

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1990

Том 36 выпуск 2

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

1990

Volume 36 issue 2

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>

13. Galliano M., Minchiotti L., Iadarola P. et al. // J. biol. Chem.—1985.— Vol. 261, N 9.— P. 4283—4287.
14. Galliano M., Minchiotti L., Iadarola P. et al. // FEBS Lett.—1986.— Vol. 208, N 2.— P. 364—368.
15. Geisow M. // Nature.—1977.— Vol. 270.— P. 476.
16. Giuliani A., Hassan H. J., Casalbore P. et al. // Clin. chim. Acta.—1981.— Vol. 113, N 1.— P. 43—49.
17. Kragh-Hansen U. // Biochem. J.—1981.— Vol. 195, N 3.— P. 603—612.
18. Lau Th. J., Sunderman F. W., Weit-Kamp L. R. et al. // Amer. J. Path.—1972.— Vol. 57, N 2.— P. 247—251.
19. Meloun B., Moravek L., Kostka V. // FEBS Lett.—1975.— Vol. 58, N 1.— P. 134—137.
20. Minghetti Ph. P. // J. biol. Chem.—1986.— Vol. 261, N 15.— P. 6747—6757.
21. Orlofsky A., Chasin L. A. // Molec. cell. Biol.—1985.— Vol. 5, N 1.— P. 214—225.
22. Patterson J. E., Gellwr D. M. // Biochem. biophys. Res. Commun.—1977.— Vol. 74, N 3.— P. 1220—1226.
23. Peters Th. // Advanc. Protein Chem.—1985.— Vol. 27.— P. 161—245.
24. Pilleri G. // Acta haemat.—1970.— Vol. 44, N 3.— P. 246—250.
25. Sabatini D. D., Kreibich G., Morimoto T., Adesnik M. // J. Cell Biol.—1982.— Vol. 92, N 1.— P. 1—22.
26. Sargent T. D., Jagodzinski L. L., Yang M. et al. // Molec. cell. Biol.—1983.— Vol. 1.— P. 871—933.
27. Scheurlen P. G. // Klin. Wschr.—1955.— Bd 33, N 1.— S. 198.
28. Seelig R., Seelig H. P. // Dtsch. med. Wschr.—1970.— Bd 95.— S. 2493—2499.
29. Strauss A. W., Bennett C. D., Donohue A. A. et al. // J. biol. Chem.—1977.— Vol. 252, N 19.— P. 6846—6855.
30. Strop P., Zizkovsky V., Korcakova J. et al. // Int. J. Biochem.—1984.— Vol. 16, N 7.— P. 805—813.
31. Sudlow G. // Biochemical Clinical Pharmacology.—Oxford, 1979.— P. 113—123.
32. Tse T. P., Taylor J. M. // J. biol. Chem.—1977.— Vol. 252, N 4.— P. 1272—1278.
33. Wallace S. // Brit. J. clin. Pharmacol.—1977.— Vol. 4, N 1.— P. 82—85.
34. Winter P., Weitkamp L. R., Rucknagel D. L. // Biochemistry. (Wash.).—1972.— Vol. 11, N 5.— P. 889—896.

Поступила 11.10.88

© Т. В. ДЕНИСЕНКО, 1990

УДК 616.379-008.64-07:616.153.963'915 (048.8)

Т. В. Денисенко

ГЛИКОЗИЛИРОВАННЫЕ ЛИПОПРОТЕИДЫ КАК АТЕРОГЕННЫЙ ФАКТОР ПРИ ДИАБЕТЕ (ОБЗОР)

НИИ экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

Введение

Неферментативное гликозилирование — весьма распространенный вид посттрансляционной модификации белков, который может протекать в тканях здоровых людей, но с большей скоростью происходит у «гипергликемических» лиц [21] или животных [49]. При этом глюкоза (или другой моносахарид) связывается ковалентно с ε-аминогруппой лизина. Такую модификацию отмечали для многих белков, включая гемоглобин [11], белки мембран эритроцитов [30], белки хрусталика глаза [31], коллаген [36], альбумин [15, 19], фибриноген [32], инсулин [10], трансферрин [32], глобулины [32], миелины [42], а также все классы липопротеидов [35]. Этот процесс рассматривается в ряде обзоров [7, 12, 18], причем отмечается, что неферментативное гликозили-

Изменение физиологических функций гликозилированных белков [7, 9, 31]

Гликозилированный белок	Изменение функции
А. Белки, обнаруженные у диабетиков	
1. Гемоглобин	Повышено сродство к кислороду
2. Белки мембран эритроцитов	Способность изменять форму при движении по капиллярам
3. Белки хрусталика глаза	Пропускание света к сетчатке
4. Капсула хрусталика	Фокусирование света на сетчатке
5. Миелин	Проведение нервного импульса
6. Тубулин	Транспорт веществ по аксонам
7. Базальная мембрана почечных клубочков	Почечная фильтрация
8. Коллаген	Поддержание структуры тканей, формирование рубцов
9. Белки коронарных артерий и крупных сосудов	Кровоснабжение миокарда и других органов
10. Альбумин	Осмотическая регуляция транспорта метаболитов
11. Липопротеиды	Транспорт липидов и обмен липопротеидов
Б. Белки, гликозилированные in vitro	
1. Инсулин	Ослабление гормонального действия
2. Фибриноген	Изменение вязкости плазмы

рование может изменять некоторые физические и функциональные свойства белков и таким образом играть существенную роль в развитии осложнений диабета (см. таблицу).

При диабете не происходит избирательного гликозилирования отдельных белков, гликозилируются практически все белки, но степень гликозилирования для разных белков неодинакова и зависит от их структуры [35, 49]. Известно, что диабет ускоряет развитие атеросклероза, утяжеляет его течение или приводит к развитию тяжелых осложнений атеросклероза в раннем возрасте [37]. Вероятно, здесь действует многофакторный механизм, который, помимо нарушения углеводного обмена, включает нарушение обмена липидов и липопротеидов, секреции гормонов, процессов свертывания крови и другие факторы. Наряду с указанными факторами существенную, если не первостепенную роль во взаимосвязи патогенеза диабета и атеросклероза могут играть гликозилированные липопротеиды. Так, липопротеиды, выделенные из крови больных диабетом, содержали 33-кратный избыток глюкозиллизованных остатков на 1 мг белка липопротеидов по сравнению с нормой; от 2 до 5 % лизиновых остатков апо-В у больных диабетом обнаруживается в гликозилированном виде [9]. Такая модификация атерогенных липопротеидов глюкозой может лежать в основе механизма ускорения атерогенеза при диабете.

Реакция гликозилирования

Неферментативное гликозилирование — это химическая реакция между моносахаридом и аминокислотами белка; она может происходить in vivo и in vitro случайным образом в одном и (или) нескольких участках полипептидной цепи [29]. При этом глюкоза является наименее реакционно-способным моносахаридом в организме [29], но так как она в то же время самый распространенный из сахаров, то и эффект

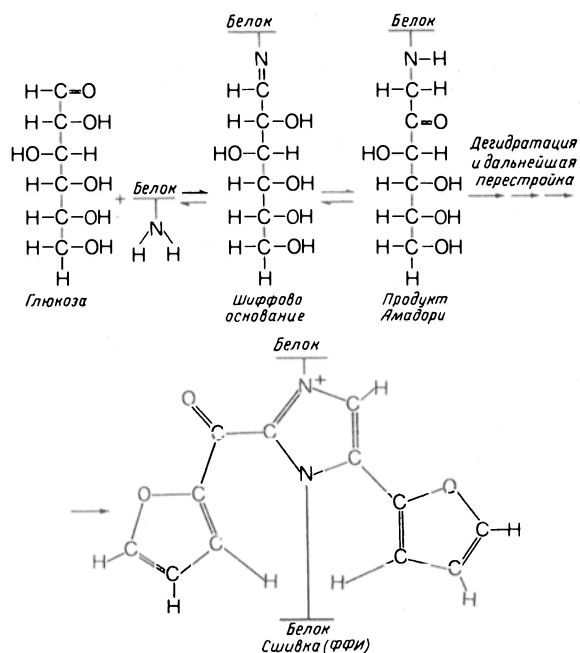


Рис. 1. Каскад реакций гликозилирования [4].

ее воздействия на белки наиболее значителен. Дальнейшие наши рассуждения будут касаться в основном глюкозы, т. е. реакции гликозилирования, или, в общем виде, гликозилирования.

Реакция гликозилирования белка — многоступенчатый процесс, который условно можно разделить на два этапа: I этап — образование нестабильного шиффова основания при взаимодействии глюкозы с NH_2 -группой белка и последующая быстрая перестройка его в более стабильный продукт Амадори, способный еще к обратимому превращению (рис. 1); II этап — дегидратация продуктов Амадори и дальнейшее их необратимое превращение в устойчивые кетоамины, или конечные продукты глубокого гликозилирования белков (см. рис. 1). Процесс образования продуктов Амадори обратим и происходит с белками, имеющими сравнительно короткий период полужизни, измеряемый несколькими днями или неделями; дальнейшее же преобразование продуктов Амадори происходит у долгоживущих структурных белков. Большая часть конечных продуктов глубокого гликозилирования имеет желтовато-коричневую окраску, содержит флуоресцентные хромофоры и обладает специфическими спектральными характеристиками; этот каскад реакций называют также реакциями побурения (или реакциями Мейяра) [4, 7]. В результате изображенного на рис. 1 каскада реакций в организме могут образовываться и со временем накапливаться необратимые сшивки между молекулами белка.

Точная структура продуктов гликозилирования и сшивок не установлена. В некоторых случаях два продукта Амадори могут сшиваться друг с другом при участии глюкозы, образуя представленную на рис. 1 структуру — 2-(2-фурил)-4(5)-(2-фуранил)-1Н-имидазол (ФФИ). Это соединение сначала было синтезировано *in vitro* (лизин+глюкоза+альбумин), затем, обнаружено в организме [4, 33].

Роль реакций неферментативного гликозилирования при диабете и его осложнениях

Реакции неферментативного гликозилирования разнообразных плазменных и структурных белков могут происходить в живом организме с нормальным содержанием глюкозы [19, 21, 35, 46]. Так, в норме 1,3—2 % лизиновых остатков апопротеинов липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) могут быть гликозилированы [9, 46]. Но особую роль неферментативное гликозилирование приобретает при повышении уровня глюкозы, как это имеет место при диабете. При этом содержание гликозилированных белков возрастает в 2—3 раза по сравнению с нормой [19].

У больных диабетом обнаружено большое разнообразие гликозилированных белков (см. табл. 1). Среди них в первую очередь был обнаружен гликозилированный гемоглобин HbA_{1c} , определение содержания которого стали использовать в качестве клинического теста на обнаружение диабета, причем более чувствительного и информативного теста, чем уровень глюкозы в крови [11]. Наряду с белками неферментативному модифицированию восстанавливающимися сахарами может подвергаться и ДНК. При этом происходят существенные структурные и функциональные изменения ДНК, которые могут лежать в основе уменьшения генетической жизнеспособности организма при старении [6].

Таким образом, повышенное содержание глюкозы в крови у больных диабетом, по-видимому, означает нечто большее, чем симптом заболевания. Вызывая ускоренное гликозилирование разнообразных белков в организме, оно может приводить к возникновению различных осложнений заболевания, вплоть до ускоренного старения и преждевременной смерти. Около 80 % случаев смерти при диабете происходит из-за осложнения этого заболевания атеросклерозом [40]. Усиленное гликозилирование при осложнениях диабета не всегда отражает причинную связь и лишь в случае атеросклероза может оказаться одним из ведущих факторов, связующих атерогенез с диабетом.

Гликозилирование липопротеидов — атерогенная модификация

В последние годы ведущим звеном патогенеза атеросклероза принято считать наличие в крови модифицированных липопротеидов [23]. В организме могут иметь место перекисная, протеолитическая, иммунная и другие виды модификаций липопротеидов. Иммунная модификация — образование в организме иммунных комплексов ЛПНП — аутоантитело. Такие комплексы выделены и охарактеризованы [2, 3], тогда как модифицированные *in vivo* перекисным или протеолитическим путем липопротеиды до сих пор не выделены и их изучение затруднено. В организме человека обнаружен новый вид модифицированных липопротеидов — гликозилированные липопротеиды и показано, что такие ЛПНП определяются в крови здоровых лиц и больных диабетом, причем у последних гликозилирование липопротеидов усилено: молярное соотношение глюкоза/апо-В у больных диабетом

составляет 1,9, тогда как в норме оно равно лишь 0,5 [35]. Показано, что модифицируются в основном ϵ -аминогруппы лизина. Установлено, что модификация глюкозой может осуществляться при инкубации ее с липопротеидами *in vitro*, причем ЛПНП и липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) гликозилируются в одинаковой степени. Степень гликозилирования линейно зависела от времени инкубации и концентрации глюкозы. При использовании меченой глюкозы основная метка обнаруживалась у ЛПНП — в апо-В, лишь небольшая часть в апо-Е и апо-С, у ЛПВП — в апо-АІ и апо-АІІ [35]. В дальнейшем эти наблюдения были подтверждены другими авторами [9]. Следует отметить, что основная часть гликозилированного белка во фракции липопротеидов с $\alpha < 1,125$ г/мл обнаруживалась в богатых триглицеридами липопротеидах лиц с гипергликемией, тогда как у здоровых людей основная масса гликозилированных белков была связана с ЛПВП₂ [9]. Иммунохимическими методами показано, что в плазме больных диабетом апопротеины АІ, АІІ, В, СІ и Е гликозилированы [9]. Степень гликозилирования липопротеидов у больных диабетом коррелирует с концентрацией гликозилированного НbА_{1с} и гликозилированием плазменных белков, а также с уровнем глюкозы в крови [17, 20].

Таким образом, гликозилированные липопротеиды — естественная модифицированная форма липопротеидов, способная существовать в организме. Особо важное значение имеет эта модификация в условиях гипергликемии, так как существенным образом изменяет обмен липопротеидов [27].

Метаболизм гликозилированных липопротеидов

Химическая модификация (блокирование аминогрупп аргинина и лизина в апо-В и апо-Е) препятствует связыванию ЛПНП или ЛПВП с рецепторами [5, 13, 28]. Поскольку гликозилирование затрагивает именно эти группы лизина, естественно предположить, что гликозилирование, как и ацетилирование, будет также приводить к потере способности гликозилированных апо-В- и апо-Е-содержащих липопротеидов взаимодей-

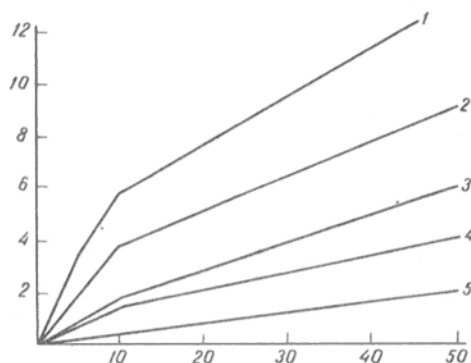


Рис. 2. Влияние степени гликозилирования ЛПНП на скорость их захвата фибробластами кожи человека [36].

По оси абсцисс — концентрация ЛПНП (в мкг/мл); по оси ординат — деградация ^{125}I -ЛПНП (в мкг на 1 мг белка за 10 ч). 1 — нативные ЛПНП; 2—5 — ЛПНП, преинкубированные в течение 8 дней при 37 °С с 10, 20, 40 и 80 ммоль глюкозы соответственно. В этих опытах 40 и 80 ммоль глюкозы давали соответственно 12 и 18 % гликозилирования ЛПНП.

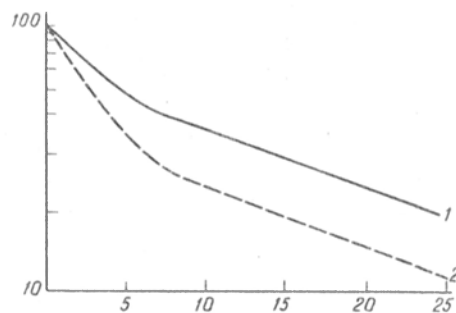


Рис. 3. Скорость удаления ЛПВП из кровотока морской свинки [43].

По оси абсцисс — время (в ч); по оси ординат — процент введенной дозы. 1 — контрольные ЛПВП; 2 — гликозилированные ЛПВП (гликозилировано 62 % лизина).

ствовать с соответствующими рецепторами. Действительно, гликозилированные ЛПНП захватывались и расщеплялись фибробластами кожи человека значительно медленнее, чем нативные ЛПНП, причем скорость захвата уменьшалась пропорционально степени гликозилирования белка липопротеидов [38] (рис. 2). Аналогичные результаты получены и другими исследователями [14, 20, 34].

Гликозилирование ЛПНП приводит к увеличению их отрицательного заряда, так как блокируются NH_2 -группы. При этом в культуре перитонеальных макрофагов мыши усиления захвата липопротеидов клетками не происходило [34, 46]. Это позволило использовать гликозилированные липопротеиды для оценки нерецепторного пути катаболизма ЛПНП *in vivo*. При внутривенном введении таких ЛПНП кролику, морской свинке, человеку обнаружено, что их удаление из крови происходило значительно медленнее, чем нативных липопротеидов. Нерцепторный путь катаболизма ЛПНП у морской свинки составляет 22 %, у кролика — около 25 %, у человека — 60—80 % от общего катаболизма ЛПНП [20, 39]. Лечение больных с гетерозиготной семейной гиперхолестеринемией мевалолином, ингибитором ГМГ-КоА-редуктазы, приводит к ускорению фракционной скорости катаболизма нативных ЛПНП, тогда как для гликозилированных ЛПНП эта скорость не изменяется, свидетельствуя о катаболизме гликозилированных липопротеидов по нерецепторному пути [16].

Приведенные выше факты объясняют один из возможных атерогенных эффектов гликозилированных липопротеидов: замедление катаболизма ЛПНП в результате их гликозилирования приводит к развитию гиперхолестеринемии и гиперлиппротеидемии. Этот механизм весьма сходен с развитием гиперхолестеринемии при гиперлиппротеидемии ІІа типа (т. е. при недостаточности В, Е-рецепторов).

Кроме того, имеется другой аспект атерогенного действия гликозилированных липопротеидов, касающийся ЛПВП, обладающих, как известно, антиатерогенными свойствами. Показано, что гликозилированные ЛПВП удаляются из крови морской свинки значительно быстрее нативных (рис. 3), причем с увеличением степени гликозилирования повышается скорость их фрак-

ционного катаболизма [45]. Механизм ускорения катаболизма гликозилированных ЛПВП *in vivo* неясен, так как поглощение гликозилированных ЛПВП макрофагами линии J774 (человека) не возрастало [45]. Гепатоциты морской свинки также не проявили усиленного поглощения или деградации гликозилированных ЛПВП по сравнению с нормой. Тем не менее полагают, что именно гликозилирование ЛПВП служит причиной снижения уровня ЛПВП в крови больных диабетом вследствие их ускоренного катаболизма [45]. Известно, что сниженная концентрация ЛПВП является независимым фактором риска развития атеросклероза и ишемической болезни сердца.

Таким образом, гликозилирование липопротеидов приводит к следующим нарушениям их метаболизма: 1) нарушению взаимодействия с В, Е-рецептором и замедлению катаболизма гликозилированных ЛПНП, вследствие этого к развитию гиперлипотеидемии; 2) ускорению катаболизма гликозилированных ЛПВП, следствием чего является развитие гипо- α -липопротеидемии.

По вопросу о взаимодействии гликозилированных ЛПНП с макрофагами появились данные о том, что мышинные перитонеальные макрофаги захватывают гликозилированные ЛПНП с такой же скоростью, как и нормальные [25]. Макрофаги моноцитарного происхождения (т. е. моноциты крови человека, которые инкубировали *in vitro*), захватывали гликозилированные ЛПНП примерно в 3 раза активнее, чем нативные, если судить по скорости образования эфиров холестерина в клетках, а также по содержанию эфиров холестерина. Позднее было показано, что человеческие макрофаги моноцитарного происхождения расщепляли гликозилированные ЛПНП в 2 раза, а гликозилированные липопротеиды очень низкой плотности — в 3 раза активнее, чем соответствующие нативные липопротеиды. При этом связывание и интернализация этих гликозилированных липопротеидов макрофагами были лишь немного увеличены по сравнению с таковыми нативных липопротеидов, тогда как фибробласты связывали, захватывали и расщепляли гликозилированные апо-В-содержащие липопротеиды в 6—10 раз медленнее, чем нативные [41].

На основании данных о конкурентном ингибировании расщепления гликозилированных ЛПНП в макрофагах нативными и ацетилированными ЛПНП было выдвинуто предположение, что гликозилированные липопротеиды захватываются макрофагами при помощи особых рецепторов, отличающихся от апо-В, апо-Е и скэвенджер-рецепторов [25, 26]. При использовании различных лигандов (нативные, гликозилированные, ацетилированные и малеинированные ЛПНП, нативный, обработанный формальдегидом и ФФИ альбумин, продукты конечного гликозилирования белков) было установлено существование специфического рецептора для гликозилированных белков [43]. Было подсчитано количество таких рецепторов на клетку ($1,5 \cdot 10^5$) и определена константа связывания по гликозилированному альбумину ($1,7 \cdot 10^7/M$). При гипоинсулиновом аллоксановом диабете у мышей коли-

чество таких рецепторов на макрофагах увеличивалось в 2—3 раза при неизменной константе связывания [44]. Скорость деградации гликозилированных белков такими макрофагами была значительно выше, чем клетками нормальных мышей. Противоположная картина наблюдалась у мышей с гиперинсулинемией и гипергликемией. На макрофагах таких животных было в 2 раза меньше рецепторов и их аффинитет был в 3 раза ниже по сравнению с нормой. При этом расщепление гликозилированных белков было значительно снижено [44].

Таким образом, гликозилированные ЛПНП активно захватываются макрофагами (в 2—3 раза активнее нативных), по-видимому, с помощью специфического рецептора, такой захват может приводить к накоплению эфиров холестерина в макрофагах. Этот процесс может способствовать формированию пенистых клеток, участвующих, как известно, в развитии атеросклеротических поражений.

Однако данные об активном захвате гликозилированных ЛПНП макрофагами находятся в некотором противоречии с приведенными выше сведениями о замедлении удаления гликозилированных ЛПНП из кровотока *in vivo*. Не исключено, что это противоречие обусловлено ингибирующим влиянием инсулина на специфический рецептор для гликозилированных липопротеидов [44]. Механизмы, посредством которых гликозилирование ЛПНП может приводить к образованию пенистых клеток и ускорению развития атеросклеротических поражений при диабете, требуют дальнейшего изучения.

Иммунологические аспекты гликозилирования липопротеидов

Кроме метаболических изменений, гликозилирование липопротеидов имеет иммунологические последствия, так как модификация липопротеидов, происходящая при гликозилировании, может быть причиной, приводящей к появлению у липопротеидов аутоантигенных свойств.

Действительно, введение мышам аутологичных липопротеидов, гликозилированных *in vitro*, способствовало выработке аутоантител, которые специфически связывались с гликозилированными липопротеидами, точнее с их глюцитоллизинным фрагментом (эпитопом), и не связывались с нативными липопротеидами [8]. Аутоантитела к гликозилированным липопротеидам таким же способом были получены у морских свинок [47] и кроликов [49] (в том числе и в нашей лаборатории). Эти антитела специфически связывались не только с аутологичными гликозилированными липопротеидами, но и с гомо- и гетерологичными гликозилированными липопротеидами, а также с гликозилированным альбумином. Это позволило нам использовать кроличьи аутоантитела к гликозилированным липопротеидам для определения концентрации гликозилированных белков и липопротеидов у больных диабетом с целью диагностики этого заболевания. Аутоантитела к гликозилированным липопротеидам и другим плазменным белкам были обнаружены у больных диабетом [48].

Возможность образования аутоантител к глико-

зилированным липопротеидам позволяет по-новому оценить влияние гликозилирования липопротеидов на их метаболизм и атерогенность. Во-первых, это ведет к формированию аутоиммунных комплексов липопротеид — антитело, которые могут повреждать сосудистую стенку, способствуя проникновению атерогенных липопротеидов в артериальную стенку и, таким образом, развитию атеросклероза [1, 3]. Во-вторых, физиологический смысл выработки аутоантител заключается в том, чтобы как можно быстрее удалить из кровотока антиген (в данном случае гликозилированные липопротеиды). Действительно, у кроликов, иммунизированных аутологичными гликозилированными липопротеидами, и у больных диабетом, у которых в крови обнаружены аутоантитела к таким липопротеидам, скорость элиминации из крови гликозилированных липопротеидов была значительно выше, чем скорость удаления нативных или гликозилированных липопротеидов из крови здоровых добровольцев или неиммунизированных кроликов, причем основная масса гликозилированных липопротеидов у иммунизированных кроликов захватывалась клетками ретикулоэндотелиальной системы, главным образом купферовскими клетками [49].

Заключение

Неферментативное гликозилирование липопротеидов, затрагивающее в норме незначительную часть плазменных липопротеидов, при диабете (гипергликемии) касается довольно большой части циркулирующих липопротеидов, особенно апо-В-содержащих. Блокируя аминокетонные группы лизина, гликозилирование существенно изменяет физико-химические и метаболические свойства апо-липопротеинов, результатом чего является нарушение нормального катаболизма липопротеидов. В частности, гликозилирование апо-В приводит к потере способности ЛПНП связываться специфическими В, Е-рецепторами клеток паренхиматозных тканей. Накопление в крови таких липопротеидов (гиперлипидемия) способствует развитию атеросклероза.

Как защитная реакция на появление и длительную циркуляцию в крови гликозилированных липопротеидов развивается аутоиммунный ответ на эти липопротеиды с образованием антител к гликозилированным липопротеидам. Формирование аутоиммунных комплексов гликозилированных липопротеид — антитело, с одной стороны, приводит к быстрому удалению гликозилированных липопротеидов из крови и снижению их концентрации в плазме (возможно, даже к гиполлипидемии), с другой стороны, может повреждать сосудистую стенку, что является атерогенным фактором. Особенно неблагоприятно формирование таких комплексов в интима артерий, так как было показано [24], что аутоиммунные комплексы липопротеид — антитело настолько активно захватываются макрофагами, что это ведет к трансформации их в пенные клетки — один из важнейших компонентов атеросклеротических бляшек. Гликозилирование липопротеидов может способствовать развитию атеросклероза по механизмам, описываемым аутоиммунной теорией патогенеза этого заболевания [1, 3, 22].

ЛИТЕРАТУРА

1. Климов А. И., Денисенко А. Д. // Успехи соврем. биол.— 1988.— Т. 106, № 2 (5).— С. 279—289.
2. Климов А. И., Денисенко А. Д., Зубицкий Ю. И., Герчикова Е. А. // Вопр. мед. химии.— 1978.— № 4.— С. 539—543.
3. Климов А. И., Денисенко А. Д., Нагорнев В. А. // Иммунореактивность и атеросклероз.— Л., 1986.— С. 107—128.
4. Серами Э., Влассара Э., Браунли М. // В мире науки.— 1987.— № 7.— С. 42—49.
5. Brown M. S., Goldstein J. L., Krieger M. et al. // J. Cell. Biol.— 1979.— Vol. 82.— P. 597—613.
6. Bucala R., Model P., Cerami A. // Proc. nat. Acad. Sci. USA.— 1984.— Vol. 81, N 1.— P. 105—109.
7. Cerami A., Vlassara H., Brownlee M. // Metabolism.— 1985.— Vol. 34, N 12.— Suppl. 1.— P. 37—42.
8. Curtiss L. K., Witzlum J. L. // J. clin. Invest.— 1983.— Vol. 72, N 4.— P. 1427—1438.
9. Curtiss L. K., Witzlum J. L. // Diabetes.— 1985.— Vol. 34, N 5.— P. 542—561.
10. Dolhofer R., Wieland O. H. // FEBS Lett.— 1979.— Vol. 100, N 1.— P. 133—136.
11. Gabbay K. H., Sosenko J. M., Banuchi G. A. et al. // Diabetes.— 1979.— Vol. 28.— P. 337—340.
12. Gibbons G. F. // Clin. Sci.— 1986.— Vol. 71.— P. 477—486.
13. Goldstein J. L., Ho Y. K., Basu S. K., Brown M. S. // Proc. nat. Acad. Sci. USA.— 1979.— Vol. 76, N 1.— P. 333—337.
14. Gonen B., Baenziger J., Schonfeld G. et al. // Diabetes.— 1981.— Vol. 30, N 10.— P. 875—878.
15. Gulthrow C. E., Morris M. A., Day J. F. et al. // Proc. nat. Acad. Sci. USA.— 1979.— Vol. 76.— P. 4258—4261.
16. Grundy S. M., Vega G. L., Bilheimer D. W. // Atheroscler. Rev.— 1986.— Vol. 15.— P. 13—39.
17. Jack C. M., Sheridan B., Kennedy L., Stout R. W. // Diabetologia.— 1988.— Vol. 31, N 2.— P. 126—128.
18. Kennedy L., Baynes J. W. // Ibid.— 1984.— Vol. 26, N 2.— P. 93—98.
19. Kennedy L., Mehl T. D., Elder E., Varghese M. // Diabetes.— 1982.— Vol. 31, Suppl. 3.— P. 52—56.
20. Kesaniemi Y. A., Witzlum J. L., Steinbrecher U. P. // J. clin. Invest.— 1983.— Vol. 71, N 4.— P. 950—959.
21. Kim H.-J., Kurup J. V. // Metabolism.— 1982.— Vol. 31, N 4.— P. 348—353.
22. Klimov A. N. // Expanding Horizons in Atherosclerosis Research / Eds I. Schlierf, H. Morl.— Berlin, 1987.— P. 52—58.
23. Klimov A. N., Popov A. V. // Sov. Med. Rev. A. Cardiol.— 1987.— Vol. 1.— P. 169—186.
24. Klimov A. N., Denisenko A. D., Popov A. V. et al. // Atherosclerosis.— 1985.— Vol. 58, N 1.— P. 1—15.
25. Lopes-Virella M. F., Klein R. L., Lyons T. J. et al. // Diabetes.— 1986.— Vol. 35, Suppl. 1.— P. 89A.
26. Lopes-Virella M. F., Klein R. L., Lyons T. J. et al. // Ibid.— 1988.— Vol. 37.— P. 550—557.
27. Lyons T. J., Baynes J. W., Patrick J. S. et al. // Diabetologia.— 1986.— Vol. 29.— P. 685—689.
28. Mahley R. W., Innerarity T. L., Weisgraber K. H., Oh S. Y. // J. clin. Invest.— 1979.— Vol. 64.— P. 743—750.
29. Means G. E., Chang M. K. // Diabetes.— 1982.— Vol. 31, Suppl. 3.— P. 1—4.
30. Miller J. A., Gravalles E., Bunn H. F. // J. clin. Invest.— 1980.— Vol. 65.— P. 896—901.
31. Monnier V. M., Cerami A. // Diabetes.— 1982.— Vol. 31, Suppl. 3.— P. 57—63.
32. Ney K. A., Pasqua J. J., Colley K. J. et al. // Ibid.— 1985.— Vol. 34, N 5.— P. 462—469.
33. Pongor S., Ulrich P. C., Benscath F. A., Cerami A. // Proc. nat. Acad. Sci. USA.— 1984.— Vol. 81.— P. 2684—2688.
34. Sasaki J., Okamura T., Cottam G. L. // Europ. J. Biochem.— 1983.— Vol. 131.— P. 535—538.
35. Schleicher E., Deufel T., Wieland O. H. // FEBS Lett.— 1981.— Vol. 129, N 1.— P. 1—4.
36. Schneider S. L., Koh R. R. // J. clin. Invest.— 1980.— Vol. 66.— P. 1179—1181.
37. Schonfeld G. // Metabolism.— 1985.— Vol. 34, N 12.— Suppl. 1.— P. 45—50.

38. Steinbrecher U. P., Witztum J. L. // *Diabetes*.— 1984.— Vol. 33, N 2.— P. 130—134.
39. Steinbrecher U. P., Witztum J. L., Kesaniemi Y. A., Elan R. L. // *J. clin. Invest.*— 1983.— Vol. 71, N 4.— P. 960—964.
40. Stout W. // *Atherosclerosis*.— 1981.— Vol. 1, N 4.— P. 227—234.
41. Turk Z., Scrabalo Z. // *Cell. molec. Biol.*— 1987.— Vol. 33, N 3.— P. 345—354.
42. Vlassara H., Brownlee M., Cerami A. // *Diabetes*.— 1983.— Vol. 32.— P. 670—674.
43. Vlassara H., Brownlee M., Cerami A. // *J. exp. Med.*— 1986.— Vol. 164.— P. 1301—1309.
44. Vlassara H., Brownlee M., Cerami A. // *Diabetes*.— 1988.— Vol. 37, N 4.— P. 456—461.
45. Witztum J. L., Fisher M., Pietro T. et al. // *Ibid.*— 1982.— Vol. 31, N 11.— P. 1029—1032.
46. Witztum J. L., Mahoney E. M., Branks M. J. et al. // *Ibid.*— N 4.— P. 283—291.
47. Witztum J. L., Steinbrecher U. P., Fisher M., Kesaniemi A. // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*.— 1983.— Vol. 80, N 9.— P. 2757—2761.
48. Witztum J. L., Steinbrecher U. P., Kesaniemi J. A., Fisher M. // *Ibid.*— 1984.— Vol. 81.— P. 3204—3208.
49. Wiklund O., Witztum J. L., Carew T. E. et al. // *J. Lipid Res.*— 1987.— Vol. 28.— P. 1098—1109.
50. Yue D. K., McLennan S., Turtle J. R. // *Diabetologia*.— 1983.— Vol. 24, N 5.— P. 377—381.

Поступила 29.01.89

GLYCOSYLATED LIPOPROTEINS AS AN ATHEROGENOUS FACTOR IN DIABETES

T. V. Denisenko

Institute of Experimental Medicine, Academy of Medical Sciences of the USSR, Leningrad

Data on the role of glycosylated lipoproteins in atherogenesis are reviewed. Posttranslational modification of proteins involving nonenzymatic glycosylation occurred under conditions of normal state but the highest rate of these reactions was found in hyperglycemia (diabetes). Glycosylation, after blocking of the ϵ -amino group in lysyl residue in protein moiety of lipoproteins, transformed distinctly the physico-chemical and metabolic properties of apoproteins, as a result of which normal catabolism of lipoproteins was impaired. Reactions of glycosylation are mainly responsible for pathogenetic interrelationship between diabetes and atherosclerosis. Glycosylation of lipoproteins may contribute to development of atherosclerosis via autoimmunity mechanisms.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1990

УДК 616.379-008.64-092.9-07:[616.36-018.1:576.314]-008.939.6:577.125.53

К. Г. Карагезян, Л. М. Овсепян, К. Г. Адонц

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И ОБМЕН ФОСФОЛИПИДОВ В МЕМБРАННЫХ СТРУКТУРАХ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ

Институт экспериментальной биологии АН Армянской ССР, Ереван

В настоящее время сахарный диабет стал одним из наиболее распространенных заболеваний, чем объясняется возросший интерес к проблеме исследования механизмов его возникновения и развития. С этой точки зрения представляют интерес результаты изучения некоторых звеньев углеводно-липидного метаболизма, в частности свободных жирных кислот, триглицеридов, холестерина, фосфолипидов [2, 5]. Учитывая важную роль окислительных процессов в обеспечении нормальной жизнедеятельности клетки, в настоящей работе исследовали процессы дыхания и

окислительного фосфорилирования, перекисного окисления липидов, реакции гидроксилирования, а также качественные и количественные изменения в составе фосфолипидов как в нормально функционирующей, так и в патологической ткани печени крыс с аллоксановым диабетом.

Методика

Эксперименты выполнены на 100 белых беспородных крысах обоего пола, содержащихся на общевиварном рационе. Диабет вызывали внутрибрюшинным введением аллоксана (15 мг на 100 г массы тела). Показателями развития заболевания служили высокий уровень гипергликемии и глюкозурии. Количественное определение глюкозы в крови проводили ортотолуидиновым методом, в моче — по реакции Феллинга. В опыт брали животных на 20-й день после введения аллоксана и с уровнем сахара в крови не менее 11 ммоль/л. Животных забивали под легким эфирным наркозом.

При изучении окислительного фосфорилирования в зависимости от уровня сахара в крови животные были разделены на следующие группы: Д1 — диабет средней тяжести ($17,5 \pm 2,7$ ммоль/л); Д11 — тяжелый диабет ($30,25 \pm 4,4$ ммоль/л). Гомогенизирование печеночной ткани проводили в среде, содержащей 0,25 М сахарозу и 0,01 М трис-НСl-буфер (рН 7,4).

Субклеточные органеллы отделяли методом дифференциального центрифугирования. После 3-кратной промывки митохондрий их подвергали осмотическому шоку и центрифугировали в градиенте плотности сахарозы [10].

Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили методом одномерной восходящей ТСХ в системе растворителя: хлороформ — метанол — аммиак (65 : 35 : 5). Содержание неорганического фосфора определяли по методу Бартлета [7].

Измерение дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий гепатоцитов проводили полярографическим методом, как описано в работе [3].

Показателем активности процесса свободнорадикального окисления липидов служил уровень накопления малонового диальдегида [1].

Об интенсивности течения процесса п-гидроксилирования анилина судили по реакции образования п-аминофенола [4], спектрофотометрическое определение количественного содержания цитохромов b_5 и P-450 проводили по методу [9].

Результаты и обсуждение

Используя модель аллоксанового диабета, мы учитывали сведения о токсическом действии аллоксана на биологические системы и механизмы регуляции клеточной активности. Многолетний опыт работы с моделями изученной патологии показал, что на протяжении первых 7—10 дней имеет место отчетливое проявление эффектов самого аллоксана. В последующем с развитием истинной картины сахарного диабета, связанной с гибелью β -клеток, происходит исчезновение токсического действия аллоксана при наличии достаточно выраженной гипергликемии. Поэтому приведенные в статье фактические данные являются отражением метаболических отклонений в липидном метаболизме, характерных для сахарного диабета и развивающихся приблизительно спустя 3 нед после введения аллоксана.

Как видно из табл. 1, в условиях аллоксанового диабета происходит статистически достоверное увеличение суммарного количества фосфолипидов во внутренней мембране митохондрий с соответствующими сдвигами в уровне их индивидуальных представителей. Среди последних наиболее отчетливы возрастание во внутренней мембране содержания фосфатидилсеринов, лизофосфатидилхолинов, сфингомиелинов, кардиолипидов и, наоборот, уменьшение суммарного количества фосфолипидов в наружной мембране, обусловлен-