

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1986

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1986

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXII

ВЫПУСК 2

МАРТ—АПРЕЛЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1986



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА,
В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОК-
ШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РО-
ЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС, С. Е. СЕ-
ВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
ШАПОТ В. С. (Москва)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

*Е. Н. Герасимова, М. М. Левачев, Н. В. Перова, Ю. П. Никитин,
И. Н. Озерова, С. Н. Кулакова, Ф. А. Медведев, Т. И. Торховская,
И. А. Щербакова, Т. И. Астахова*

ОСОБЕННОСТИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ФОСФАТИДИЛХОЛИНОВ И СФИНГОМИЕЛИНОВ ЛИПОПРОТЕИДОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ КОРЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ ЧУКОТКИ

ВКНЦ АМН СССР, Институт питания АМН СССР, Москва, II ММИ им. Н. И. Пирого-
ва, Институт терапии СО АМН СССР, Новосибирск

Основными фосфолипидами липопротеидов (ЛП) низкой плотности (ЛПНП) плазмы крови являются фосфатидилхолин и сфингомиелин [37], которые наряду с холестерином являются главными липидными компонентами плазматических мембран [32]. Различия в синтезе и транспорте фосфолипидов с помощью липидпереносящих белков [14, 20], а также асимметрия фосфолипидного состава большинства мембран [1] подчеркивают важность изучения скорости переноса индивидуальных фосфолипидов к мембранам. Последнее зависит от типа жирной кислоты в положении 2 фосфолипида и стимулируется ненасыщенными жирными кислотами [40]. В транспорте фосфолипидов и незаменимых жирных кислот к мембранам большая роль принадлежит ЛП плазмы крови [6, 10, 21, 33, 44].

Количественный и качественный состав жирных кислот, поступающих с пищей, определяет общий пул полиненасыщенных жирных кислот и оказывает влияние на состав жирных кислот и их количество во всех классах ЛП плазмы крови [26]. Показано, что даже трехдневное введение животным полиненасыщенных жирных кислот вызывает изменения жирнокислотного состава фосфолипидов печени [29]. Было выявлено влияние качественно различного питания на жирнокислотный состав фосфолипидов эндоплазматического ретикулума [30] и плазматических мембран [39].

В популяционных исследованиях при снижении в пище отношения полиненасыщенных жиров к насыщенным в восточной части Финляндии по сравнению с западной областью отмечалось и снижение процента линолевой кислоты (18 : 2) в фосфолипидах, эфирах холестерина и триглицеридах плазмы крови [28]. Потребление жиров мор-

ских млекопитающих и рыб с большим содержанием высоконенасыщенных жирных кислот (20 : 5 и 22 : 6) сопровождается значительным увеличением содержания этих кислот в фосфолипидах плазмы крови гренландских эскимосов по сравнению с таковыми у эскимосов, проживающих в Дании, а также в контрольной группе датчан, потребляющих растительные масла, содержащие в качестве ненасыщенных жирных кислот линолевую (18 : 2) [12].

Данные литературы показывают, что различия в природе полиненасыщенных жирных кислот фосфолипидов плазмы крови должны определять соответствующие изменения в фосфолипидах мембран клеток, включая мембраны миоцитов, гладкомышечных и эндотелиальных клеток сосудов, а также мембран тромбоцитов. Так, для преобладания синтеза тромбоксана A_2 или простагландина является важным соотношение арахидоновой (20 : 4) и эйкозопентаеновой (20 : 5) кислот, поскольку арахидоновая кислота является предшественником тромбоксана A_2 в тромбоцитах [18] и увеличивает агрегацию, а эйкозопентаеновая кислота или масло рыб с высоким содержанием этой кислоты подавляет образование тромбоксана A_2 и способствует синтезу простагландина [13].

Приведенные выше данные позволяют предположить, что потребление коренным населением Чукотки на протяжении поколений большого количества жира морских млекопитающих и рыб, богатого эйкозопентаеновой кислотой (20 : 5), могло привести к обогащению этой кислотой фосфатидилхолина и сфингомиелина ЛПНП, т. е. к изменению молекулярных видов этих фосфолипидов. Однако эти вопросы до настоящего времени не были исследованы.

Изложенное явилось основанием для

изучения жирнокислотного состава фосфатидилхолина и сфингомиелина ЛПНП плазмы крови у коренных жителей Чукотки — эскимосов, потребляющих с пищей жир с высоким содержанием полиненасыщенной жирной кислоты 20 : 5 и в качестве сравнения у москвичей, употребляющих в составе рациона растительные масла, содержащие кислоты 18 : 2.

Методика

Исследования проведены у 10 эскимосов мужчин — коренных жителей Чукотки — в возрасте 30—59 лет, взятых преднамеренно из выборки, проходившей эпидемиологическое обследование, и 5 мужчин той же возрастной группы, проживающих в Москве. Кровь для исследования брали из локтевой вены натощак в пробирки, содержащие сухую ЭДТА (1 мг/мл крови). В плазме крови определяли содержание общих холестерина и триглицеридов на автоанализаторе АА-П фирмы «Tesch-picon» (США), а также холестерина ЛП высокой плотности (ЛПВП) после удаления ЛПНП преципитацией гепарином и марганцем [8]. Содержание в плазме крови апопротенина В (апо В) определяли методом «ракетного» иммуноэлектрофореза [11]. Суммарную фракцию липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) и ЛПНП выделяли однократным ультрацентрифугированием как флотирующую в плотности 1,07 г/мл по методу [7] в модификации Николса [27] на ультрацентрифуге L5-65, ротор 40,3 фирмы «Beckman» (США) при 105 000g и температуре 17 °С в течение 36 ч. В полученных препаратах ЛП определяли содержание холестерина, апо В, фосфолипидов [38], результаты выражали в миллиграммах на 1 дл плазмы крови. Фосфолипиды после экстракции их по Фолчу фракционировали методом двумерной микротонкослойной хроматографии по Кейтсу [2]. В каждой фракции определяли содержание фосфора по Васильевскому [41], содержание фосфолипидов каждого класса выражали в процентах от их суммарного количества.

Для определения жирнокислотного состава фосфолипидов и сфингомиелина их выделяли из суммарной фракции ЛПОНП и ЛПНП препаративной тонкослойной хроматографией и подвергали метаболизму с хлористым ацетилом [2]. Газожидкостный анализ метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) проводили на хроматографе «Цвет-106» с пламенно-ионизационным детектором. Использовали стеклянную колонку 0,4×210 см, наполненную 10 %

Silar — 10С на хромосорбе W/LW 80—120 меш. Скорость газа-носителя 40 мл/мин, температура колонки 198 °С, температура детектора и испарителя 220 °С. Жирные кислоты идентифицировали как путем сравнения удерживаемых объемов исследуемой смеси и стандартных препаратов МЭЖК (C₁₆—C₂₄), так и методом хромато-масс-спектрометрии. Масс-спектрометрические исследования проводили на хромато-масс-спектрометре «Финниган-3200» с автоматической системой обработки данных. Энергия ионизирующих электронов 70 эВ, диапазон массовых чисел 40—420 а. е. м., температура источников ионов 120 °С. Хроматографическое разделение МЭЖК производили на стеклянной капиллярной колонке 0,3 мм×47 м со стационарной фазой Е-52 при температуре 90 °С в течение 2 мин и при температуре 200 °С в течение 18 мин. Температура испарителя и переходных линий 260 и 230 °С соответственно. Скорость газа-носителя (гелия) 1,5 мл в 1 мин.

Состав жирных кислот рассчитывали методом внутреннего нормирования и выражали в процентах от суммы всех жирных кислот.

Результаты обработаны статистически по критериям Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования липидов и белков плазмы, а также ЛП плазмы у эскимосов и москвичей представлены в табл. 1. Как видно из этой таблицы, у эскимосов содержание в плазме крови общего холестерина, триглицеридов и холестерина атерогенных классов ЛП ниже, а уровень холестерина ЛПВП выше, чем у жителей Москвы. Аналогичные данные были получены нами ранее при обследовании в 1979 и 1980 гг. репрезентативных выборок коренных жителей Чукотки — чукчей — по сравнению с таковыми в московской популяции [3, 4]. Наряду с более низким содержанием холестерина ЛПНП у эскимосов отмечалась более низкая концентрация других структурных компонентов этих ЛП: фосфолипидов и апо В. Это дает основание считать, что у эскимосов по сравнению с москвичами снижено количество частиц ЛПНП. Кроме того, в ЛПНП у эскимосов были выявлены некоторые изменения фосфолипидного состава:

Таблица 1

Содержание (в мг/100 мл) липидов и белков плазмы и ЛП у москвичей и эскимосов

Обследованные	Холестерин плазмы	Триглицериды плазмы	Холестерин ЛПВП	ЛПНП + ЛПОНП		
				холестерин	фосфолипиды	апо В
Москвичи (5)	224±10,1	122±16,4	56±1,9	168±8,7	126±5,1	93±6,4
Эскимосы (10)	191±5,9	76±10,4	69±8,2	122±9,8	74±4,2	57±1,3
<i>P</i>	<0,02	<0,05	<0,01	<0,01	<0,01	<0,001

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 в скобках — число обследованных.

Таблица 2
Жирнокислотный состав (в %) фосфатидилхо-
линов ЛПНП у москвичей и эскимосов

Жирная кислота	Москвичи (5)	Эскимосы (10)	<i>P</i>
14:0	1,2±0,24	3,3±0,58	<0,001
16:0	11,8±2,01	18,5±2,25	<0,05
16:1	1,5±0,23	3,0±0,60	<0,05
18:0	14,7±0,91	14,5±0,71	—
18:1	12,7±1,02	15,9±2,07	—
18:2	21,7±0,94	14,4±2,26	<0,05
20:0	0,9±0,18	1,0±0,30	—
20:1	0,8±0,10	1,2±0,16	—
20:2	1,10±0,17	0,8±0,23	—
20:3	6,3±0,76	1,4±0,29	<0,01
20:4	12,7±1,04	5,2±0,73	<0,01
20:5	2,0±0,31	7,3±1,44	<0,01
21:0	—	0,3±0,20	—
22:1+22:2	0,7±0,16	0,2±0,13	<0,05
22:4	0,8±0,08	0,5±0,15	—
22:5	1,6±0,32	1,8±0,23	—
22:6	6,0±0,84	4,9±1,04	—
24:0	0,3±0,19	0,9±0,33	—
24:1	2,9±0,40	4,4±0,90	—
Всего:			
насыщенных	28,9±2,55	38,3±2,42	<0,02
ненасыщен- ных	70,9±2,30	60,9±1,04	<0,01

более высокое содержание сфингомиелина $25,5 \pm 0,90$ % против $20,3 \pm 0,95$ % у москвичей ($P < 0,01$) при неизменном содержании фосфатидилхолина ($65,4 \pm 1,58$ % против $67,7 \pm 1,79$ %). При этом наблюдалось и различие в соотношении фосфатидилхолин / сфингомиелин, которое у эскимосов было снижено до $2,58 \pm 0,12$ против $3,46 \pm 0,11$ у москвичей ($P < 0,01$).

Результаты определения жирнокислотного состава фосфатидилхолина ЛПНП плазмы крови жителей Чукотки и Москвы представлены в табл. 2. В фосфатидилхолине присутствуют насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты от миристиновой (14:0) до декозгексаеновой (22:6). В фосфатидилхолине фракции ЛПОНП и ЛПНП, выделенных из плазмы крови москвичей, относительное содержание жирных кислот, наиболее характерных для фосфатидилхолина: ненасыщенных — линолевой (18:2) и арахидоновой (20:4), а также насыщенной — стеариновой (18:0) соответствовали данным литературы, полученным для фосфатидилхолина плазмы [25], а также ЛПОНП и ЛПНП [26] у лиц, находившихся на обычной диете. При этом

по сравнению с данными, приведенными в литературе, процентное содержание пальмитиновой кислоты (16:0) было более низким при более высоком процентном содержании 20:3 и 22:6 жирных кислот. Таким образом, отмечалось значительное сходство состава жирных кислот, характерных для положения 1 и 2 фосфатидилхолина ЛПНП плазмы крови обследованных москвичей и жителей других европейских стран, что позволяет предполагать у них однотипность молекулярных видов фосфатидилхолина. Как видно из табл. 2, в фосфатидилхолине у эскимосов по сравнению с москвичами процентное содержание суммы насыщенных жирных кислот было выше и соответственно ненасыщенных жирных кислот — ниже. При этом наблюдалось значительное различие в соотношении ряда отдельных жирных кислот фосфатидилхолина у эскимосов и москвичей. Так, содержание пальмитиновой (16:0) и эйкозопентаеновой (20:5) кислот было более высоким, а линолевой (18:2) и арахидоновой (20:4) — более низким у эскимосов по сравнению с москвичами при отсутствии различий в процентном содержании стеариновой кислоты (18:0). Увеличение относительной доли жирных кислот 16:0 и 20:5 наряду со снижением процентного содержания 18:2 и 20:4 у эскимосов указывает на некоторое увеличение молекулярных видов фосфатидилхолина, содержащих комбинации 16:0 20:5, при снижении доли обычных видов фосфатидилхолина, содержащих в положении 2 кислоты 18:2 и (или) 20:4.

Наблюдаемое у эскимосов более низкое процентное содержание суммарных ненасыщенных жирных кислот и соответственно более высокое — насыщенных жирных кислот в фосфатидилхолине могло бы привести к более плотной молекулярной упаковке жирнокислотных цепей поверхностного монослоя липопротендных частиц. Однако более детальное рассмотрение полученных данных в зависимости от длины углеродной цепи и степени ненасыщенности индивидуальных жирных кислот позволяет прийти к другому выводу. Так, среди насыщенных кислот преобладают более короткоцепочечные (14:0+16:0): сумма их у эскимосов составляет $21,8 \pm 2,25$ %, а у москвичей — только $13,2 \pm 2,01$ % ($P < 0,05$).

Несмотря на то что у эскимосов снижено общее содержание ненасыщенных жирных кислот за счет в основном линолевой и арахидоновой, у них наблюдается увеличение процентного содержания эйкозапентаеновой кислоты (20 : 5). Более высокое процентное содержание этой высоконасыщенной жирной кислоты и увеличение доли короткоцепочечных насыщенных жирных кислот у эскимосов свидетельствует о тенденции к повышенной жидкости поверхности монослоя фосфатидилхолина ЛПНП. При этом обращает на себя внимание резкое снижение соотношения 20 : 4/20 : 5 в фосфатидилхолине ЛПНП у эскимосов — $0,99 \pm 0,20$ по сравнению с таковыми у москвичей — $6,7 \pm 0,95$ ($P < 0,001$).

Результаты определения жирнокислотного состава сфингомиелинов ЛПНП, выделенных из плазмы крови обследованных групп эскимосов и москвичей, представлены в табл. 3. Согласно данным литературы, относительное содержание ряда кислот, в частности пальмитиновой и стеариновой, в сфингомиелинах сильно варьирует от индивидуума к индивидууму [25, 26, 33]. Полученные нами данные показывают, что процентное содержание кислот 16 : 0 и 18 : 0 у москвичей находилось в пределах колебаний, отмеченных другими авторами. При этом сумма характерных для сфингомиелина [17] лигноцериновой (24 : 0) и нервоновой (24 : 1) кислот у москвичей составила 28 %, что соответствует данным литературы [33]. В сфингомиелине ЛПНП у москвичей относительная доля лигноцериновой и оленновой кислот была ниже, а нервоновой кислоты — выше по сравнению с показателями, приведенными в литературе [24—26, 33]. Процентное содержание линолевой кислоты (18 : 2) в сфингомиелине у москвичей соответствовало таковому для ЛПНП, полученному рядом авторов [25, 26], но было значительно выше по сравнению с данными других исследователей [33], обнаруживших в сфингомиелине лишь следовые количества линолевой и арахидоновой кислот.

При сравнении жирнокислотного состава сфингомиелинов ЛПНП жителей Чукотки и москвичей (см. табл. 3) оказалось, что процентное содержание как суммы насыщенных, так и суммы ненасыщенных жирных кислот в них было одинаково. Однако у эскимосов

Таблица 3
Жирнокислотный состав (в %) сфингомиелинов ЛПНП плазмы крови у москвичей и эскимосов

Жирная кислота	Москвичи (5)	Эскимосы (10)	P
14:0	$4,3 \pm 0,38$	$3,1 \pm 0,79$	—
16:0	$13,4 \pm 1,04$	$15,9 \pm 1,90$	—
16:1	$4,1 \pm 0,52$	$5,1 \pm 0,80$	—
18:0	$6,9 \pm 2,18$	$11,0 \pm 0,82$	—
18:1	$8,3 \pm 1,04$	$10,3 \pm 1,50$	—
18:2	$6,8 \pm 0,92$	$5,6 \pm 0,85$	—
20:0	$2,8 \pm 0,51$	$3,1 \pm 0,78$	—
20:1	$1,2 \pm 0,18$	$1,9 \pm 0,44$	—
20:2	—	$0,9 \pm 0,21$	—
20:3	—	$0,7 \pm 0,54$	—
20:4	$2,6 \pm 0,29$	$5,2 \pm 0,71$	$< 0,01$
20:5	$3,5 \pm 1,26$	$7,5 \pm 1,83$	—
21:0	$0,9 \pm 0,08$	$1,7 \pm 0,60$	—
22:0	$6,2 \pm 0,99$	$3,3 \pm 0,45$	$< 0,05$
22:1+22:2	—	$0,5 \pm 0,05$	—
22:5	$1,1 \pm 0,29$	$1,6 \pm 0,39$	—
22:6	$1,8 \pm 0,17$	$4,8 \pm 1,37$	—
23:0	$3,8 \pm 0,49$	$3,2 \pm 0,77$	—
24:0	$5,6 \pm 1,02$	$2,3 \pm 1,45$	$< 0,02$
24:1	$23,1 \pm 1,28$	$11,3 \pm 2,63$	$< 0,01$
26:0	—	$0,9 \pm 0,53$	—
Всего:			
насыщенных	$43,9 \pm 2,11$	$44,2 \pm 2,26$	—
ненасыщенных	$56,0 \pm 2,06$	$55,5 \pm 1,94$	—

отмечалось более высокое содержание суммы длинноцепочечных жирных кислот (20 : 5, 22 : 5, 22 : 6), составляющее $13,9 \pm 1,44$ % против $6,4 \pm 0,6$ % ($P < 0,05$) у москвичей. Это обстоятельство может обуславливать увеличение в поверхностном слое ЛПОНП и ЛПНП эскимосов сфингомиелина с более высокой жидкостью.

Как известно, фосфолипиды являются основными структурными компонентами биомембран и оказывают влияние на проницаемость, транспорт ионов и активность мембранно-связанных ферментов. Поэтому для функции мембран существенное значение имеет обновление их липидного компонента и, следовательно, качество и количество незаменимых полиненасыщенных жирных кислот, поступающих с продуктами питания. С этой точки зрения представляют интерес выявленные нами изменения жирнокислотного состава фосфатидилхолина и сфингомиелина ЛПНП коренных жителей Чукотки, потребляющих жиры морских млекопитающих и рыб с большим содержанием полиненасыщенных жирных кислот 20 : 5 и 22 : 6, по сравнению с москвичами, потребляющими растительные масла, диеновую — линолевую кислоту

(18 : 2). Эти результаты согласуются с данными [12], полученными при изучении жирнокислотного состава общих фосфолипидов плазмы крови у гренландских эскимосов и выявившими у них увеличение процентного содержания пальмитиновой (16 : 0) и эйкозапентаеновой (20 : 5) при снижении линолевой (18 : 2) и арахидоновой (20 : 4) кислот.

В зависимости от типа пищевого жира у экспериментальных животных были обнаружены изменения в жирнокислотном составе фосфолипидов печени, тромбоцитов и эндотелиальных клеток артерий и почек. При этом увеличение потребления крысами ненасыщенных жирных кислот приводило к увеличению в 5 раз содержания пальмитиновой кислоты в фосфолипидах печени и тромбоцитов [43]. Эти данные подтверждают результаты наших исследований о увеличении содержания пальмитиновой кислоты в фосфатидилхолине у эскимосов. Увеличение процентного содержания эйкозапентаеновой и снижение содержания арахидоновой кислоты было обнаружено как в плазме крови, так и в аорте крыс, получавших диету, обогащенную эйкозапентаеновой кислотой [36].

В свете этих данных литературы обнаруженное нами у эскимосов по сравнению с москвичами увеличение процентного содержания 20 : 5 при снижении 18 : 2 и 20 : 4 кислот в фосфатидилхолине и сфингомиелине ЛПНП наряду с резким снижением соотношения 20 : 4/20 : 5 в фосфатидилхолине имеет большое влияние на свойства и метаболизм ЛП плазмы крови, на свойства биомембран, а также на соотношение тромбоксана A_2 и простациклина у коренных жителей Чукотки.

Что касается ЛП плазмы крови, то такое предположение основано на ряде фактов: полиненасыщенные жирные кислоты увеличивают активность липопротеидлипаз [15, 23], снижают синтез апо В [35]. Подтверждением этого является снижение количества триглицеридов, общего холестерина, холестерина ЛПНП и апо В в плазме крови по сравнению с москвичами как у обследованных эскимосов, так и других коренных жителей Чукотки — чукчей, обнаруженное нами ранее на репрезентативных выборках [3, 4]. Можно полагать, что обогащение фосфатидилхолина и сфингомиелина эйкозапента-

еновой кислотой и увеличение содержания жирных кислот с короткой углеродной цепочкой в ЛПНП у эскимосов приводит к увеличению жидкости поверхности монослоя этих ЛП. Вполне вероятно, что последнее изменяет проникновение эфиров холестерина в ядро этих частиц и транспорт от ЛПОНП свободного холестерина и фосфолипидов к ЛПВП, т. е. оказывает влияние на свойства и информацию ЛП плазмы крови. Увеличение жидкости ЛПОНП и ЛПНП, выделенных из плазмы крови мужчин с нормальным уровнем липидов, наблюдалось в результате применения в течение 35 дней диеты с большим количеством ненасыщенных жиров (за счет линолевой кислоты) после использования диеты с насыщенными жирами [22].

При обсуждении возможного влияния выявленных особенностей в составе жирных кислот фосфолипидов у эскимосов на свойства биомембран необходимо учитывать данные литературы о том, что физическое состояние липидов в составе мембран определяется в значительной мере качеством и количеством ненасыщенных жирных кислот, которые не синтезируются в организме, а добавляются в мембраны в составе ЛП плазмы крови [34]. Известно, что более короткие цепи жирных кислот и наибольшая степень ненасыщенности жирных кислот обуславливают более низкую температуру фазового перехода от кристаллического к жидкокристаллическому состоянию фосфолипидов мембран [9].

Изменение жидкости мембран меняет активность аденилциклазы и Na^+ , K^+ -АТФазы — двух мембранно-связанных ферментов [5]. Изменение же уровня внутриклеточного циклического АМФ может приводить к изменению мембранной и клеточной пролиферации [19].

Резкое снижение соотношения 20 : 4/20 : 5 в фосфатидилхолине у эскимосов при увеличении содержания кислоты 20 : 5 может влиять не только на активность мембранно-связанных ферментов, но и на синтез тромбоксана и простациклина. Основанием для такого предположения является ряд накопленных в настоящее время данных. Так, у людей, находящихся на диете с высоким содержанием липидов морской рыбы, богатых кислотами 20 : 5 и 22 : 6,

эти кислоты очень эффективно включались в мембраны за счет замещения ими кислот 18 : 2 и 20 : 4 [42]. Авторы полагают, что эти изменения в структуре мембран могут менять их жидкостность и количество рецепторных мест на клеточных мембранах. Включение ^{14}C -меченных кислот 20 : 4 и 20 : 5 в фосфатидилхолин тромбоцитов человека было выше для 20 : 5, чем для 20 : 4 [43]. Показано, что кислота 20 : 5 может замещать 20 : 4 в тромбоцитах и в ЛП in vivo [36]. В опытах in vitro также показано, что полиненасыщенные жирные кислоты 20 : 5 и 22 : 6 легко заменяли 18 : 2 и 20 : 4 в фосфолипидях мембран. Это дает основание полагать, что обнаруженное нами наличие молекулярных видов фосфатидилхолина и сфингомиелина с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот в ЛПНП может приводить к транспорту таких обогащенных эйкозапентаеновой кислотой фосфолипидов в мембраны клеток и к изменению в них соотношения тех полиненасыщенных жирных кислот, из которых синтезируются тромбоксан A_2 и простациклин. Изменению этого соотношения способствует и увеличение освобождения соответствующих жирных кислот в результате гидролиза триглицеридов и фосфолипидов, обогащенных кислотой 20 : 5, поскольку известно, что полиненасыщенные жирные кислоты увеличивают активность липопротеинлипазы и фосфолипазы A_2 [15, 23].

ЛИТЕРАТУРА

- Дятловская Э. В., Лименовская А. Ф., Бергелсон Л. Д. — Биохимия, 1977, т. 44, с. 498—504.
- Кейтс М. Техника липидологии. Пер. с англ. Л., 1975, с. 167—185.
- Перова Н. В. Аполипопротеины при дислипидемиях и атеросклероз. Дис. докт. мед. наук. М., 1982.
- Полесский В. А., Чепурненко Н. В., Кошечкин В. А. и др. — Кардиология, 1980, № 12, с. 54—59.
- Bannai S., Sheppard J. R. — Nature, 1974, vol. 250, p. 62—64.
- Bereziat G., Chambaz J., Trugnan G. et al. — J. Lipid Res., 1978, vol. 19, p. 495—500.
- Blanche P. J., Gong E. L., Forte T. M. — Biochim. biophys. Acta, 1981, vol. 665, p. 409—419.
- Burnstein M., Scholnick H. R., Morfin R. — J. Lipid Res., 1970, vol. 11, p. 583—595.
- Chapman D., Urbina J., Keough K. M. — J. biol. Chem., 1974, vol. 249, p. 2512—2521.
- Cooper R. A. — Seminars Hemat., 1970, vol. 7, p. 296—322.
- Curry M. D., Gustafson A., Alanpovic P. et al. — Clin. Chem., 1978, vol. 24, p. 280—286.
- Dyerberg J., Bang H. O., Hjdrne H. — Amer. J. clin. Nutr., 1975, vol. 28, p. 958—966.
- Dyerberg J., Bang H. O., Stofferson A. — Lancet, 1978, vol. 1, p. 117—119.
- Ehnholm C., Zilversmit D. B. — J. biol. Chem., 1973, vol. 248, p. 1719—1724.
- Eisenberg S. — Atheroscler. Rev., 1976, vol. 1, p. 23—60.
- Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. H. — J. biol. Chem., 1957, vol. 226, p. 497—509.
- Gall S. — Biochim. biophys. Acta, 1963, vol. 70, p. 370—381.
- Hamberg M., Samuelson B. — Proc. nat. Acad. Sci. USA, 1974, vol. 71, p. 3400—3404.
- Jackson R. Z., Gotto A. M. — Atheroscler. Rev., 1976, vol. 1, p. 1—22.
- Johnson H. W., Zilversmit D. B. — Biochim. biophys. Acta, 1975, vol. 375, p. 165—178.
- Illingsworth D. R., Portman W. O., Robertson A. L. — Ibid., 1973, vol. 306, p. 422—426.
- Kuksis A., Myher J. J., Geherand K. et al. Atherosclerosis, 1982, vol. 41, p. 221—240.
- Rosa J. C., Levy R. J., Windmueller H. G., Fredrickson D. S.
- Myher J., Kuksis A., Shepherd J. et al. — Biochim. biophys. Acta, 1981, vol. 666, p. 110—119.
- Nelson G. J. — J. Lipid Res., 1962, vol. 3, p. 71—79.
- Nelson G. J., Fereman N. K. — J. biol. Chem., 1960, vol. 235, p. 578—583.
- Nichols A. V., Blanche P. J., Krauss R. M. et al. — In: Report of the High Density Lipoprotein Methodology Workshop. Bethesda, 1979, p. 303—309.
- Nikkari T., Salo M., Maatela J. et al. — Atherosclerosis, 1983, vol. 49, p. 139—148.
- Muto J., Gibson D. M. — Biochem. biophys. Res. Commun., 1970, vol. 38, p. 9—15.
- Park C. E., Marai E., Meokerja S. — Biochim. biophys. Acta, 1972, vol. 270, p. 50—57.
- Reed C. F., Murphy M., Robert S. G. — J. clin. Invest., 1968, vol. 47, p. 749—760.
- Rouser G., Nelson G. J., Fleischer S., Simon G. — In: Biological Membranes / Ed. D. Chapman. London, 1968, p. 5—69.
- Sardly C. C. — J. Lipid Res., 1964, vol. 4, p. 402—406.
- Sandermann H. — Biochim. biophys. Acta, 1978, vol. 515, p. 209—237.
- Shepherd J., Packard C. J., Patsh J. R. et al. — J. clin. Invest., 1978, vol. 61, p. 1582—1587.
- Siess W., Rother P., Scherer et al. — Lancet, 1983, vol. 1, p. 441—444.
- Skipski V. P. — In: Blood Lipids and Lipoproteins / Ed. G. J. Nelson. New York, 1972, p. 471—583.
- Svannborg A., Svennerholm L. — Acta med. scand., 1961, vol. 169, p. 43—49.
- Sun J. V., Tepperman H. M., Tepperman J. — J. Nutr., 1979, vol. 109, p. 193—202.
- Tall A. K., Small D. M. — Nature, 1977, vol. 265, p. 163—164.
- Vaskovsky V. E., Kosecky E. J. — J. Chromatogr., 1972, vol. 67, p. 376—451.
- Vergolsen A. J. — In: International Symposium on Atherosclerosis. 6-th Proceedings. Berlin, 1983, p. 247—250.

43. Weiner T., Sprecher H. — Biochim. biophys. Acta, 1984, vol. 792, p. 293—303.
 44. Zilversmit D. B. — J. Lipid Res., 1971, vol. 12, p. 36—42.

Поступила 22.11.84

SPECIFIC CHARACTERISTICS OF THE FATTY ACID COMPOSITION OF PHOSPHATIDYL CHOLINES AND SPHINGOMYELINS IN LOW DENSITY LIPOPROTEINS FROM BLOOD PLASMA OF CHUKOT ABORIGENES

E. N. Gerasimova, M. M. Levacheva, N. V. Petrova, Yu. P. Nikulina, I. N. Ozerova, S. N. Kulakova, F. A. Medvedeva, T. I. Torkhovskaya, I. A. Scherbakova, T. I. Astakhova

All-Union Cardiological Research Centre, Institute of Nutrition, Academy of Medical Sciences of the USSR, N. I. Pirogov II Medical School, Moscow, Institute of Therapy, Siberian Branch of the Academy of Medical Sciences of the USSR, Novosibirsk

Contents of cholesterol, triglycerides, high density lipoproteins (HDL) cholesterol as well

as phospholipid and fatty acid compositions of phosphatidyl cholines and sphingomyelins in low density lipoproteins (LDL) were studied in blood plasma of Chukot aborigenes — Eskimos as compared with Moscow inhabitants. In Eskimos content of HDL cholesterol was higher but concentration of cholesterol and triglycerides was lower in blood plasma. In LDL concentration of sphingomyelins was increased and fatty acid composition of phosphatidyl cholines and sphingomyelins was altered where amount of polyunsaturated fatty acids was elevated (20:5 + 22:5 + 22:6). The specific characteristics of the LDL phospholipids observed in Eskimos might be responsible for the higher liquid properties of the surface monolayer in the lipoproteins; this alteration might be important for the lipoprotein properties and transformation as well as for the properties of membrane-bound enzymes, for synthesis of thromboxane and prostacyclines.

УДК 616.61-008.931:577.152.34]-074

Э. А. Дилакян, Л. А. Локшина, В. Н. Орехович

ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИСТЕИНОВЫХ ПЕПТИДГИДРОЛАЗ ИЗ КОРКОВОГО СЛОЯ ПОЧЕК ЧЕЛОВЕКА

Институт биологической и медицинской химии АМН СССР, Москва

В последние годы появился обширный материал об участии цистеиновых пептидгидролаз в ряде физиологических и патологических состояний [6, 7, 17, 19]. Это вызвало большой интерес к указанным ферментам и привело к открытию ряда новых цистеиновых пептидгидролаз: катепсинов Н, L, Т, М и др. [8, 10, 18]. В то же время цистеиновые ферменты почек человека, за исключением катепсина В, почти не изучены. Тем не менее в настоящее время имеются данные о том, что катепсины В и Н почек активируют неактивный ренин почек и плазмы человека [14, 21, 23]. Полагая, что такого рода процессы могут принимать участие в развитии почечной гипертензии, и учитывая, что изучение ренин-ангиотензиновой системы на протяжении многих лет проводится в нашей лаборатории [5], мы решили исследовать спектр цистеиновых пептидгидролаз в почках человека.

Методика

Ферменты выделяли в частично очищенном состоянии из коркового слоя почек человека. Весь материал получен от доноров, погибших

в результате острой травмы или заболеваний, не связанных с поражением почек. Ткань хранили при -20°C . Корковый слой почек после измельчения, 4-кратного замораживания и оттаивания гомогенизировали и экстрагировали 10^{-3} М раствором ЭДТА (отношение вес/объем 1:2); pH экстракта 5,8—6,2. После центрифугирования (90 мин, 5000 об/мин) pH экстракта доводили до 3,5 добавлением H_2SO_4 . Осадок удаляли центрифугированием, надосадочную жидкость фракционировали сульфатом аммония. Фракцию белков, осаждаемую при 40—70 % насыщения, растворяли в 0,01 М Na-фосфатном буфере pH 6,75, содержащем 10^{-3} М ЭДТА и 0,05 М NaCl. После удаления сульфата аммония на сефадексе Г-50 (фирма «Pharmacia») полученную фракцию белков подвергали гель-фильтрации через сефадекс Г-100 (колонка $2,6 \times 90$ см) при pH 6,75 в указанном выше буфере. Все процедуры проводили при 4°C .

Белок определяли по методу Лоури [13]. Протеолитическую активность исследовали по расщеплению ряда белковых и синтетических субстратов. Большинство опытов проводили в присутствии активаторов цистеиновых пептидгидролаз: дитиотрентола $2 \cdot 10^{-3}$ М (ДТТ) и 10^{-3} М ЭДТА.

Гидролиз гемоглобина (фирма «Reanal», ВНР) проводили при pH 4,1—4,5 в присутствии и в отсутствие ДТТ в течение 1 ч при 37°C . Расщепление азоказеина (фирма «Serva», ФРГ) исследовали при pH 6,3 и 7,2 с добавлением ионов Са и без них. О гидролизе белков судили по приросту в трихлоруксусном фильтрате оптической плотности при 366 нм (для азоказеина) и 280 нм (для гемоглобина).