – Vol. 106, № 2. – 407–419.

86. Farquha, M. G. Junctional complexes in various epithelia / M. G. Farquha, G. E. Palade. – Text : direct // J. Cell Biol. – 1963. – Vol. 17, № 2. – P. 375–412.

87. Fatty acid remodeling by LPCAT3 enriches arachidonate in phospholipid membranes and regulates triglyceride transport / T. Hashidate-Yoshida, T. Harayama, D. Hishikawa [et al.]. // Elife. – 2015. – Vol. 21. – P. 4.

88. Fatty acid transport protein 4 is dispensable for intestinal lipid absorption in mice / J. Shim, C. L. Moulson, E. P. Newberry [et al.]. – Text : direct // J. Lipid Res. – 2009. – Vol. 50. – P. 491–500.

89. Febbraio, M. CD36: Implications in cardiovascular disease / M. Febbraio, R. L. Silverstein. – Text : direct // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2007. – Vol. 39. – P. 2012–2030.

90. Fisher, E. A. Complexity in the secretory pathway: the assembly and secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins / E. A. Fisher, H. N. Ginsberg. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277. – P. 17377–17380.

91. Florey, H. Leucocyte migration through small blood vessels stimulated with ultra-violet light: an electron microscope study / H. Florey, L. Grant. – Text : direct // *J. Path. Bact.* – 1961. – Vol. 82. – P. 13–17.

92. Free fatty acid uptake in humans with CD36 deficiency / K. C. Hames, A. Vella, B. J. Kemp [et al.]. – Text : direct // *Diabetes*. – 2014. – Vol. 63. – P. 3606–3614.

93. Friedman, H. I. Alterations in the endoplasmic reticulum and Golgi complex of intestinal epithelial cells during fat absorption and after termination of this process: a morphological and morphometric study / H. I. Friedman, R. R. Cardell Jr. – Text : direct // *Anat. Rec.* – 1977. – Vol. 188, № 1. – P. 77–101.

94. From cytoskeleton to polarity and chemoreception in the gut epithelium / D. Höfer, T. Jöns, J. Kraemer [et al.]. – Text : direct // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1998. – Vol. 859. – P. 75–84.

95. From fatty-acid sensing to chylomicron synthesis: role of intestinal lipid-binding proteins / M. Buttet, V. Traynard, T. T. Tran [et al.]. – Text : direct // *Biochimie*. – 2014. – Vol. 96. – P. 37–47.

96. Fromme, J. C. COPII-coated vesicles: flexible enough for large cargo? / J. C. Fromme, R. Schekman. – Text : direct // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2005. – Vol. 17. – P. 345–352.

97. Furuya S., Subepithelial fibroblasts in intestinal villi: roles in intercellular communication / S. Furuya, K. Furuya. – Text : direct // *Int. Rev. Cytol.* – 2007. – Vol. 264. – P. 165–223.

98. Furuyama, A. Assembly of the exogenous extracellular matrix during basement membrane formation in vitro / A. Furuyama, K. Mochitate. – Text : direct // *J. Cell Science*. – 2000. – Vol. 1113. – P. 859–868.

99. Galli, T. A novel tetanus neurotoxin-insensitive vesicle-associated membrane protein in SNARE complexes of the apical plasma membrane of

epithelial cells / T. Galli. – Text : direct // Mol. Biol. Cell. – 1998. – № 9. – P. 1437–1438.

100. Gannon, B. Two capillary plexuses in human intestinal villi / B. Gannon, P. Rogers, P. O'Brien. – Text : direct // Micron. – 1980. – № 11. – P. 447–448.

101. Generation of intestinal surface: an absorbing tale / K. D. Walton, A. M. Freddo, S. Wang [et al.]. – Text : direct // Development. – 2016. – Vol. 143, № 13. – P. 2261–2272.

102. Gimeno, R. E. Fatty acid transport proteins / R. E. Gimeno. – Text : direct // Curr. Opin. Lipidol. – 2007. – Vol. 18. – P. 271–276.

103. Groos, S. Epithelial cell turnover-extracellular matrix relationship in the small intestine of human adults / S. Groos, G. Hünefeld, L. Luciano. – Text : direct // Ital. J. Anat. Embryol. – 2001. – Vol. 106, № 2, Suppl 1. – P. 353–361.

104. Gusarova, V. Apolipoprotein B100 exit from the endoplasmic reticulum (ER) is COPII-dependant, and its lipidation to very low density lipoprotein occurs post-ER / V. Gusarova, J. L. Brodsky, E. A. Fisher. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 27, № 48. – P. 48051–48058.

105. Hagen, S. J. Demonstration of microtubules in the terminal web of mature absorptive cells from the small intestine of the rat / S. J. Hagen, C. H. Allan, J. S. Trier. – Text : direct // Cell and Tissue Res. – 1987. – Vol. 248, № 3. – P. 709–712.

106. Hamilton, J. A. Fatty acid transport: the diffusion mechanism in model and biological membranes / J. A. Hamilton, R. A. Johnson, B. Corkey, F. Kamp. – Text : direct // J. Mol. Neurosci. – 2001. – Vol. 16. – P. 99–108.

107. Hamilton, J. A. How fatty acids bind to proteins: the inside story from protein structures / J. A. Hamilton. – Text : direct // Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. – 2002. – Vol. 67. – P. 65–72.

108. Hamilton, J. A. Mechanism of cellular uptake of long-chain fatty acids: Do we need cellular proteins? / J. A. Hamilton, W. Guo, F. Kamp. – Text : direct // Mol. Cell Biochem. – 2002. – Vol. 239. – P. 17–23.

109. Hamilton, J. A. Solubilization of triolein and cholesterol oleate in egg phosphatidylcholine vesicles / J. A. Hamilton, K. W. Miller, D. M. Small. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 1983. – Vol. 258. – P. 1284–1280.

110. Hartsock, A. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton / A. Hartsock, W. J. Nelson. – Text : direct // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2008. – Vol. 1778. – P. 660–669.

111. Hashimoto, H. Three-dimensional distribution of extracellular matrix in the mouse small intestinal villi. Laminin and tenascin / H. Hashimoto, M. Kusakabe. – Text : direct // *Connect Tissue Res.* – 1997. – Vol. 36, № 1. – P. 63–71.

112. Hay, J. C. SNAREs and NSF in targeted membrane fusion / J. C. Hay, R. H. Scheller. – Text : direct // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 1997. – № 9. – P. 505–512.

113. Heath, I. B. Plasma membrane-adjacent actin filaments, but not microtubules, are essential for both polarization and hyphal tip morphogenesis in *Saprolegnia ferax* and *Neurospora crassa* / I. B. Heath, G. Gupta, S. Bai. – Text : direct // *Fung. Genet. Biol.* – 2000. – Vol. 30. – P. 45–62.

114. Heintzelman, M. B. Assembly of the intestinal brush border cytoskeleton / M. B. Heintzelman, M. S. Mooseker. – Text : direct // *Curr. Top. Dev. Biol.* – 1992. – Vol. 26. – P. 93–122.

115. Ho, S. Y. Common mechanisms of monoacylglycerol and fatty acid uptake by human intestinal Caco-2 cells / S. Y. Ho, J. Storch. – Text : direct // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2001. – Vol. 281. – P. 1106–1117.

116. Homologous and heterologous reconstitution of Golgi to chloroplast transport and protein import into the complex chloroplasts of *Euglena* / S. Slavikova, R. Vacula, Z. Fang [et al.]. – Text : direct // *J. Cell Sci.* – 2005 – Vol. 118. – P. 1651–1661.

117. Hong, W. SNAREs and traffic / W. Hong. – Text : direct // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2005. – Vol. 1744. – P. 493–517.

118. Hosoyamada, Y. Mechanical components of rat intestinal villi as revealed by ultrastructural analysis with special reference to the axial smooth muscle cells in the villi / Y. Hosoyamada, T. Sakai. – Text : direct // Arch. Histol. Cytol. – 2007. – Vol. 70, № 2. – P. 107–116.

119. Huang, C. pH-dependant cargo sorting from the Golgi / C. Huang, A. Chang. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 2011. – Vol. 286. – P. 10058–10065.

120. Huang, X. F. Efficient glycosylation site utilization by intracellular apolipoprotein B. Implications for proteasomal degradation / X. F. Huang, G. S. Shelness. – Text : direct // J. Lipid Res. – 1999. – Vol. 40. – P. 2212–2222.

121. Human placenta secretes apolipoprotein B-100-containing lipoproteins / E. M. Madsen, M. L. Lindegaard, C. B. Andersen [et al.]. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 279. – P. 5271–5276.

122. Hussain, M. M. Apolipoprotein B binding to microsomal triglyceride transfer protein decreases with increases in length and lipidation: implications in lipoprotein biosynthesis / M. M. Hussain, A. Bakillah, H. Jamil. – Text : direct // Biochemistry. – 1997. – Vol. 36. – P. 13060–13067.

123. Hussain, M. M. Microsomal triglyceride transfer protein and its role in apoB-lipoprotein assembly / M. M. Hussain, J. Shi, P. Dreizen. – Text : direct // J. Lipid Res. – 2003. – Vol. 44. – P. 22–32.

124. Identification of a very large Rab GTPase family in the parasitic protozoan *Trichomonas vaginalis* / K. Lal, M. C. Field, J. M. Carlton [et al.]. – Text : direct // Mol. Biochem. Parasitol. – 2005. – Vol. 143. – P. 226–235.

125. Identification of the major intestinal fatty acid transport protein / A. Stahl, D. J. Hirsch, R. E. Gimeno [et al.]. – Text : direct // Mol. Cell. – 1999. – № 4. – P. 299–308.

126. Inflammatory bowel disease is associated with changes of enterocytic junctions / N. Gassler, C. Rohr, A. Schneider [et al.]. – Text : direct // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2001. – Vol. 281, № 1. – P. 216–228.

127. Intestinal epithelial cell polarity defects in disease: lessons from microvillus inclusion disease / K. Schneeberger, S. Roth, E. E. S. Nieuwenhuis [et al.]. – Text : direct // *Dis. Model. Mech.* – 2018. – Vol. 11, № 2. – P. 031–088.

128. Intestinal lipoprotein assembly in apobec-1^{-/-} mice reveals subtle alterations in triglyceride secretion coupled with a shift to larger lipoproteins / Y. Xie, F. Nassir, J. Luo [et al.]. – Text : direct // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2003. – Vol. 285. – P. 735–746.

129. Intestinal Mesenchymal Cells / I. V. Pinchuk, R. C. Mifflin, J. I. Saada [et al.]. – Text : direct // *Curr. Gastroenterol. Rep.* – 2010. – Vol. 12, № 5. – P. 310–318.

130. Jahn, R. SNAREs—engines for membrane fusion / R. Jahn, R. H. Scheller. – Text : direct // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2006. – № 7. – P. 631–643.

131. Jamieson, J. D. Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. Dissociation of intracellular transport from protein synthesis / J. D. Jamieson, G. E. Palade. – Text : direct // *J. Cell. Biol.* – 1968, – Vol. 39, № 3. – P. 580–588.

132. Jersild R. A., Jr. A time sequence study of fat absorption in the rat jejunum / R. A. Jersild, Jr. – Text : direct // *Am. J. Anat.* – 1966. – Vol. 118. – P. 135–162.

133. Joyce, N. C. Morphologic and biochemical evidence for a contractile cell network within the rat intestinal mucosa / N. C. Joyce, M. F. Haire, G. E. Palade. – Text : direct // *Gastroenterology*. – 1987. – Vol. 92. – P. 68–81.

134. Kandrick, J. S. Superior role of apolipoprotein B48 over apolipoprotein B100 in chylomicron assembly and fat absorption: an investigation of apobec-1 knock-out and wild-type mice / J. S. Kandrick, L. Chan, J. A. Higgins. – Text : direct // *Biochem. J.* – 2001. – Vol. 356, № 3. – P. 821–827.

135. KATAMARI1/MURUS3 is a novel Golgi membrane protein that is required for andomembrane organization in *Arabidopsis* / K. Tamura, T. Shimada, M. Kondo [et al.]. – Text : direct // *Plant Cell*. – 2005. – Vol. 17. – P. 1764–1776.

136. Khan, J. Morphology of the Intestinal Barrier in Different Physiological and Pathological Conditions / J. Khan, M. N. Islam. – Text : direct // Histopathology. – 2012. – № 8. – P. 133–152.

137. Kinesin-mediated organelle translocation revealed by specific cellular manipulations / F. Feiguin, A. Ferreira, K. S. Kosik [et al.]. – Text : direct // J. Cell Biol. – 1994. – Vol. 127, № 4. – P. 1021–1039.

138. Kloepper, T. H. An elaborate classification of SNARE proteins sheds light on the conservation of the eukaryotic endomembrane system / T. H. Kloepper, C. N. Kienle, D. Fasshauer. – Text : direct // Mol. Biol. Cell. – 2007. – Vol. 18. – P. 3463–3471.

139. Knockout of the abetalipoproteinemia gene in mice: reduced lipoprotein secretion in heterozygotes and embryonic lethality in homozygotes / M. Raabe, L. M. Flynn, C. H. Zlot [et al.]. – Text : direct // Proc. Natl. Acad. // Sci. USA. – 1998. – Vol. 95. – P. 8686–8691.

140. Komuro, T. Fenestrations of the basal lamina of intestinal villi of the rat. Scanning and transmission electron microscopy / T. Komuro. – Text : direct // Cell Tissue Res. – 1985. – Vol. 239, № 1. – P. 183–188.

141. Komuro, T. Three-dimensional structure of the rat intestinal wall (mucosa and submucosa) / T. Komuro, Y. Hashimoto. – Text : direct // Arch. Histol. Cytol. – 1990. – Vol. 53, № 1. – P. 1–21.

142. Koonin, E. Evolutionary systems biology: Links between gene evolution and function / E. Koonin, Y. Wolf. – Text : direct // Curr. Opin. Biotechnol. – 2006 – Vol. 17 – P. 481–487.

143. Koonin, E. V. The origin and early evolution of eukaryotes in the light of phylogenomics / E. V. Koonin. – Text : direct // Genome Biol. – 2010. – Vol. 11. – P. 209.

144. Krieger, M. Scavenger receptor class B type I is a multiligand HDL receptor that influences diverse physiologic systems / M. Krieger. – Text : direct // J. Clin. Invest. – 2001. – Vol. 108. – P. 793–797.

145. Kulinski, A. Microsomal triacylglycerol transfer protein is required for luminal accretion of triacylglycerol not associated with ApoB, as well as for ApoB lipidation / A. Kulinski, S. Rustaeus, J. E. Vance. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277. – P. 31516–31525.

146. Kumar, N. S. Determinants of triacylglycerol transport from the endoplasmic reticulum to the Golgi in intestine / N. S. Kumar, C. M. Mansbach, II. – Text : direct // *Am. J. Physiol.* – 1997. – 273. – P. 18–30.

147. Kumar, N. S. Prechylomicron transport vesicle: isolation and partial characterization / N. S. Kumar, C. M. Mansbach, II. – Text : direct // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 276. – P. 378–386.

148. Lewis, G. F. Hypertriglyceridemia in the genomic era: a new paradigm / G. F. Lewis, C. Xiao, R. A. Hegele. – Text : direct // *Andocrinol. Rev.* – 2015. – Vol. 36, № 1. – P. 131–147.

149. Lipoprotein abnormalities in human genetic CD36 deficiency associated with insulin resistance and abnormal fatty acid metabolism / T. Kuwasako, K. Hirano, N. Sakai [et al.]. – Text : direct // *Diabetes Care.* – 2003. – Vol. 26. – P. 1647–1648.

150. Neeli, I. Liver fatty acid-binding protein initiates budding of prechylomicron transport vesicles from intestinal endoplasmic reticulum / I. Neeli, S. A. Siddiqi, S. Siddiqi. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2007. – 282. – P. 17974–17984.

151. Localization and regulation of the putative membrane fatty-acid transporter (FAT) in the small intestine. Comparison with fatty acid-binding proteins (FABP) / H. Poirier, P. Degrace, I. Niot [et al.]. – Text : direct // *Eur. J. Biochem.* – 1996. – Vol. 238. – P. 368–373.

152. Lowe, M. Regulation of membrane traffic in animal cells by COPI / M. Lowe, T. Kreis. – Text : direct // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1998. – Vol. 1404. – P. 53–66.

153. Mackinnon, W. B. Esterified cholesterol and triglyceride are present in plasma membranes of Chinese hamster ovary cells / W. B. Mackinnon, G. L. May,

C. E. Mountford. – Text : direct // Eur. J. Biochem. – 1992. – Vol. 205. – P. 827–839.

154. Madara, J. L. Regulation of the movement of solutes across tight junctions / J. L. Madara. – Text : direct // Annu. Rev. Physiol. – 1998. – Vol. 60. – P. 143–159.

155. Maintenance of Golgi structure and function depends on the integrity of ER export / T. H. Ward, R. S. Polishchuk, S. Caplan [et al.]. – Text : direct // J. Cell. Biol. - 2001. – Vol. 155. – P. 557–570.

156. Malhotra, V. Procollagen export from the endoplasmic reticulum / V. Malhotra, P. Erlmann, C. Nogueira. – Text : direct // Biochem. Soc. Trans. – 2015. – Vol. 43, № 1. – P. 104–107.

157. Mandel, L. J. Uncoupling of the molecular «fence» and paracellular «gate» functions in epithelial tight junctions / L. J. Mandel, R. Bacallao, G. Zampighi. – Text : direct // Nature. – 1993. – Vol. 361. – P. 552–555.

158. Mansbach 2nd, C. M. Development and physiological regulation of intestinal lipid absorption. II. Dietary lipid absorption, complex lipid synthesis, and the intracellular packaging and secretion of chylomicrons / C. M. Mansbach 2nd, F. Gorelick. – Text : direct // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2007. – Vol. 293, № 4. – P. 645–650.

159. Mansbach, C. M. Control of chylomicron export from the intestine / C. M. Mansbach, S. Siddiqi. – Text : direct // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2016. – Vol. 310, № 9. – P. 659–668.

160. Mansbach, C. M. The Biogenesis of Chylomicrons / C. M. Mansbach, S. A. Siddiqi. – Text : direct // Annu. Rev. Physiol. – 2010. – Vol. 72. – P. 315–333.

161. Three-dimensional analysis of fibroblast-like cells in the lamina propria of the rat ileum using serial block-face scanning electron microscopy / Y. Mantani, T. Haruta, M. Nishida [et al.]. – Text : direct // J. Vet. Med. Sci. – 2019. – Vol. 81, № 3. – P. 454–465.

162. Mapping the distribution of Golgi enzymes involved in the construction of complex oligosaccharides / C. Rabouille, N. Hui, F. Hunte [et al.]. – Text : direct // *J. Cell. Sci.* – 1995. – Vol. 108. – P. 1617–1627.

163. Marchesi, V. Electron microscopic observations on the emigration of leucocytes / V. Marchesi, H. Florey. – Text : direct // *Quart. J. Exp. Physiol.* – 1960. – Vol. 45. – P. 343–347.

164. Marsh, M. N. The scanning electron microscope and its application to the investigation of intestinal structure / M. N. Marsh. – Text : direct // *Recent Advances in Gastroenterology*. – Edinburgh: Churchill-Livingstone, 1972. – P. 81–135.

165. Mathan, M. Structural features of the epithelio-mesenchymal interface of rat duodenal mucosa during development / M. Mathan, J. Hermos, J. Trier. – Text : direct // *J. Cell Biol.* – 1972. – Vol. 52. – P. 577–588.

166. Matrix proteins can generate the higher order architecture of the Golgi apparatus / J. Seemann, E. Jokitalo, M. Pypaert [et al.]. – Text : direct // *Nature*. – 2000. – Vol. 407. – P. 1022–1026.

167. Matsudaira, P. T. Structural and functional relationship between the membrane and the cytoskeleton in brush border microvilli / P. T. Matsudaira. – Text : direct // *Ciba Found Symp.* – 1983. – Vol. 95. – P. 233–252.

168. McConnell, R. E. Myosin-1a powers the sliding of apical membrane along microvillar actin bundles / R. E. McConnell, M. J. Tyska. – Text : direct // *J. Cell Biol.* – 2007. – Vol. 177. – P. 671–681.

169. Compartmental specificity of cellular membrane fusion encoded in SNARE proteins / J. A. McNew, F. Parlati, R. Fukuda [et al.]. – Text : direct // *Nature*. – 2000. – Vol. 407. – P. 153–159.

170. Microsomal triglyceride transfer protein in plasma and cellular lipid metabolism / M. M. Hussain, P. Rava, X. Pan [et al.]. – Text : direct // *Curr. Opin. Lipidol.* – 2008. – Vol. 19. – P. 277–284.

171. Microsomal triglyceride transfer protein lipidation and control of CD1d on antigen-presenting cells / S. K. Dougan, A. Salas, P. Rava [et al.]. – Text : direct // *J. Exp. Med.* – 2005. – Vol. 202. – P. 529–539.

172. Mironov, A. A. Golgi's way: a long path toward the new paradigm of the intra-Golgi transport / A. A. Mironov, I. S. Sesorova, G.V. Beznoussenko. – Text : direct // *Histochem. Cell Biol.* – 2013. – Vol. 140, № 4. – P. 383–393.

173. Mironov, A. A. Intra-Golgi Transport / A. A. Mironov, G. V. Beznoussenko. – Text : direct // In *The Golgi Apparatus. State of the Art 110 Years after Camillo Golgi's Discovery* / ed. by A. A. Mironov, M. Pavelka. – Berlin ; Heidelberg : Springer-Verlag, 2008. – P. 342–357.

174. Intra-Golgi transport: A way to a new paradigm? / A. A. Mironov, G. V. Beznoussenko, R. S. Polishchuk [et al.]. – Text : direct // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2005. – Vol. 1744. – P. 340–350.

175. Mironov, A. A. Origin of the Regulated Secretory Pathway / A. A. Mironov, P. Arvan. – Text : direct // In *The Golgi Apparatus. State of the Art 110 Years after Camillo Golgi's Discovery* / ed. by A. A. Mironov, M. Pavelka. – Berlin ; Heidelberg : Springer-Verlag, 2008. – P. 482–515.

176. Mironov, A. A. The Kiss-and-Run Model of Intra-Golgi Transport / A. A. Mironov, G. V. Beznoussenko. – Text : direct // *Int. J. Mol. Sci.* – 2012. – Vol. 13, № 6. – P. 6800–6819.

177. Mironov, A. A. Variations on the intracellular transport theme: maturing cisternae and trafficking tubules / A. A. Mironov, P. Weidman, A. Luini. – Text : direct // *J. Cell Biol.* – 1997. – Vol. 138. – P. 481–484.

178. Molecular basis for the sorting of the SNARE VAMP7 into endocytic clathrin-coated vesicles by the ArfGAP / P. R. Pryor, L. Jackson, S. R. Gray [et al.]. – Text : direct // *Hrb. Cell.* – 2008. – Vol. 34. – P. 817–827.

179. Mooseker, M. S. Organization, chemistry, and assembly of the cytoskeletal apparatus of the intestinal brush border / M. S. Mooseker. – Text : direct // *Annu. Rev. Cell biol.* – Palo Alt. (Calif.). – 1985. – Vol. 1. – P. 209–241.

180. Morphological Analysis of Lacteal Structure in the Small Intestine of Adult Mice / S. H. Suh, S. P. Hong, I. Park [et al.]. – Text : direct // Methods Mol. Biol. – 2018. – Vol. 1846. – P. 131–139.

181. Morphological changes of the rat intestinal lining in relation to body stores depletion during fasting and after refeeding / C. Habold, F. Reichardt, C. Foltzer-Jourdainne [et al.]. – Text : direct // Pflugers Arch. – 2007. – Vol. 455, № 2. – P. 323–332.

182. Morre, D. J. Golgi apparatus buds –vesicles or coated ands of tubules? / D. J. Morre, T. W. Keenan. – Text : direct // Protoplasma. – 1994. – Vol. 179. – P. 1–4.

183. Moss, J. Molecules in the ARF orbit / J. Moss, M. Vaughan. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol. 34. – P. 21431–21434.

184. Multibudded tubules formed by COPII on artificial liposomes / K. Bacia, E. Futai, S. Prinz [et al.]. – Text : direct // Sci. Rep. – 2011. – №1. – P. 17.

185. Myofibroblasts. II. Intestinal subepithelial myofibroblasts / D. W. Powell, R. C. Mifflin, J. D. Valentich [et al.]. – Text : direct // Am. J. Physiol. Cell Physiol. – 1999. – Vol. 277. – P. 183–201.

186. New insights into the molecular mechanism of intestinal fatty acid absorption / T. Y. Wang, M. Liu, P. Portincasa [et al.]. – Text : direct // Eur. J. Clin. Invest. – 2013. – Vol. 43, №11. – P. 1203–1223.

187. New role for the architecture of microvillar actin bundles in apical retention of membrane proteins / C. Revenu, F. Ubelmann, I. Hurbain [et al.]. – Text : direct // Mol. Biol. Cell. – 2012. – Vol. 23. – P. 324–336.

188. Nighot, P. K. ClC-2 regulates mucosal barrier function associated with structural changes to the villus and epithelial tight junction / P. K. Nighot, A. T. Blikslager. – Text : direct // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2010. – Vol. 299. – P. 449–456.

189. No static at all: A new perspective on molecular architecture of the tight junction / W. V. Graham, A. M. Marchiando, L. Shen [et al.]. – Text : direct // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2009. – Vol. 1165. – P. 314–322.

190. Nutrient absorption / S. A. Siddiqi, N. S. Kumar, R. J. St. Hilaire [et al.]. – Text : direct // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2000. – Vol 16. – P. 147–153.

191. Ockner, R. K. Very low density lipoproteins in intestinal lymph: origin, composition, and role in lipid transport in the fasting state / R. K. Ockner, F. B. Hughes, K. J. Isselbacher. – Text : direct // *J. Clin. Invest.* – 1969. – Vol. 48. – P. 2079–2088.

192. Ohtani, O. Three-dimensional organization of lymphatics and its relationship to blood vessels in rat small intestine / O. Ohtani. – Text : direct // *Cell Tissue Res.* – 1987. – Vol. 248, № 2. – 365–374.

193. Ohtani, O. Three-dimensional organization of lymphatics and their relationship to blood vessels in rabbit small intestine. A scanning electron microscopic study of corrosion casts / O. Ohtani, A. Ohtsuka. – Text : direct // *Arch. Histol. Jpn.* – 1985. – Vol. 48, № 3. – P. 255–268.

194. Organellar relationships in the Golgi region of the pancreatic beta cell line, HIT-T15, visualized by high resolution electron tomography / B. J. Marsh, D. N. Mastronarde, K. F. Buttle [et al.]. – Text : direct // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2001. – Vol. 98. – P. 2399–2406.

195. Overexpression of apolipoprotein A-IV enhances lipid secretion in IPEC-1 cells by increasing chylomicron size / S. Lu, Y. Yao, X. Cheng [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 281. – P. 3473–3483.

196. Palade, G. Intracellular aspects of the process of protein synthesis / G. Palade. – Text : direct // *Science.* – 1975. – Vol. 89. – P. 347–358.

197. Palay, S. L. An Electron Microscopic Study of the Intestinal Villus. I. The Fasting Animal / S. L. Palay, L. J. Karlin. – Text : direct // *Biophysic. and Biochem. Cytol.* – 1959. – Vol. 5, № 3. – P. 363–396.

198. Palay, S. L. An Electron Microscopic Study of the Intestinal Villus. II. The Pathway of Fat Absorption / S. L. Palay, L. J. Karlin. – Text : direct // *Biophysic. and Biochem. Cytol.* – 1959. – Vol. 5, № 3. – P. 373–402.

199. Pan, X. Gut triglyceride production / X. Pan, M. M. Hussain. – Text : direct // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2012. – Vol. 1821, № 5. – P. 727–735.

200. Pavelka, M. Effects of colchicine on the intestinal transport of endogenous lipid / M. Pavelka, A. Gangl. – Text : direct // Gastroenterology. – 1985. – Vol. 84. – P. 544–555.

201. Phospholipid transfer activity of microsomal triacylglycerol transfer protein is sufficient for the assembly and secretion of apolipoprotein B lipoproteins / P. Rava, G. K. Ojakian, G. S. Shelness [et al.]. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 2006. – 281. – P. 11019–11027.

202. Plasticity of PI4KIII α interactions at the plasma membrane / J. Chung, F. Nakatsu, J. M. Baskin [et al.]. – Text : direct // EMBO Rep. – 2015. – Vol. 16, № 3. – P. 312–320.

203. Plasticity of the brush border – the yin and yang of intestinal homeostasis / D. Delacour, J. Salomon, S. Robine [et al.]. – Text : direct // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2016. – Vol. 13, № 3. – P. 161–174.

204. Plastin 1 binds to keratin and is required for terminal web assembly in the intestinal epithelium / E. M. S. Grimm-Gunter, C. Revenu, S. Ramos [et al.]. – Text : direct // Mol. Biol. Cell. – 2009. – Vol. 20. – P. 2549–2562.

205. Polishchuk, R. S. Structural aspects of Golgi function / R. S. Polishchuk, A. A. Mironov. – Text : direct // Cell. Mol. Life Sci. – 2004. – Vol. 61. – P. 146–158.

206. Procollagen traverses the Golgi stack without leaving the lumen of cisternae: evidence for cisternal maturation / L. Bonfanti, A. A. Mironov Jr., J. A. Martínez-Menárguez [et al.]. – Text : direct // Cell. – 1998. – Vol. 95, № 7. – P. 993–1003.

207. Prostmeier, R. Expression of tenascin in the crypt-villus unit of adult mouse small intestine: Implications for its role in epithelial cell shedding / R. Prostmeier, R. Martini, M. Schachner. – Text : direct // Development. – 1990. – Vol. 109, № 2. – P. 313–321.

208. Protection against Western diet-induced obesity and hepatic steatosis in liver fatty acid-binding protein knockout mice / E. P. Newberry, Y. Xie, S. M. Kennedy [et al.]. – Text : direct // Hepatology. – 2006. – Vol. 44. – P. 1191–1205.

209. Protein disulfide isomerase is a component of the microsomal triglyceride transfer protein complex / J. R. Wetterau, K. A. Combs, S. N. Spinner [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 1990. – Vol. 265, № 17. – P. 9800–9807.

210. Proteomic analysis of the enterocyte brush border / R. E. McConnell, A. E. Benesh, S. Mao [et al.]. – Text : direct // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2011. – Vol. 300, № 5. – P. 914–926.

211. Rapid flip-flop of oleic acid across the plasma membrane of adipocytes / F. Kamp, W. Guo, R. Souto [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278. – P. 7988–7995.

212. Rava, P. Acquisition of triacylglycerol transfer activity by microsomal triglyceride transfer protein during evolution / P. Rava, M. M. Hussain. – Text : direct // *Biochemistry*. – 2007. – Vol. 46. – P. 12263–12274.

213. Reconstituting initial events during the assembly of apolipoprotein B-containing lipoproteins in a cell-free system / Z. G. Jiang, Y. Liu, M. M. Hussain [et al.]. – Text : direct // *J. Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 383. – P. 1181–1194.

214. Redgrave, T. G. Quantitation of the transfer of surface phospholipid of chylomicrons to the high density lipoprotein fraction during the catabolism of chylomicrons in the rat / T. G. Redgrave, D. M. Small. – Text : direct // *J. Clin. Invest.* – 1979. – Vol. 64. – P. 162–171.

215. Reinke, C. Golgi inheritance in *Saccharomyces cerevisiae* depends on ER inheritance / C. Reinke, P. Kozik, B. Glick. – Text : direct // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2004. – Vol. 101. – P. 18018–18023.

216. Reiter, W. D. Biosynthesis and properties of the plant cell wall / W. D. Reiter. – Text : direct // *Curr. Opin. Plant. Biol.* – 2002. – Vol. 5. – P. 536–542.

217. Rescigno, M. Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease / M. Rescigno, A. Di Sabatino. – Text : direct // *J. Clin. Invest.* – 2009. – Vol. 119, № 9. – P. 2441–2450.

218. Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa / A. T. Blikslager, A. J. Moeser, J. L. Gookin [et al.]. – Text : direct // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87. – P. 545–564.

219. Retina expresses microsomal triglyceride transfer protein: implications for age-related maculopathy / C. M. Li, J. B. Presley, X. Zhang [et al.]. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 2005. – Vol. 46. – P. 628–640.

220. Rhodin, J. A. *Histology: A Text and Atlas* / J. A. Rhodin. – New York : Oxford University Press, 1974. – 803 p. – Text : direct.

221. Rios, R. M. The Golgi apparatus at the cell centre / R. M. Rios, M. Bornens. – Text : direct // *Curr. Opin. Cell. Biol.* – 2003. – Vol. 15. – P. 60–66.

222. RNA editing of apolipoprotein B mRNA. Sequence specificity determined by in vitro coupled transcription editing / S. H. Chen, X. X. Li, W. S. Liao [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 1990. – Vol. 265. – P. 6811–6816.

223. Role of myosin in terminal web contraction in isolated intestinal epithelial brush borders / T. C. Keller 3rd, K. A. Conzelman, R. Chasan [et al.]. – Text : direct // *J. Cell Biol.* – 1985. – Vol. 100, № 5. – P. 1647–1655.

224. Sabesin, S. M. Electron microscopic studies of the assembly, intracellular transport, and secretion of chylomicrons by rat intestine / S. M. Sabesin, S. Frase. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 1977. – Vol. 18. – P. 496–511.

225. Saotome, I. Ezrin is essential for epithelial organization and villus morphogenesis in the developing intestine / I. Saotome, M. Curto, A. I. McClatchey. – Text : direct // *Dev. Cell.* – 2004. – № 6. – P. 855–864.

226. Saraste, J. Pre- and post-Golgi vacuoles operate in the transport of Semliki Forest virus membrane glycoproteins to the cell surface / J. Saraste, E. Kuismanen. – Text : direct // *Cell.* – 1984. – Vol. 38, № 2. – P. 535–549.

227. Sasaki, T. Ultrastructure and cytochemistry of the Golgi apparatus and related organelles of the secretory ameloblasts of the rat incisor / T. Sasaki. – Text : direct // *Arch. Oral. Biol.* – 1983. – Vol. 28. – P. 895–905.

228. Scanning electron microscopic determination of quantitative parameters of villi in the rat jejunum / K. Ono, M. Sohma, Y. Satoh [et al.]. – Text : direct // *Anat. Anz.* – 1987. – Vol. 163, № 3. – P. 277–280.

229. Schindler, J. F. Der Einflus von lysosomotropen schwachen basen und ionophoren auf den vakuolaren apparat von absorbieranden epithelien / J. F. Schindler. – Text : direct // Anat. Anz. – 1989. – № 1. – P. 92.

230. Schonfeld, G. Intestinal apoproteins during fat absorption / G. Schonfeld, E. Bell, D. H. Alpers. – Text : direct // J. Clin. Invest. – 1978. – Vol. 61, № 6. – P. 1539–1550.

231. Secretory COPII coat component Sec23a is essential for craniofacial chondrocyte maturation / M. R. Lang, L. A. Lapierre, M. Frotscher [et al.]. – Text : direct // Nat. Genet. – 2006. – Vol. 38, № 10. – P. 1198–1203.

232. Seemann, J. The role of the tethering proteins p115 and GM130 in transport through the Golgi apparatus in vivo / J. Seemann, E. Jokitalo, G. Warren. – Text : direct // Mol. Biol. Cell. – 2000. – Vol. 11. – P. 635–645.

233. Segregation of the Qb-SNAREs GS27 and GS28 into Golgi Vesicles Regulates Intra-Golgi Transport. / A. Fusella, M. Micaroni, Di Giandomenico [et al.]. – Text : direct // Traffic. – 2013. – Vol. 14, № 5. – P. 568–584.

234. Seligman, A. M. A new staining method (OTO) for enhancing contrast of lipid-containing membranes and droplets in osmium tetroxide-fixed tissue with osmiophilic thiocarbohydrazide (TCH) / A. M. Seligman, H. L. Wasserkrug, J. S. Hanker. – Text : direct // J. Cell Biol. – 1966. – Vol. 30, № 2. – P. 424–432.

235. Siddiqi S. A. PKC zeta-mediated phosphorylation controls budding of the pre-chylomicron transport vesicle / S. A. Siddiqi, C. M. Mansbach. – Text : direct // J. Cell Sci. – 2008. – Vol. 121. – P. 2327–2338.

236. Siddiqi, S. Sec24C is required for docking the prechylomicron transport vesicle with the Golgi / S. Siddiqi, S. A. Siddiqi, C. M. Mansbach. – Text : direct // J. Lipid Res. – 2010. – Vol. 51. – P. 1093–1100.

237. Silencing of the mammalian Sar1 isoforms reveals COPII-independant protein sorting and transport / M. B. Cutrona, G. V. Beznoussenko, A. Fusella [et al.]. – Text : direct // Traffic. – 2013. – Vol. 14, № 6. – P. 691–708.

238. Sirwi, A. Lipid transfer proteins in the assembly of apoB-containing lipoproteins / A. Sirwi, M. M. Hussain. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 2018. – Vol. 59, № 7. – P. 1094–1102.

239. Slow stretching that mimics embryonic growth rate stimulates structural and mechanical development of tendon-like tissue in vitro / N. S. Kalson, D. F. Holmes, A. Herchenhan [et al.]. – Text : direct // *Developmental dynamics*. – 2011. – Vol. 240, № 11. – P. 2520–2528.

240. SNAP receptors implicated in vesicle targeting and infusion / T. Sollner, S. W. Whitehart, M. Brunner [et al.]. – Text : direct // *Nature*. – 1993. – Vol. 362. – P. 318–324.

241. SNAREpins: minimal machinery for membrane fusion / T. Weber, B. V. Zemelman, J. A. McNew [et al.]. – Text : direct // *Cell*. – 1998. – Vol. 92. – P. 759–772.

242. Sollner, T. H. Molecular machinery mediating vesicle budding, docking and fusion / T. H. Sollner, J. E. Rothman. – Text : direct // *Cell Struct. Funct.* – 1996. – Vol. 21. – P. 407–412.

243. Stahl, A. A current review of fatty acid transport proteins (SLC27) / A. Stahl. – Text : direct // *Pflugers Arch.* – 2004. – Vol. 447. – P. 722–727.

244. Stammes, M. A. Regulation the actin cytoskeleton during vesicular transport / M. A. Stammes. – Text : direct // *Curr. Opin Cell Biol.* – 2002. – Vol. 1, № 4. – P. 428–433.

245. Stoorvogel, W. A novel class of clathrin-coated vesicles budding from andosomes / W. Stoorvogel, V. Oorschot, H. J. Geuze. – Text : direct // *J. Cell Biol.* – 1996. – Vol. 132, № 1–2. – P. 21–33.

246. Storch, J. Structural and functional analysis of fatty acid-binding proteins / J. Storch, L. McDermott. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 2009. – Vol. 50. – P. 126–131.

247. Storch, J. The emerging functions and mechanisms of mammalian fatty acid-binding proteins / J. Storch, B. Corsico. – Text : direct // *Annu. Rev. Nutr.* – 2008. – Vol. 28. – P. 73.

248. Storch, J. The fatty acid transport function of fatty acidbinding proteins / J. Storch, A. E. Thumser. – Text : direct // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – Vol. 1486. – P. 28–44.

249. Storch, J. Tissue-specific functions in the fatty acid-binding protein family / J. Storch, A. E. Thumser. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285. – P. 32679–32683.

250. Stralfors, P. Autolysis of isolated adipocytes by andogenously produced fatty acids / P. Stralfors. – Text : direct // *FEBS Lett.* – 1990. – Vol. 263. – P. 153–154.

251. Strauss, E. W. Electron microscopic study of intestinal fat absorption in vitro from mixed micelles containing linolenic acid, monoolein, and bile salt / E. W. Strauss. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 1966. – № 7. – P. 307.

252. Structural organization of the tight junctions / L. Paris, L. Tonutti, C. Vannini [et al.]. – Text : direct // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2008. – Vol. 1778. – P. 646–659.

253. Structure of a lipid-bound extended synaptotagmin indicates a role in lipid transfer / C. M. Schauder, X. Wu, Y. Saheki [et al.]. – Text : direct // *Nature.* – 2014. – Vol. 510 (7506). – P. 552–555.

254. Structure, regulation, and functional diversity of microvilli on the apical domain of epithelial cells / C. Sauvanet, J. Wayt, T. Pelaseyed, [et al.]. – Text : direct // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2015. – Vol. 31. – P. 593–621.

255. Su, X. Cellular fatty acid uptake: a pathway under construction / X. Su, N. A. Abumrad. – Text : direct // *Trans Andocrinol. Metab.* – 2009. – Vol. 20. – P. 72.

256. Sudhof, T. C. Membrane fusion: grappling with SNARE and SM proteins / T. C. Sudhof, J. E. Rothman. – Text : direct // *Science.* – 2009. – Vol. 323. – P. 474–477.

257. Sugimoto, T. Scanning electron microscopic studies on the subepithelial tissue of the gastrointestinal mucosa of the rat / T. Sugimoto, T.

Ogata. – Text : direct // Arch. Histol. and Cytol. – 1989. – Vol. 52, № 3. – P. 257–265.

258. Sulfo-N-succinimidyl oleate (SSO) inhibits fatty acid uptake and signaling for intracellular calcium via binding CD36 lysine 164 / O. Kuda, T. A. Pietka, Z. Demianova [et al.]. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 2013. – Vol. 288. – P. 15547–15555.

259. Synthesis and turnover of membrane protein in rat liver: an examination of the membrane flow hypothesis / W. W. Franke, D. J. Morre, B. Deumling [et al.]. – Text : direct // Z. Naturforsch. – 1971. – Vol. 25. – P. 1031–1039.

260. Takeuchi, T. Distribution of the pores of epithelial basement membrane in the rat small intestine / T. Takeuchi, T. Gonda. – Text : direct // J. Vet. Med. Sci. – 2004. – Vol. 66, № 6. – P. 695–700.

261. TANGO1 and Mia2/cTAGE5(TALI) cooperate to export bulky pre-chylomicrons/VLDLs from the endoplasmic reticulum / A. J. Santos, C. Nogueira, M. Ortega-Bellido [et al.]. – Text : direct // J. Cell Biol. – 2016. – Vol. 213, № 3. – P. 343–354.

262. TANGO1 facilitates cargo loading at endoplasmic reticulum exit sites / K. Saito, M. Chen, F. Bard [et al.]. – Text : direct // Cell. – 2009. – Vol. 136, № 5. – P. 891–902.

263. Targeted deletion of fatty acid transport protein-4 results in early embryonic lethality / R. E. Gimeno, D. J. Hirsch, S. Punreddy [et al.]. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278. – P. 49512–49516.

264. Targeted disruption of the mouse villin gene does not impair the morphogenesis of microvilli / K. I. Pinson, L. Dunbar, L. Samuelson [et al.]. – Text : direct // Dev. Dyn. – 1998. – Vol. 211. – P. 109–121.

265. Tenascin synthesized by embryonic epithelia and peripheral glia accumulates in the surrounding mesenchyme / M. Koch, S. Baumgartner, J. Spring [et al.]. – Text : direct // Experientia. – 1991. – Vol. 47. – P. 29.

266. The 3D structure of villin as an unusual F-Actin crosslinker / C. M. Hampton, J. Liu, D. W. Taylor [et al.]. – Text : direct // Structure. – 2008. – Vol. 16, № 12. – P. 1882–1891.

267. The *Arabidopsis* RHD3 gene is required for cell wall biosynthesis and actin organization / Y. Hu, R. Zhong, W. Morrison [et al.]. – Text : direct // *Planta*. – 2003. – Vol. 217. – P. 912–921.

268. The association of gap junctions with large particles in the crypt epithelium of the rat small intestine / K. Kataoka, J. Tabata, M. Yamamoto [et al.]. – Text : direct // *Arch. Histol. Cytol.* – 1989. – Vol. 52, № 2. – P. 81–86.

269. The complete sequence of perlecan, a basement membrane heparin sulphate proteoglycan, reveals extensive similarity with laminin A chain, low density lipoprotein-receptor, and the neural cell adhesion molecule / D. Noonan, A. Fullet, P. Valente [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 1991. – Vol. 266. – P. 22939–22947.

270. The deaf jerker mouse has a mutation in the gene encoding the espin actin-bundling proteins of hair cell stereocilia and lacks espins / L. Zheng, G. Sekerková, K. Vranich [et al.]. – Text : direct // *Cell*. – 2000. – Vol. 102. – P. 377–385.

271. The Hsp110 molecular chaperone stabilizes apolipoprotein B from andoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD) / S. L. Hrizo, V. Gusarova, D. M. Habiel [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 282. – P. 32665–32675.

272. The identification of a novel andoplasmic reticulum to Golgi SNARE complex used by the prechylomicron transport vesicle / S. A. Siddiqi, S. Siddiqi, J. Mahan [et al.]. – Text : direct // *J. Biol. Chem.* – 2006. – Vol. 281. – P. 20974–20982.

273. The pathophysiology of intestinal lipoprotein production / A. Giannanco, A. B. Cefalù, D. Noto [et al.]. – Text : direct // *Front. Physiol.* – 2015. – № 6. – P. 61.

274. Thiam, A. R. The biophysics and cell biology of lipid droplets / A. R. Thiam, R. V. Farese Jr, T. C. Walther. – Text : direct // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2013. – Vol. 14. – P. 775–786.

275. Thumser, A. E. Fatty acid binding proteins: Tissuespecific functions in health and disease / A. E. Thumser, J. B. Moore, N. J. Plant. – Text : direct // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* – 2014. – Vol. 17. – P. 124–129.

276. Thumser, A. E. Liver and intestinal fatty acid-binding proteins obtain fatty acids from phospholipid membranes by different mechanisms / A. E. Thumser, J. Storch. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 2000. – Vol. 41. – P. 647–656.

277. Toulmay, A. Lipid transfer and signaling at organelle contact sites: the tip of the iceberg / A. Toulmay, W. A. Prinz. – Text : direct // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2011. – Vol. 23, № 4. – P. 458–463.

278. Transfer of cholesteryl esters and phospholipids as well as net deposition by microsomal triglyceride transfer protein / P. Rava, H. Athar, C. Johnson [et al.]. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 2005. – Vol. 46. – P. 1779–1785.

279. Translocational pausing of apolipoprotein B can be regulated by membrane lipid composition / A. E. Rusiñol, R. S. Hegde, S. L. Chuck [et al.]. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 1998. – Vol. 39. – P. 1287–1294.

280. Trigatti, B. L. The effect of intracellular pH on long-chain fatty acid uptake in 3T3-L1 adipocytes: evidence that uptake involves the passive diffusion of protonated long-chain fatty acids across the plasma membrane / B. L. Trigatti, G. E. Gerber. – Text : direct // *Biochem J.* – 1996. – Vol. 313 (Pt. 2). – P. 487–494.

281. Tso, P. Formation and transport of chylomicrons by enterocytes to the lymphatics / P. Tso, J. A. Balint. – Text : direct // *Am. J. Physiol.* – 1986. – V. 250. – P. 715–726.

282. Tso, P. Role of lymph flow in intestinal chylomicron transport / P. Tso, V. Pitts, D. N. Granger. – Text : direct // *Am. J. Physiol.* – 1985. – Vol. 249, № 1 (Pt. 1). – P. 21–28.

283. Tsukita, S. Multifunctional strands in tight junctions / S. Tsukita, M. Furuse, M. Itoh. – Text : direct // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2001. – Vol. 2. – P. 285–293.

284. Tumor suppressor scribble regulates assembly of tight junctions in the intestinal epithelium / A. I. Ivanov, C. Young, K. Den Beste [et al.]. – Text : direct // *Am. J. Pathol.* – 2010. – Vol. 176, № 1. – P. 134–145.

285. Turner, M. W. Isolation of the early phase of chylomicron in intestinal epithelial cells of rats / M. W. Turner, S. Frase, C. M. Mansbach. – Text : direct // *Biochimie*. – 1988. – Vol. 70, № 9. – P. 1263–1268.

286. Jin, L. Ubiquitin-dependant regulation of COPII coat size and function / L. Jin, K. B. Pahuja, K. E. Wickliffe. – Text : direct // *Nature*. – 2012. – Vol. 482. – P. 495–500.

287. Ultrastructural and immunocytochemical studies on the cytoskeleton in the anterior pituitary of rats, with special regard to the relationship between actin filaments and secretory granules / T. Sanda, H. Fujita, T. Ban [et al.]. – Text : direct // *Cell Tissue Res.* – 1989. – Vol. 258, № 1. – P. 25–30.

288. Ultrastructural immunolocalization of apolipoprotein B within human jejunal absorptive cells / N. J. Christensen, C. E. Rubin, M. C. Cheung [et al.]. – Text : direct // *J. Lipid Res.* – 1983. – Vol. 24, № 9. – P. 1229–1242.

289. Up-regulation of the expression of the gene for liver fatty acid-binding protein by long-chain fatty acids / C. Meunier-Durmort, H. Poirier, I. Niot [et al.]. – Text : direct // *Biochem J.* – 1996. – Vol. 319. – P. 483–487.

290. VAMP-7 mediates vesicular transport from andosomes to lysosomes / R. Advani, R. Prekeris, K. Lee [et al.]. – Text : direct // *J. Cell Biol.* – 1999. – Vol. 146. – P. 765–775.

291. Vesicle-associated membrane protein 7 is expressed in intestinal ER / S. A. Siddiqi, J. Mahan, S. Siddiqi [et al.]. – Text : direct // *J. Cell Sci.* – 2006. – Vol. 119. – P. 943–950.

292. Weiss, J. The role of the Golgi complex in fat absorption as studied with the electron microscope with observations on the cytology of duodenal

absorptive cells / J. Weiss. – Text : direct // J. Exp. Med. – 1955. – Vol. 102. – P. 775.

293. Wetterau, J. R. A triglyceride and cholesteryl ester transfer protein associated with liver microsomes / J. R. Wetterau, D. B. Zilversmit. – Text : direct // J. Biol. Chem. – 1984. – Vol. 259. – P. 10863–10866.

294. Why does the gut choose apolipoprotein B48 but not B100 for chylomicron formation? / C. M. Lo, B. K. Nordskog, A. M. Nauli [et al.]. – Text : direct // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2008. – Vol. 294, № 1. – P. 344–352.

295. Yamanaka, T. Role of Lgl/Dlg/Scribble in the regulation of epithelial junction, polarity and growth / T. Yamanaka, S. Ohno. – Text : direct // Front Biosci. – 2008. – Vol. 13. – P. 6693–6707.