

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

*ISSN 0042-8809*

1989 том 35 выпуск 3

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

## Voprosy meditsinskoï khimii

The journal archive

*ISSN 0042-8809*

1989 volume 35 issue 3

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible.

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

ТОМ 35

ВЫПУСК 3

МАЙ — ИЮНЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

# ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989



## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. А. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. И. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ, В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. А. ТУТЕЛЬЯН

## 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)

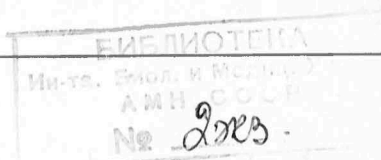
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)

ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)

ШАПОВ В. С. (Москва)

ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)

ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



Г. М. Касимова, Д. Т. Мирталипов, А. А. Абидов, З. С. Акбаров

## ЛИПИДЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ С СОСУДИСТЫМИ ПОРАЖЕНИЯМИ

НИИ краевой медицины Минздрава Узбекской ССР, Ташкент

Одним из патогенетических звеньев развития сосудистых осложнений в условиях абсолютной и относительной инсулиновой недостаточности является нарушение функций мембран эритроцитов [11]. При углубленных исследованиях было выяснено, что наряду с функциональными изменениями отмечаются нарушения и со стороны липидных компонентов мембран эритроцитов [8—10, 23]. Другим показателем, характеризующим степень изменения структуры мембран эритроцитов, является текучесть мембранных липидов. При сахарном диабете существенно понижается текучесть мембран эритроцитов за счет изменения соотношения различных типов липидов и ацильных цепей в мембране [17]. Выявленное снижение деформируемости эритроцитов [19] и увеличение микровязкости мембран при сахарном диабете [17] затрудняют их прохождение через систему микроциркуляции [15] и могут быть причиной гипоксии тканей и микроангиопатий при диабете. Как показали исследования ряда авторов [16, 17, 22], в структурных нарушениях мембран эритроцитов существенную роль играют мембранные липиды. Учитывая это, а также то, что липиды являются эффективными регуляторами многих механизмов функционирования мембран, мы поставили цель изучить качественный и количественный состав различных липидных фракций, фосфолипидов и лизофосфолипидов мембран эритроцитов больных сахарным диабетом с учетом клинической формы последнего и с различной тяжестью сосудистых поражений.

### Методика

Обследовано 115 больных сахарным диабетом в возрасте от 20 до 50 лет, из них 61 с инсулинозависимым (I тип), 54 с инсулинонезависимым (II тип). В группе с инсулинозависимым типом 15 больных были без сосудистых осложнений, 21 — с I стадией диабетической ангиопатии, 25 — со II стадией. В группе с инсулинонезависимым типом было 13 больных

без сосудистых осложнений, 19 и 22 — соответственно с I и со II стадией диабетической микроангиопатии.

Поражение сосудистой системы у больных оценивали на основании данных реовазограммы, капилляроскопии, офтальмоскопии, биомикроскопии конъюнктивы и показателей реограммы, а тяжесть определяли по классификации А. С. Ефимова [4]. Контрольную группу составляли 20 практически здоровых лиц в возрасте от 25 до 37 лет. Венозную кровь, собранную в пробирки с цитратом натрия, центрифугировали, надосадочную жидкость и слой лейкоцитов отсасывали. Эритроциты трижды промывали физиологическим раствором и осаждали центрифугированием при 2000 g в течение 10 мин. Липиды эритроцитов экстрагировали по методу Кейтса [7]. Фракционирование индивидуальных липидов проводили методом горизонтальной хроматографии в модификации А. В. Каргаполова [6]. Были получены следующие фракции липидов: общие фосфолипиды (ОФ), моноглицериды (МГ), холестерин (ХС), свободные жирные кислоты (СЖК), диглицериды (ДГ), триглицериды (ТГ), метиловые эфиры жирных кислот (МЭЖК), эфиры холестерина (ЭХС), лизофосфатидилхолин (ЛФХ), фосфатидилсерин (ФС), лизофосфатидилэтанолламин (ЛФЭ), сфингомиелин (СМ), фосфатидилинозитол (ФИ), фосфатидилхолин (ФХ), лизокардиолипид (ЛКЛ), фосфатидилэтанолламин (ФЭ), кардиолипид (КЛ), лизофосфатидная кислота (ЛФК), фосфатидная кислота (ФК). Липидный фосфор определяли методом В. Е. Васильковского [24], процентное содержание отдельных фракций липидов — методом денситометрического анализа [6].

### Результаты и обсуждение

Как видно из полученных данных (табл. 1 и 3), у больных с инсулинозависимым типом сахарного диабета без сосудистых осложнений отмечаются определенные нарушения как в содержании различных липидных фракций, так и соотношении фосфолипидов. Несмотря на то что количество ОФ уменьшается недостоверно, содержание индивидуальных фосфолипидов существенно изменяется.

При анализе количественного содержания индивидуальных фосфолипидов мембран эритроцитов больных сахарным диабетом обнаружено достоверное снижение уровней СМ и ФЭ. Уменьшение содержания ФЭ, по-видимому, связано с его частичным гидро-

Таблица 1

Содержание липидов в эритроцитах больных с I типом сахарного диабета при наличии микроангиопатии (в мкг на 1 мг белка)

Фракция липидов	Контроль (1)	Без ангиопатии (2)	$p_{1-2}$	I стадия ангиопатии (3)	$p_{1-3}$	$p_{2-3}$	II стадия ангиопатии (4)	$p_{1-4}$	$p_{2-4}$
ОФ	220,12 ± 3,28	211,02 ± 4,14	> 0,1	204,30 ± 2,54	< 0,001	> 0,25	198,10 ± 3,90	< 0,001	< 0,05
МГ	1,71 ± 0,06	1,91 ± 0,14	> 0,25	2,19 ± 0,31	< 0,001	> 0,5	2,78 ± 0,33	< 0,01	< 0,02
ХС	100,72 ± 3,09	104,76 ± 4,03	> 0,5	111,02 ± 2,74	< 0,02	> 0,25	116,26 ± 2,04	< 0,02	< 0,25
СЖК	13,66 ± 0,40	19,41 ± 1,81	< 0,01	23,76 ± 2,89	< 0,001	> 0,25	27,74 ± 1,40	< 0,001	< 0,001
ДФ	2,47 ± 0,09	2,61 ± 0,19	> 0,5	2,56 ± 0,28	> 0,5	> 0,5	3,97 ± 0,94	< 0,25	< 0,25
ТГ	13,44 ± 0,34	14,48 ± 1,05	> 0,5	14,13 ± 0,59	> 0,5	> 0,5	16,71 ± 0,71	< 0,001	< 0,1
МЭЖК	4,03 ± 0,11	4,41 ± 0,60	> 0,5	4,24 ± 0,64	> 0,5	> 0,5	5,91 ± 1,45	< 0,25	< 0,5
ЭХС	7,19 ± 0,13	8,97 ± 0,65	< 0,01	9,59 ± 0,74	< 0,01	> 0,5	10,07 ± 1,01	< 0,01	> 0,5

лизом фосфолипазой  $A_2$ , на что указывает возрастание уровня ЛФЭ. Из кислых фосфолипидов при сахарном диабете повышаются ФС, ФИ, ФК. Возможно, повышение ФК в мембранах эритроцитов связано с ацилированием ЛФК лизофосфатидилацилтрансферазой. Такой путь включения жирных кислот в фосфолипиды может являться более эффективным, чем путь их синтеза [21].

Исследование липидных компонентов мембран эритроцитов больных инсулинонезависимым диабетом без сосудистых поражений показало (табл. 2), что уменьшение доли ОФ сопровождается возрастанием уровня СЖК и ХС. Уменьшение доли ОФ в мембранах эритроцитов больных со II типом диабета происходит за счет понижения уровня нейтральных фосфолипидов — ФХ, ФЭ, СМ (табл. 4). В свою очередь параллельное увеличение количества ЛФХ и ЛФЭ свидетельствует о том, что уменьшение уровня ФХ и ФЭ в большой степени связано с проявлением активности фосфолипазы  $A_2$ . Из кислых фосфолипидов снижается ФИ. Повышение уровня ФК, так же как и при I типе диабета, связано с ацилированием ЛФК. Выявленные нарушения в составе липидных фракций и фосфолипидов в эритроцитах (см. табл. 2 и 4) больных без сосудистых

поражений практически не зависят от клинической формы сахарного диабета. Исключением является ФИ, содержание которого зависит от типа сахарного диабета.

Развитие сосудистых осложнений у больных как с I, так и со II типом сахарного диабета сопровождается усилением ранее выявленных изменений со стороны нейтральных липидов (см. табл. 1 и 2). Это выражается в том, что происходит дальнейшее уменьшение количества ОФ на фоне увеличения содержания ХС и СЖК. Обращает на себя внимание тот факт, что с развитием диабетических микроангиопатий повышается уровень ЭХС. Образование ЭХС в мембранах представляет собой один из путей детоксикации или выведения из метаболического русла избытка СЖК [20]. С другой стороны, повышение уровня ЭХС существенно увеличивает проницаемость мембраны эритроцитов для одновалентных ионов [5] и тем самым может снижать осмотическую стойкость эритроцитов при диабетических микроангиопатиях. Следует отметить, что количество СЖК как при I, так и при II типе возрастает почти одинаково, однако с развитием сосудистых осложнений возникает зависимость динамики их накопления от формы сахарного диабета. Если при I типе об-

Таблица 2

Содержание липидов в эритроцитах больных со II типом сахарного диабета при наличии микроангиопатии (в мкг на 1 мг белка)

Фракция липидов	Контроль (1)	Без ангиопатии (2)	$p_{1-2}$	I стадия ангиопатии (3)	$p_{1-3}$	$p_{2-3}$	II стадия ангиопатии (4)	$p_{1-4}$	$p_{2-4}$
ОФ	220,12 ± 3,28	197,00 ± 2,81	< 0,001	193,1 ± 2,57	< 0,001	> 0,5	188,21 ± 2,64	< 0,001	< 0,05
МГ	1,71 ± 0,06	1,84 ± 0,15	> 0,5	2,21 ± 0,25	< 0,05	> 0,25	2,71 ± 0,09	< 0,001	< 0,001
ХС	100,72 ± 3,09	111,96 ± 2,93	< 0,02	116,41 ± 5,36	< 0,02	> 0,5	120,46 ± 2,84	< 0,001	< 0,05
СЖК	13,66 ± 0,40	27,26 ± 2,54	< 0,001	29,39 ± 2,19	< 0,001	> 0,5	30,65 ± 1,05	< 0,001	< 0,25
ДФ	2,47 ± 0,09	2,50 ± 0,38	> 0,5	3,86 ± 0,56	< 0,02	> 0,05	6,86 ± 0,33	< 0,001	< 0,001
ТГ	13,44 ± 0,34	14,05 ± 0,26	> 0,25	14,73 ± 0,63	> 0,1	> 0,5	16,01 ± 0,47	< 0,001	< 0,001
МЭЖК	4,03 ± 0,11	6,56 ± 0,52	< 0,001	4,46 ± 0,53	> 0,5	< 0,01	4,84 ± 0,23	< 0,01	< 0,001
ЭХС	7,19 ± 0,13	7,71 ± 0,63	> 0,5	10,83 ± 1,34	< 0,02	< 0,05	11,47 ± 0,25	< 0,001	< 0,001

Таблица 3  
Фосфолипидный состав эритроцитов больных с I типом сахарного диабета при наличии микроангиопатии (в мкг на 1 мг белка)

Фракция фосфолипи- дов	Контроль (1)	Без ангиопатии (2)	$P_{1-2}$	I стадия ангиопатии (3)	$P_{1-3}$	$P_{2-3}$	II стадия ангиопатии (4)	$P_{1-4}$	$P_{2-4}$
ЛФХ	8,61±0,24	9,05±0,81	>0,5	10,56±0,20	<0,001	>0,1	11,09±0,35	<0,001	<0,05
ФС	22,08±0,84	24,80±0,51	<0,001	25,54±0,41	<0,01	>0,25	25,46±0,61	<0,01	>0,5
ЛФЭ	10,08±0,23	12,74±0,49	<0,001	15,22±0,40	<0,001	<0,001	14,57±0,37	<0,001	<0,01
СМ	43,14±0,75	38,00±0,79	<0,001	33,38±0,40	<0,001	<0,001	31,25±0,72	<0,001	<0,001
ФИ	5,92±0,08	6,64±0,26	<0,001	6,86±0,17	<0,01	0,5	6,93±0,16	0,5	>0,5
ФХ	61,19±1,13	56,84±1,45	>0,25	50,46±0,74	<0,001	<0,001	47,72±0,91	<0,001	<0,001
ЛКЛ	1,65±0,04	2,00±0,09	>0,5	2,82±0,16	<0,001	<0,001	2,97±0,22	<0,01	<0,001
ФЭ	44,59±0,73	37,70±0,80	<0,001	27,17±0,41	<0,001	<0,001	24,47±0,55	<0,001	<0,001
КЛ	14,81±0,29	14,77±1,01	>0,5	23,70±0,34	<0,001	<0,001	24,94±0,52	<0,001	<0,001
ЛФК	4,31±0,08	3,42±0,06	<0,001	2,65±0,15	<0,001	<0,001	2,48±0,13	<0,001	<0,001
ФК	3,72±0,07	5,42±0,10	<0,001	5,92±0,14	<0,001	>0,5	6,20±0,14	<0,001	<0,002

Таблица 4  
Фосфолипидный состав эритроцитов больных со II типом сахарного диабета при наличии микроангиопатии (в мкг на 1 мг белка)

Фракция фосфолипи- дов	Контроль (1)	Без ангиопатии (2)	$P_{1-2}$	I стадия ангиопатии (3)	$P_{1-3}$	$P_{2-3}$	II стадия ангиопатии (4)	$P_{1-4}$	$P_{2-4}$
ЛФХ	8,61±0,24	11,43±0,27	<0,001	10,11±0,64	<0,05	>0,1	10,47±0,33	<0,002	<0,05
ФС	22,08±0,84	23,19±0,53	>0,5	21,73±0,45	>0,5	<0,05	21,88±0,60	>0,5	>0,1
ЛФЭ	10,08±0,23	14,36±0,49	<0,001	12,45±0,56	<0,01	<0,05	14,96±0,39	<0,001	>0,5
СМ	43,14±0,75	36,84±1,16	<0,001	32,42±0,93	<0,001	<0,01	30,56±0,78	<0,001	<0,001
ФИ	5,92±0,08	4,41±0,25	<0,001	5,15±0,34	<0,05	>0,1	4,47±0,11	<0,001	>0,5
ФХ	61,19±1,13	50,39±0,97	<0,001	49,80±0,95	<0,001	>0,5	47,26±1,38	<0,001	>0,1
ЛКЛ	1,65±0,04	1,50±0,18	>0,5	1,95±0,17	>0,25	>0,1	3,49±0,09	<0,001	<0,001
ФЭ	44,59±0,73	31,22±0,66	<0,001	32,42±1,08	<0,001	>0,05	27,39±0,85	<0,001	<0,002
КЛ	14,81±0,29	15,84±0,68	>0,25	19,11±0,78	<0,001	<0,05	20,03±0,58	<0,001	<0,001
ЛФК	4,31±0,08	2,42±0,06	<0,001	3,20±0,26	<0,001	<0,01	2,27±0,08	<0,001	<0,001
ФК	3,72±0,07	5,40±0,14	<0,001	4,65±0,25	<0,002	<0,02	5,43±0,15	<0,001	>0,5

разование СЖК коррелирует со стадиями диабетических микроангиопатий, то при II типе максимальный прирост СЖК приходится на стадию сахарного диабета, когда еще не выявлены сосудистые поражения, и в дальнейшем с развитием диабетической ангиопатии отмечается лишь незначительное повышение уровня СЖК. Данное обстоятельство указывает на то, что при инсулинзависимом диабете развитие сосудистых поражений сопровождается существенной активацией процессов деацилирования липидов эритроцитов.

Исследования фосфолипидного спектра мембран эритроцитов больных сахарным диабетом при наличии диабетических микроангиопатий выявили более глубокие нарушения со стороны нейтральных фосфолипидов (см. табл. 3). Так, увеличение фракций ЛФХ, ЛФЭ при инсулинзависимом диабете коррелирует со стадиями микроангиопатий, что свидетельствует о существенном повышении активности фосфолипазы  $A_2$ , гидролизующей соответственно ФХ и ФЭ. Дальнейшее уменьшение ФХ и ФЭ по мере развития сосудистых осложнений выявлено также в мембранах эритроцитов при инсулиннезависимом диабете (см. табл. 4) с той лишь разницей, что количество убывших ФХ и ФЭ намного превышает количество образовавшихся ЛФХ и ЛФЭ. Это говорит о том, что при II типе диабета с развитием диабетических микроангиопатий происходит ингибирование фосфолипазы  $A_2$  в мембранах эритроцитов. Учитывая определенное сходство в строении и функции плазматических мембран с форменными элементами крови, можно предположить, что выявленный механизм ингибирования активности фосфолипазы  $A_2$  тромбоцитов ненасыщенными жирными кислотами [14] вполне может иметь место и в мембранах эритроцитов больных с инсулиннезависимой формой диабета, поскольку даже при отсутствии сосудистых поражений количество жирных кислот возрастает в 2 раза (см. табл. 2).

Следовательно, при развитии у больных диабетических ангиопатий возникает зависимость метаболизма основных фосфолипидов мембран эритроцитов от клинической формы сахарного диабета. Если при I типе преобладают процессы гидролиза фосфоли-

пазами данных фосфолипидов, то при II типе в основе этих изменений, по-видимому, лежит нарушение транспорта данных фракций из плазмы в эритроциты.

Независимо от типа сахарного диабета (см. табл. 3 и 4) при наличии сосудистых поражений резко уменьшается уровень СМ. Исходя из того что СМ принимает участие в процессах межклеточного взаимодействия и рецепции, можно предположить, что уменьшение количества СМ при сосудистых осложнениях отражает степень снижения чувствительности эритроцитов к инсулину. Повышение уровня КЛ при диабетических микроангиопатиях также отмечается при обоих типах сахарного диабета. В настоящее время вопрос о роли КЛ в функционировании плазматических мембран остается открытым. Возможно, увеличение доли КЛ на фоне уменьшения уровня основных фосфолипидов при диабетических ангиопатиях может отражать адаптационно-компенсаторные сдвиги, направленные на поддержание стабильности мембран эритроцитов за счет электростатического и гидрофобного взаимодействия КЛ с белковыми компонентами [3]. Состав кислых фосфолипидов мембран эритроцитов с развитием сосудистых осложнений существенно не менялся, за исключением увеличения количества ФИ и ФК при I типе диабета с сосудистыми поражениями (см. табл. 3). Необходимо отметить, что ФИ и ФК играют важную роль в регуляции транспорта  $Ca^{2+}$  в мембранах [2, 13]. Исходя из этого, можно предположить, что аккумуляция кальция за счет повышения уровня ФИ и ФК является своего рода пусковым механизмом активации Са-зависимых фосфолипаз [1] в эритроцитах больных при I типе диабета с сосудистыми поражениями.

Как показали наши исследования, развитие у больных сахарным диабетом сосудистых поражений сопровождается существенной перестройкой липидного состава мембран эритроцитов. Известно, что при значительном изменении липидного состава мембраны становятся ригидными. Повышение микровязкости мембран в условиях патологии чаще всего обусловлено соотношениями ХС/ОФ [22], ФЭ/ФХ [16]. Исходя из того что об изменении микровязкости можно судить по

Соотношение липидных фракций в эритроцитах крови больных с I и II типами сахарного диабета при наличии микроангиопатии

Соотношение	Контроль (1)	Без ангиопатии (2)	$p_{1-2}$	I стадия ангиопатии (3)	$p_{1-3}$	$p_{2-3}$	II стадия ангиопатии (4)	$p_{1-4}$	$p_{2-4}$
I тип сахарного диабета									
ХС/ОФ	$0,46 \pm 0,01$	$0,50 \pm 0,09$	$>0,5$	$0,54 \pm 0,01$	$<0,001$	$>0,5$	$0,58 \pm 0,03$	$<0,002$	$>0,5$
ФЭ/ФХ	$0,73 \pm 0,01$	$0,66 \pm 0,02$	$<0,002$	$0,54 \pm 0,01$	$<0,001$	$<0,001$	$0,51 \pm 0,02$	$<0,001$	$<0,001$
II тип сахарного диабета									
ХС/ОФ	$0,46 \pm 0,01$	$0,57 \pm 0,02$	$<0,001$	$0,60 \pm 0,02$	$<0,001$	$>0,5$	$0,64 \pm 0,02$	$<0,001$	$<0,05$
ФЭ/ФХ	$0,73 \pm 0,01$	$0,62 \pm 0,01$	$<0,001$	$0,65 \pm 0,02$	$<0,002$	$>0,25$	$0,57 \pm 0,03$	$<0,001$	$>0,01$

изменению данных соотношений, нами проанализированы соотношения ХС/ОФ и ФЭ/ФХ у больных сахарным диабетом в процессе развития сосудистых осложнений и в зависимости от клинической формы диабета. Как следует из табл. 5, при наличии диабетических ангиопатий увеличивается соотношение ХС/ОФ в мембране эритроцитов, причем наиболее выраженные изменения отмечаются при II типе диабета. Соотношение ФЭ/ФХ наиболее явно уменьшается при I типе диабета. Следовательно, при II типе диабета с сосудистыми поражениями изменение микровязкости в основном осуществляется за счет возрастания уровня ХС, повышающего «жесткость» мембраны вследствие упорядочения и снижения свободного объема [22]. Как было показано, возрастание соотношения ХС/ОФ в плазматической мембране подавляет действие физиологических концентраций инсулина на клетки [18]. Вероятно, аналогичный эффект может иметь место и в эритроцитах больных при II типе диабета с сосудистыми поражениями. При I типе и наличии сосудистых осложнений повышение микровязкости в большей степени связано с уменьшением соотношения ФЭ/ФХ. Благодаря асимметричному расположению данных фосфолипидов в бислойной мембране эритроцитов изменение их соотношений может существенно влиять на величину площадей липидных монослоев, играющих важную роль в обеспечении формы и физических свойств эритроцитов [12]. Полученные данные указывают на то, что вклад липидного бислоя в изменение микровязкости мембран эритроцитов при сосудистых поражениях зависит от клинической формы сахарного диабета.

Выявленная в результате проводимых исследований корреляционная зависимость между нарушением липидного состава мембран и стадиями ангиопатий указывает на важную роль липидов в функционировании мембран эритроцитов при сосудистых поражениях. Это позволяет предполагать, что одним из факторов развития сосудистых осложнений являются нарушения в липидном компоненте мембран эритроцитов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю. А. // Биологические мембраны и мембраноактивные соединения. — Ташкент, 1985. — С. 19—22.
2. Гулак П. В. // Успехи совр. биол. — 1981. — Т. 91, № 2. — С. 162—177.
3. Грибанов Г. А. // Там же. — 1975. — Т. 80, № 3(6). — С. 382—398.
4. Ефимов А. С. Диабетические ангиопатии. — Киев, 1973. — С. 26—61.
5. Иванов А. С., Карват Р. Г., Мольнар А. А., Халилов Э. М. // Биофизика. — 1985. — Т. 30, № 2. — С. 269—272.
6. Каргаполов А. В. // Биохимия. — 1981. — Т. 46, № 4. — С. 691—698.
7. Кейтс М. Техника липидологии: Пер. с англ. — М., 1975.
8. Пауменко В. Г., Ганич В. Г., Баглей Е. А. // Клин. мед. — 1985. — № 3. — С. 91—96.
9. Туркина Т. И., Марченко Л. Ф., Сапелькина Л. В. и др. // Педиатрия. — 1985. — № 2. — С. 10—12.
10. Туркина Т. И., Марченко Л. Ф., Сапелькина Л. В. // Пробл. эндокринол. — 1986. — № 5. — С. 32—36.
11. Хачатрян Э. С. // Журн. exper. и клин. мед. — 1984. — Т. 24, № 3. — С. 291—298.
12. Черницкий Е. А., Воробей А. В. Структура и функции эритроцитарных мембран. — Минск, 1981. — С. 100—104.
13. Barritt C. J., Dalton K. A., Whiting J. A. // FEBS Lett. — 1981. — Vol. 125, N 2. — P. 137—140.
14. Ballou L. R., Cheung W. V. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. — 1985. — Vol. 82, N 2. — P. 371—375.
15. Ernst E. // Münch. med. Wschr. — 1980. — Bd 122. — S. 1442—1443.



16. Hirata F., Axelrod J. // Science. — 1980. — Vol. 209. — P. 1082—1090.
17. Kamakla T., Oiguji S. // Diabetes. — 1983. — Vol. 32, N 7. — P. 585—591.
18. Luly P., Crifo C., Strom R. // Experientia (Basel). — 1979. — Vol. 35. — P. 1300—1301.
19. Mc Millan D. E., Utterback N. G., La Rama J. // Diabetes. — 1978. — Vol. 27, N 9. — P. 895—901.
20. Ramsey R. B. // Biochem. Soc. Trans. — 1973. — Vol. 1, N 2. — P. 341—348.
21. Resch K., Ferber E. // Immune Recognition. — New York, 1975. — P. 281—312.
22. Shinitzky M., Yuli J. // Chem. Phys. Lipids. — 1982. — Vol. 30. — P. 261—281.
23. Tilvis R. S., Miettinen T. A. // J. clin. Endocr. — 1985. — Vol. 61, N 4. — P. 741—745.
24. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. V., Vasendin I. M. // J. Chromatogr. — 1975. — Vol. 114. — P. 129—141.

Поступила 24.05.88

## LIPIDS FROM ERYTHROCYTES OF PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS AND DIABETIC ANGIOPATHIES

G. M. Kasimova, D. T. Mirtalipov, A. A. Abidov, Z. S. Akbarov

Institute of Regional Medicine, Ministry of Public Health of the Uzbek SSR, Tashkent

Alterations in content of neutral lipids, phospholipids and of their lysoforms were studied in erythrocyte membranes of patients with various severity of vascular impairments considering clinical manifestation of diabetes mellitus. Impairments of lipid composition in erythrocyte membranes observed correlated with the steps of diabetic angiopathies, thus considering an importance of these alterations in pathogenesis of vascular diseases of patients with diabetes mellitus.

УДК 577.112.856.04:577.152.311.086.8

Г. Г. Ковалева, И. М. Карманский

## ДЕЙСТВИЕ ХОЛЕСТЕРОЛЭСТЕРАЗЫ НА ЛИПОПРОТЕИДЫ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ. ВЛИЯНИЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИПОПРОТЕИДОВ НА НАКОПЛЕНИЕ ХОЛЕСТЕРИНА В КУЛЬТУРИРОВАННЫХ КЛЕТКАХ

Институт биологической и медицинской химии АМН СССР, Москва

Имеются многочисленные данные, свидетельствующие о возможном участии модифицированных липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в патогенезе атеросклероза [2, 4]. Природа атерогенных модификаций *in vivo* неясна. Неизвестно также, в какой степени в этот процесс вовлекаются белковые и липидные компоненты ЛПНП. Не исключено, что в рецепторном и нерцепторном взаимодействии ЛПНП с клетками, ведущем к развитию атеросклеротических поражений, важную роль играют особенности липидного состава ЛПНП, в частности содержание в них неэтерифицированного холестерина. В пользу этого говорят исследования Fielding и соавт. [7], в которых показано, что обогащенные свободным холестерином ЛПНП больных сахарным диабетом легко отдают холестерин фибробластам в отличие от ЛПНП здоровых людей. Одним из способов контролируемого изменения состава ЛПНП является их обработка соответствующими ферментами [6]. В настоящей работе приведены характеристики ЛПНП, модифицированных панкреатической

холеsterolэстеразой, и исследовано влияние таких ЛПНП на содержание холестерина в культивированных фибробластах.

### Методика

ЛПНП выделяли из сыворотки крови здоровых доноров методом ультрацентрифугирования [9]. Аналитическое ультрацентрифугирование липопротеидов проводили в двухсекторных ячейках аналитической ультрацентрифуги «Spinco-E» при скорости вращения ротора 52 640 об/мин. Угол наклона фазовой пластинки составлял 60°. Липопротеиддефицитную сыворотку (ЛПДС) человека получали с помощью препаративного ультрацентрифугирования [10]. ЛПДС диализовали против 0,15 М NaCl в 0,02 М Na-фосфатном буфере pH 7,4, стерилизовали фильтрацией через мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 мк и хранили при -20°C.

Холестеролэстеразу выделяли из поджелудочной железы свиньи по модифицированному методу [12]. Поджелудочную железу (110 г ткани) очищали от жира, измельчали на мясорубке и смешивали с 300 мл 0,15 М K-фосфатного буфера pH 6,2, содержащего 7 мМ меркаптоэтанол и 500 мг ингибитора трипсина и соевых бобов. Фермент экстрагировали при 4°C в течение 30 мин, затем фильтровали через несколько слоев марли, суспензию смешивали с 60 г целита-545, быстро отфильтровывали на воронке Бюхнера и находящийся