

УДК 665.12

©Коллектив авторов

ПРОФИЛЬ НЕЭТЕРИФИЦИРОВАННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ПЛАЗМЫ ДЕТЕЙ С РАЗНЫМИ СРОКАМИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА

В.А. Акмурзина^{1,4}, Е.Е. Петрайкина², С.В. Савельев^{3,4}, А.А. Селищева^{1,4*}

¹Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, 1; эл. почта: aselo@yandex.ru

²Морозовская детская городская клиническая больница, 119049, Москва, 4й Добрынинский пер., 1

³Институт морфологии человека РАМН, 119418, Москва, ул. Цурюпы, 3

⁴Автономная некоммерческая организация “Институт биомедицинских проблем”, 117105, Москва, Новоданиловская наб., 4а

Исследовали состав и содержания неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК) в плазме крови здоровых детей (n=12) и детей, больных сахарным диабетом 1 типа (n=31) с разной длительностью заболевания. Обнаружено достоверное ($p<0,001$) увеличение общего уровня НЭЖК в 1,6 раза вне зависимости от срока заболевания, обусловленное увеличением суммарного содержания как насыщенных, так и ненасыщенных жирных кислот. Изменение содержания отдельных полиненасыщенных жирных кислот в группе детей со сроком заболевания менее 1 года носило разнонаправленный характер: отмечено увеличение на 30% содержания арахидоновой кислоты (20:4 n-6) и уменьшение на 26% содержания докозагексаеновой (22:6 n-3) и на 60% докозапентаеновой (22:5 n-6) кислот. Содержание этих кислот приходит в норму при длительном сроке заболевания. Такая же динамика характерна для *транс*-изомера олеиновой кислоты (18:1), содержание которого повышено на 82% в группе детей, болеющих менее года, и достигает нормального уровня в группе детей с длительными сроками заболевания.

Ключевые слова: сахарный диабет 1 типа, плазма, неэтерифицированные жирные кислоты, арахидоновая кислота, *транс*-жирные кислоты, твердофазная экстракция

DOI: 10.18097/PBMC20166202206

ВВЕДЕНИЕ

В клетках млекопитающих метаболизм глюкозы и липидов тесно связаны между собой [1]. НЭЖК являются важным метаболическим компонентом, выполняющим не только энергетические, но и регуляторные функции в клетках организма, связываясь со специфическими мембранными и ядерными рецепторами [2]. Кратковременное повышение уровня НЭЖК в плазме стимулирует секрецию инсулина [3] и снижает скорость его утилизации, что вносит вклад в повышение концентрации этого гормона в плазме крови [4]. Однако долговременное (хроническое) повышение уровня НЭЖК приводит к апоптозу β -клеток поджелудочной железы [5]. Помимо концентрационной зависимости важную роль играет строение НЭЖК; так, насыщенные и ненасыщенные НЭЖК с одинаковой длиной цепи оказывают различное действие на β -клетки [6]. Однако липотоксичность НЭЖК затрагивает не только β -клетки. Избыток НЭЖК сопровождается накоплением триацилглицеринов (ТАГ) в паренхиматозных клетках многих тканей (миоциты, гепатоциты), что приводит к их повреждению и хронической дисфункции [7]. Согласно литературным данным, увеличение содержания НЭЖК в плазме вызывает апоптоз эндотелиальных клеток сосудов, что может привести к развитию атеросклероза и впоследствии к развитию сердечно-сосудистых заболеваний [8].

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют об увеличении содержания

НЭЖК в плазме крови, которое обычно связывают с риском развития сахарного диабета 2 типа [9-12]. Изменения НЭЖК плазмы крови при развитии сахарного диабета 1 типа (СД1) изучены не столь хорошо [13-14]. Определение суммарного содержания НЭЖК в липидном экстракте из плазмы крови проводят титриметрическим, колориметрическим и ферментативными методами [15-17]. Для анализа индивидуальных НЭЖК применяют хроматографические методы (газовую хроматографию (ГХ) и высокоэффективную жидкостную хроматографию) [11, 18], используя либо предварительное выделение НЭЖК из липидного экстракта при помощи тонкослойной хроматографии (ТСХ) или твердофазной экстракции (ТФЭ) [19], либо селективную дериватизацию непосредственно в экстракте [20-22].

Целью настоящей работы было исследование качественного и количественного состава НЭЖК, выделенных из липидного экстракта плазмы методом ТФЭ, у детей с разными сроками СД1.

МЕТОДИКА

В работе использовали следующие органические растворители: изопропанол, метанол, хлороформ, гексан (“Merck”, Германия); диэтиловый эфир, серную, уксусную и муравьиную кислоты (“Химмед”, Россия). Деионизованную воду с сопротивлением >18 МОм получали на установке УВОИ-МФ-7 (“Медиана-Фильтр”, Россия).

В качестве стандартов использовали лауриновую (12:0) и арахидоновую (20:4) кислоты производства “Fluka” (Швейцария) 98% чистоты и стандарт “Supelco 37 component FAME Mix”, содержащий 37 метиловых эфиров жирных кислот (“Supelco”, США).

Формирование групп

Для исследования НЭЖК плазмы были сформированы три группы детей от 8 до 10 лет, проходивших лечение или обследование в отделении эндокринологии Морозовской детской городской клинической больницы (г. Москва). Детям, больным СД, корректировали дозу инсулина или назначали другой препарат инсулина. Дети без нарушения углеводного обмена, как правило, страдали отставанием в физическом развитии и в стационаре проходили обследование. Родители детей предоставили информированное согласие об участии в данном исследовании. Забор крови из локтевой вены осуществляли натощак в пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта. После центрифугирования плазму отбирали и хранили при -70°C .

Экстракцию липидов из плазмы крови проводили как описано ранее [23]. Суммарный липидный экстракт хранили при -20°C . Фракцию НЭЖК выделяли из липидного экстракта методом твёрдофазной экстракции с использованием картриджей BondElut, содержащих 500 мкг аминопропилсиликагелевого сорбента (“Varian Inc.”, США). После нанесения на колонку 50 мкл растворенного в хлороформе липидного экстракта производили последовательное элюирование 9 мл смеси хлороформ-изопропанол (2:1), 12 мл смеси диэтиловый эфир-уксусная кислота (98:2), а затем 7,5 мл метанолом. Фракцию, содержащую НЭЖК, упаривали при температуре 30°C на вакуумном ротаторном испарителе и хранили при температуре -70°C .

Фракцию НЭЖК плазмы, полученную после элюции, обрабатывали 15% раствором концентрированной серной кислоты в метаноле в течение 60 мин при температуре 62°C , далее охлаждали до комнатной температуры и нейтрализовали 3 мл 6 мМ водного раствора K_2CO_3 . Полученные метиловые эфиры НЭЖК экстрагировали 2 мл гексана. Органическую фазу отбирали, упаривали и растворяли в 100 мкл гексана перед анализом. Для количественной оценки потерь на стадиях пробоподготовки к плазме добавляли лауриновую кислоту (12:0), потери которой составили 14,5%. Кроме того, на примере метилирования стандарта арахидоновой кислоты было показано отсутствие окисления ненасыщенных жирных кислот в выбранных условиях проведения реакции (данные не приведены).

Метод газовой хроматографии (ГХ)

Качественный и количественный анализ метиловых эфиров НЭЖК проводили на хроматографе Varian 3900 (США), оборудованном капиллярной колонкой с покрытием для разделения метиловых эфиров НЭЖК (CP-select CB for FAME, 100 мм×0,25 мм, “Chrompack”, США). Объём вводимого образца составлял 2 мкл, режим деления потока 1:25.

Использовали следующую температурную программу: от 100°C до 180°C со скоростью $10^{\circ}\text{C}/\text{мин}$, затем 180°C в течение 10 мин, далее от 180°C до 220°C со скоростью $8^{\circ}\text{C}/\text{мин}$, затем 220°C в течение 10 мин, далее от 220°C до 240°C со скоростью $8^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ и 240°C в течение 10 мин. В качестве газа-носителя использовали гелий с постоянной скоростью потока 1 мл/мин. Температуры инжектора и пламенно-ионизационного детектора составляли 170°C и 245°C соответственно. Время выхода индивидуальных метиловых эфиров НЭЖК определяли, используя стандарт “37 component FAME Mix” (“Supelco”). Концентрации индивидуальных кислот определяли с помощью калибровочных кривых для каждой из кислот, построенных по стандарту “37 component FAME Mix”.

Статистическая обработка

Для статистической обработки результатов использовали программу “Statistica” (версия 8.0). Оценку статистической значимости различий в группах наблюдения проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Каждое измерение проводили в двух повторностях. В таблицах приведены средние значения и стандартные отклонения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Задачей данной работы являлось определение методом ГХ качественного состава и содержания НЭЖК плазмы детей, больных СД1 в зависимости от длительности заболевания. Для этого были сформированы три группы детей. Первая группа (контрольная) состояла из 12 детей, не страдающих нарушением углеводного обмена, вторая группа – из 9 детей, болеющих СД1 менее 1 года; третью группу составили 22 ребенка, болеющих СД1 более 1 года. Клинические характеристики трёх групп детей представлены в таблице 1, которая показывает значимые различия между контрольной группой 1 и больными СД1 (группы 2 и 3) в уровне глюкозы и гликированного гемоглобина. Содержание холестерина и ТАГ в группах 2 и 3 находилось в пределах нормы.

На рисунке показана типичная хроматограмма метиловых эфиров НЭЖК плазмы здорового ребенка. Анализ хроматограмм метиловых эфиров НЭЖК плазмы детей, не страдающих нарушением углеводного обмена, и детей, больных СД1, показал, что их качественный состав (набор регистрируемых жирных кислот) постоянен.

Общее содержание НЭЖК в плазме крови здоровых детей составило 0,39 ммоль/л, что укладывается в нормальный диапазон содержания НЭЖК, равный 0,3-0,5 ммоль/л (табл. 2). Полученные значения хорошо согласуются с описанными в литературе результатами тех исследований, в которых проводили выделение фракции НЭЖК из суммарного липидного экстракта [24], а также при использовании колориметрического и энзиматического методов [13].

Таблица 1. Антропометрические и биохимические характеристики групп пациентов

Показатель группы	Группа 1 Контроль (12 человек)	Группа 2 Диабет <1года (9 человек)	Группа 3 Диабет >1года (22 человека)
Пол (м:ж)	8:04	4:04	9:13
Возраст (год)	9,08±1,62	9,00±1,12	9,00±0,84
Срок болезни (год)	-	0,21±0,03*	3,41±2,13*
Глюкоза (мМ)	5,2±0,23	11,21±2,11*	9,23±0,35*
Hb _{A1c} (%)	5,94±0,34	11,52±1,48*	7,93±1,51*
Холестерин (мМ)	3,76±0,91	4,73±1,53*	4,71±0,99*
Триацилглицерины (мМ)	1,31±0,36	1,29±0,72	1,41±0,21

Примечание: Hb_{A1c} - гликированный гемоглобин. * - статистически значимые отличия средних значений от контрольной группы, p<0,05.

Таблица 2. Содержание НЭЖК в плазме крови здоровых детей и детей, больных СД1, мкмоль/л

НЭЖК	Группа 1 Контроль (n=12)	Группа 2 Диабет <1 года (n=9)	Группа 3 Диабет >1 года (n= 22)
Насыщенные			
1. Миристиновая (C14:0)	22,72±9,39	30,25±9,07	29,92±10,42
2. Пальмитиновая (C16:0)	134,04±29,20	217,20±55,53*	191,69±56,08*
3. Стеариновая (C18:0)	93,95±18,04	136,24±26,13*	114,49±22,87*#
4. Арахидовая (C20:0)	1,83±0,38	2,95±0,69*	1,78±0,58#
5. Бегеновая (C22:0)	1,26±0,24	0,89±0,28*	1,50±1,19
6. Лигноцериновая (C24:0)	1,48±0,54	1,84±0,50	2,07±0,74*
Сумма насыщенных ЖК	255,28±56,9	389,37±79,12*	341,45±85,29*
Мононенасыщенные			
7. Пальмитолеиновая (C16:1 n-7 <i>cis</i> Δ9)	16,89±2,85	26,75±5,99	30,38±4,41*
8. Элаидиновая (C18:1 n-9 <i>trans</i> Δ9)	6,20±3,56	11,27±6,86*	6,84±2,98#
9. Олеиновая (C18:1 n-9 <i>cis</i> Δ)	55,03±27,99	128,88±78,47*	143,18±60,61*
10. Цис-вакценовая (C18:1 n-7 <i>cis</i> Δ11)	2,79±2,19	5,94±3,51*	6,86±3,27*
11. Цис-11-эйкозеновая (C20:1 n-9 <i>cis</i> Δ11)	2,72±2,15	1,20±0,38*	1,18±0,58*
12. Цис-13-докозеновая (C22:1 n-9 <i>cis</i> Δ13)	1,81±0,38	2,86±0,60*	1,88±0,75#
Сумма мононенасыщенных ЖК	85,75±33,13	176,90±96,71*	190,32±75,55*
Полиненасыщенные			
13. Линолэлаидиновая (C18:2 <i>trans</i> Δ9,12)	2,54±1,25	2,66±1,25	3,45±1,08*
14. Линолевая (C18:2 n-6 <i>cis</i> Δ9,12)	31,89±17,37	58,28±34,55*	75,00±37,79*
15. α-линоленовая (C18:3 n-3 <i>cis</i> Δ9,12,15)	1,31±0,39	1,67±1,20	2,42±1,31*
16. Эйкозодиеновая (C20:2 n-6 <i>cis</i> Δ11,14)	1,06±0,43	1,72±0,76*	1,41±0,92
17. Дигомо-γ-линоленовая (C20:3 n-6 <i>cis</i> Δ8,11,14)	2,36±0,55	2,14±0,75	2,51±0,54
18. Эйкозатриеновая (C20:3 n-3 <i>cis</i> Δ11,14,17)	3,02±1,39	4,41±2,17	4,32±1,44*
19. Арахидоновая (C20:4 n-6 <i>cis</i> Δ5,8,11,14)	2,95±0,91	3,86±0,85*	2,52±1,22#
20. Эйкозапентаеновая (C20:5 n-3 <i>cis</i> Δ5,8,11,14,17)	1,95±0,16	2,69±2,03	3,53±1,39*
21. Докозодиеновая (C22:2 n-6 <i>cis</i> Δ13,16)	2,76±1,04	2,34±0,72	1,80±1,08*
22. Докозотетраеновая (C22:4 n-6 <i>cis</i> Δ7,10)	1,47±0,52	1,79±0,46	1,49±0,42
23. Докозапентаеновая (C 22:5 n-3 <i>cis</i> Δ7,10,13,16,19)	3,89±1,37	1,57±0,47*	2,42±1,29*
22. Докозагексаеновая (C 22:6 n-3 <i>cis</i> Δ4,7,10,13,16,19)	1,90±0,79	1,41±0,30*	2,05±0,85#
Сумма полиненасыщенных ЖК	57,11±18,69	84,57±38,61*	102,91±42,49*
Сумма всех ЖК	397,84±84,23	652,87±194,63*	636,93±193,08*

Примечание. В таблице и тексте приняты следующие обозначения жирных кислот: - после названия жирной кислоты указано число углеродных атомов, - после двоеточия - число двойных связей, n-3 или n-6 означает положение двойной связи, считая число углеродных атомов от метильной группы, *cis* и *trans* - конформацию жирнокислотного остатка, знаком Δ обозначается положение первой из всех двойных связей, но при этом углеродные атомы считаются от карбоксильной группы. * - достоверное отличие p<0,05 от группы 1, # - достоверное отличие p<0,05 от группы 2.

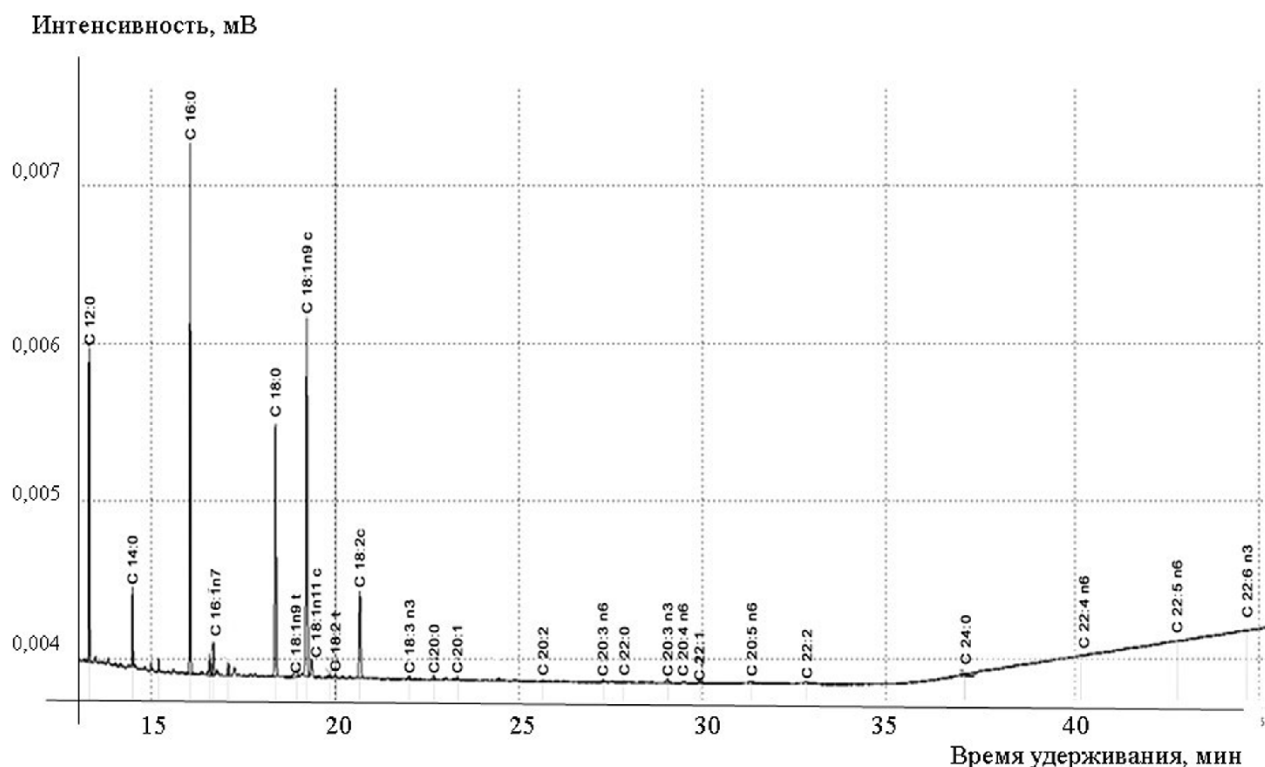


Рисунок. Хроматограмма метиловых эфиров НЭЖК плазмы крови здорового ребёнка.

Анализ суммарного содержания более 20-ти индивидуальных НЭЖК в плазме детей с разными сроками заболевания СД1 выявил увеличение в 1,6 раза общего уровня НЭЖК в обеих группах, то есть вне зависимости от срока заболевания СД1 по сравнению с детьми, не страдающими нарушением углеводного обмена. Ранее ферментативным методом было показано достоверное увеличение содержания общего уровня НЭЖК в плазме у детей с СД1 [13] и изменение содержания линоленовой и арахидоновой кислот [14].

Содержание насыщенных НЭЖК в среднем увеличивается на 52%, мононенасыщенных на 106% и полиненасыщенных на 48%. Основной вклад в повышение насыщенных ЖК вносит пальмитиновая кислота. Согласно последним исследованиям, в определённых концентрациях она может ингибировать секрецию инсулина β -клетками и вызывать их апоптоз [25]. При сравнении прироста концентраций насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в группе детей с СД1 оказалось, что эти величины достаточно близки: насыщенные кислоты увеличиваются на 130 мкМ, а ненасыщенные – на 100 мкМ. Исходя из этого можно предположить, что при развитии диабета ненасыщенные жирные кислоты защищают β -клетки от токсичного воздействия повышенных концентраций насыщенных кислот. Однако существенное суммарное повышение содержания НЭЖК не может не оказать патофизиологического воздействия, так как происходит активация воспалительного процесса и увеличение продукции активных форм кислорода [26]. В результате повышается уровень провоспалительных цитокинов [27] и активируется перекисное окисление липидов [28].

Согласно данным таблицы 2, в группе детей со сроком заболевания менее 1 года происходит увеличение на 30% содержания арахидоновой кислоты (АК) (20:4 n-6), которое снижается до нормального значения в группе детей с длительными сроками заболевания. Это увеличение может быть обусловлено фосфолипазой A_2 , которая осуществляет гидролиз сложноэфирной связи в sn-2 положении молекулы фосфолипидов с образованием лизофосфотидилхолина (ЛФХ) и жирной кислоты. Ранее нами было показано повышение содержания ЛФХ в эритроцитах при развитии СД1, что косвенно указывает на увеличение активности фосфолипазы A_2 [29] и согласуется с данными работы [30].

Анализируя характер изменения n-3 и n-6 (или ω -3 и ω -6) жирных кислот, которые являются источником для образования противовоспалительных и провоспалительных эйкозаноидов, можно отметить, что в обеих группах происходит как уменьшение, так и увеличение отдельных кислот. Уже упоминалось об увеличении содержания арахидоновой кислоты (20:4 n-6), но при этом существенно (на 60%) падает содержание докозапентаеновой (22:5 n-6) кислоты. В группе n-3 жирных кислот происходит уменьшение содержания докозагексаеновой (22:6 n-3) на 26% и увеличение содержания эйкозапентаеновой кислоты (20:5 n-3).

В данной работе впервые было обнаружено достоверное увеличение концентрации *транс*-изомера олеиновой кислоты (18:1 n-9 t) на 82% в группе детей со сроком заболевания менее 1 года. *Транс*-жирные кислоты (ТЖК) (ненасыщенные жирные кислоты, которые содержат хотя бы одну неконъюгированную двойную связь в транс-конфигурации) не синтезируются

в организме человека, но присутствуют в большом количестве в продуктах промышленного производства (гидрогенизированные жиры) и в минимальных количествах в продуктах животного происхождения (образуются в рубце жвачных животных). Поскольку дети всех трех групп находились в одном и том же стационаре, обнаруженное различие в содержании транс-жирных кислот в группе детей, больных СД1, и детей без нарушений углеводного обмена не связано с различиями в пищевом рационе. Более вероятно предположение о том, что изменения в составе микробиоты человека, которые происходят до и после проявлений СД1, приводят к изменению спектра жирных кислот, которые синтезируют и секретируют отдельные микроорганизмы [31]. Установлено, что они обладают сложной системой ферментов, которые превращают *цис*-кислоты (линолевую и альфа-линоленовую) в *транс*-кислоты (конъюгированные линолевые кислоты, *транс*-вакценовую кислоту) и далее в стеарат [32]. Многочисленные литературные данные показывают, что ТЖК обладают провоспалительным действием, причем провоспалительные эффекты могут быть сильнее в случае *транс*-изомеров линолевой кислоты (18:2 n-6 t) и олеиновой кислоты (18:1 n-9 t), чем пальмитолеиновой кислоты (С16:1 n-9 t). Механизмы, лежащие в основе такого воздействия, пока не изучены, но могут включать в себя встраивание ТЖК в мембраны эндотелиальных клеток, моноцитов, макрофагов, адипоцитов, что активирует сигнальные пути развития воспалительной реакции [33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе проведено исследование качественного и количественного состава НЭЖК, выделенных из липидного экстракта плазмы, у детей с разными сроками СД1. Полученные данные о суммарном содержании НЭЖК в норме согласуются с результатами, ранее полученными ферментативными методами. Показано достоверное увеличение суммарного содержания НЭЖК вне зависимости от срока заболевания. Однако изменения в содержании индивидуальных НЭЖК имеют разнонаправленный характер и наиболее сильно выражены у детей с впервые выявленным СД1.

Прирост НЭЖК в плазме крови больных детей происходит за счёт как насыщенных, так и ненасыщенных жирных кислот, что позволяет сделать предположение о незначительном токсическом воздействии насыщенных жирных кислот на β -клетки поджелудочной железы.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что назначаемая больным СД1 инсулинотерапия, ориентированная, главным образом, на нормализацию уровня глюкозы в крови, оказывается недостаточной для нормализации липидного обмена. Результаты данных исследования показали, что для выявления нарушений метаболизма липидов недостаточно оценивать только содержание ТАГ и холестерина, как это принято в клинической практике.

Необходимо определять и другие типы липидов, присутствующие в кровотоке, идентифицируя их жирнокислотный состав, что и будет предметом дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Prentki M., Murthy Madiraju S.R. (2012) Mol. Cell. Endocrinology, **353**, 88-100.
2. Morgan N.G., Dhayal S. (2009) Biochem. Pharmacol., **78**, 1419-1427.
3. Crespin S.R., Greenough W.B., Steinberg D. (1973) J. Clin. Invest., **52**, 1979-1984.
4. Balent B., Goswami G., Goodloe G., Rogatsky E., Rauta O., Nezami R., Mints L., Angeletti R.H., Stein D.T. (2002) Ann. N.Y. Acad. Sci., **967**, 535-543.
5. Butler A.E., Janson J., Bonner-Weir S., Ritzel R., Rizza R.A., Butler P.C. (2003) Diabetes, **52**, 102-110.
6. Eitel K., Staiger H., Brendel M.D., Brandhorst D. (2002) Biochem. Biophys. Res. Commun., **299**, 853-856.
7. Weinberg J.M. (2006) Kidney Int., **70**, 1560-1566.
8. Piro S., Spampinato D., Spadaro L., Oliveri C.E., Purrello F., Rabuazzo A.M. (2008) Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis., **18**, 96-104.
9. Pankow J., Duncan B.B., Schmidt M.I., Ballantyne C.M., Couper D.J., Hoogeveen R.C., Golden S.H. (2004) Diabetes Care, **27**, 77-82.
10. Bergman R.N., Ader M. (2000) TEM, **11**, 351-356.
11. Yi L.Z., Heb J., Liang Y.Z., Yuana D.L., Chau F.T. (2006) FEBS Letters, **580**, 6837-6845.
12. Liu L., Li Y., Guan C., Li K., Wang C., Feng R., Sun C. (2010) J. Chromat. B, **878**, 2817-2825.
13. Zmyslowska A., Wyka K., Szadkowska A., Mianowska B., Pietrzak I., Mlynarski W. (2011) Pediatr. Endocrinol. Diabetes Metab., **17**, 26-29.
14. Decsi T., Szabó E., Kozári A., Erhardt E., Marosvölgyi T., Soltész G. (2005) Acta Paediatrica, **94**, 850-855.
15. Dole V.P. (1956) J. Clin. Invest., **35**, 150-154.
16. Mackenzie R.D., Blohm T.R., Auxier E.M., Luther A.C. (1967) J. Lipid Res., **8**, 589-597.
17. Kiziltunc A., Akcay F. (1998) Clin. Chem. Lab. Med., **36**, 83-86.
18. Mehta A., Oeser A.M., Carlson M.G. (1998) J. Chromat. B, **719**, 9-23.
19. Burdge G.C., Wright P., Jones A.E., Wootton S.A. (2000) British J. Nutr., **84**, 781-787.
20. Pace-Asciak C.R. (1989) J. Lipid Res., **30**, 451-454.
21. Ko H., Royer M.E. (1974) J. Chromat., **88**, 253-263.
22. Hallaq Y., Becker T.C., Manno C.S., Laposata M. (1993) Lipids, **28**, 355-360.
23. Акмурзина В.А., Петряйкина Е.Е., Савельев С.В., Селищева А.А. (2013) Масс-спектрометрия, **10**, 31-38.
24. Polette A., Durand P., Floccard B., Blachel D.A. (1992) Analyt. Biochem., **206**, 241-245.
25. Itoh Y., Kawamata Y., Harada M., Kobayashi M., Fujii R., Fukusumi S. (2003) Nature, **422**, 173-176.
26. Inoguchi T., Li P., Umeda F., Yu H.Y., Kakimoto M., Imamura M. et al. (2000) Diabetes, **49**, 1939-1945.
27. Зак К.П., Попова В.В. (2008) Украинський медичний часопис, **6**, 69-77.
28. Erbağcı A.B., Tarakçıoğlu M., Coşkun Y., Sivaslı E., Sibel Namiduru E. (2001) Clin. Biochem., **34**, 645-650.
29. Мутянина В.А., Купцов В.Н., Савельев С.В., Швец В.И., Селищева А.А. (2012) Биомед. химия, **58**, 95-103.

30. Wegner M., Araszkiewicz A., Pioruńska-Mikolajczak A., Zozulińska-Ziółkiewicz D., Wierusz-Wysocka B., Pioruńska-Stolzmann M. (2009) Clin. Biochem., **42**, 1621-1627.
31. Vaarala O. (2012) Rev. Diabet. Stud., **9**, 251-259.
32. Druart C., Neyrinck A.M., Vlaeminck B., Fievez V., Cani P.D., Delzenne N.M. (2014) PLoS One, **9**, e87560.
33. Mozaffarian D. (2006) Atherosclerosis Supplements, **7**, 29-32.

Поступила: 24. 03. 2015.
Принята к печати: 22. 03. 2016.

THE PROFILE OF PLASMA NON-ESTERIFIED FATTY ACIDS IN CHILDREN WITH DIFFERENT TERMS OF TYPE 1 DIABETES MELLITUS

V.A. Akmurzina^{1,4}, E.E. Petryairina², S.V. Saveliev^{3,4}, A.A. Selishcheva^{1,4}

¹Department of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University,
1 Leninskie gory, Moscow, 119991 Russia

²Morozov Children's Hospital, 1, 4-th Dobryninsky per., Moscow, 119049 Russia

³Research Institute of Human Morphology of the Russian Academy of Medical Sciences,
3 Tsuryupy str., Moscow, 117418 Russia

⁴Institution of Biomedical Problems, 4a Novodanilovskaya emb., Moscow, 117105 Russia; e-mail: aselo@yandex.ru

Composition and quantitative content of non-esterified fatty acids (NEFA) were investigated in plasma samples of healthy children (12) and children with type 1 diabetes mellitus (DM1) (31) by gas chromatography (GC) after preliminary NEFA solid-phase extraction from plasma lipids. There was a significant ($p < 0.001$) 1.6-fold increase in the total level of NEFA regardless of the disease duration. In the group of DM1 children with the disease period less than 1 year there was an increase in the arachidonic acid (20:4) content (30%) and the oleic acid trans-isomer (18:1) content (82%), and also a decrease in the docosahexaenoic acid (22:6 n3) content (26%) and the docosapentaenoic acids (22:5 n-6) content (60%). In the group of DM1 children with prolonged course of this disease the altered NEFA levels returned to the normal level.

Key words: non-esterified fatty acids, arachidonic acid, trans-fatty acid, type 1 diabetes, solid-phase extraction