

Сажина Н.Н.¹, Титов В.Н.², Евтеева Н.М.¹, Ариповский А.В.²

Изменение суммарной ненасыщенности жирных кислот липидов плазмы крови больных артериальной гипертензией в глюкозотолерантном тесте

¹ — ФГБНУ «Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН», 119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4

² — ФГБУ «Институт клинической кардиологии Российского кардиологического научно-производственного комплекса» Минздрава России, 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д.15-а

Цель исследования — оценка в динамике глюкозотолерантного теста (ГТТ) содержания в плазме крови пациентов с артериальной гипертензией общего содержания двойных связей (ДС), незатерифицированных жирных кислот (НЭЖК), индивидуальных ЖК, инсулина, глюкозы и других анализов для выяснения функциональных связей между ними. **Методика.** Глюкозотолерантный тест проведен у 20 пациентов с артериальной гипертензией при отсутствии и наличии синдрома инсулинорезистентности (ИР). В плазме крови определено содержание индивидуальных ЖК, суммарное содержание НЭЖК, ДС, глюкозы, инсулина и других анализов. Кровь брали из вены натощак и через 2 и 4 ч, а плазму крови отделяли от эритроцитов и хранили при 70°С. Количественное определение ЖК проводили на аналитическом газовом хроматографе с использованием стандартных образцов ЖК. Суммарное содержание ДС в липидном пуле плазмы крови определяли методом озонирования. Содержание инсулина и С-пептида в плазме крови определяли на анализаторе «Иммулайт», а глюкозы, ТГ, НЭЖК, свободного ХС, и других анализов — на биохимическом анализаторе модели «Архитект-800». Достоверность различия величин считали по t-критерию Стьюдента (t-тест), используя 95%-ю доверительную вероятность ($p \leq 0,05$). **Результаты.** Установлено, что у пациентов без синдрома ИР содержание НЭЖК после нагрузки глюкозой снизилось в 3 раза, и в такой же мере возросла секреция инсулина, и понизилось содержание олеиновой и линолевой ЖК. При синдроме ИР секреция инсулина увеличилась в 8 раз, а содержание НЭЖК и индивидуальных ЖК уменьшилось менее значительно. Уменьшение суммарной ненасыщенности ЖК липидов плазмы крови, т.е. содержания ДС в ненасыщенных ЖК, отражает эффективность действия инсулина — первичную блокаду гидролиза триглицеридов в адипоцитах, снижение содержания НЭЖК, и, как следствие, вторичное усиление поглощения клетками глюкозы. Выявлена достоверная корреляция ($r = 0,851$) между содержанием ДС, определенным методом озонирования, и рассчитанным, исходя из концентрации индивидуальных ЖК с известным числом ДС. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют, что действие инсулина в ГТТ можно достоверно оценить на основании изменения в плазме крови не только содержания глюкозы, но и концентрации ненасыщенных ЖК и числа ДС, характеризующих степень ненасыщенности липидов плазмы крови.

Ключевые слова: глюкозотолерантный тест, инсулинорезистентность, двойные связи, жирные кислоты

Для корреспонденции: Сажина Наталья Николаевна, e-mail: Natnik48s@yandex.ru

Для цитирования: Сажина Н.Н., Титов В.Н., Евтеева Н.М., Ариповский А.В. Изменение суммарной ненасыщенности жирных кислот липидов плазмы крови больных артериальной гипертензией в глюкозотолерантном тесте. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2016; (2): 74—80.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.10.14

Sazhina N.N.¹, Titov V.N.², Evteeva N.M.¹, Aripovsky A.V.²

Change of total nonsaturation of blood plasma lipids for patients with arterial hypertension in glucose tolerance test

¹ — FSBI «Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences»; 4 Kosyigina str., Moscow, 119334, Russia

² — FSBI «Russian Cardiology Research and Production Complex», Ministry of Health of Russian Federation, 15a, 3-rd Cherepkovskaya str., Moscow, 121552, Russia

The research purpose — definition in dynamics of the glucose tolerance test (oGTT) in blood plasma for patients with arterial hypertension of the total content of double bonds (DB) and non-esterified fatty acids (NEFA), of the content of individual fatty acids (FA), glucose, insulin and other analytes for clarification of functional communications between them.

Methods. The oral glucose tolerance test (oGTT) was carried out for 20 patients with arterial hypertension at absence and presence of an insulin resistance (IR) syndrome. Blood was taken from a vein on an empty stomach and in 2 and 4 hours, blood plasma was separated from erythrocytes and stored at -70°C . Quantitative definition of FA was carried out on the analytical gas chromatograph with use of standard FA samples. The total double bonds content in a lipid pool of blood plasma was determined by an ozonization method. Content of insulin and C-peptide in blood plasma was determined on the Immulayt analyzer and glucose, TG, NEFA, free cholesterol (TCh) and other analytes — on the biochemical analyzer of the Arkhitekt-800 model. Reliability of distinction of sizes was considered by t-criterion, using 95% confidential probability ($p \leq 0,05$). For patients with various resistances to insulin (IR) the plasma content of NEFA decreases 3 times. **Results.** It is established that for patients with various resistances to insulin (IR) the plasma content of NEFA decreases 3 times. Out of IR insulin secretion during 2 hours after glucose loading increases 3 times, and decrease in the individual FA content is greater; in IR insulin secretion increases 8-fold, and decrease in individual FA content is less pronounced. Effect of insulin reflects a decrease of the DB (total nonsaturation of blood plasma lipids) and FA (olein and linoleic) content in blood plasma — blockade of triglyceride hydrolysis in subcutaneous adipocytes. Reliable correlation ($r = 0,851$) between the DB content determined by an ozonization method and calculated proceeding from concentration of individual FA with known DB number is revealed. **Conclusion.** The received results demonstrate that effect of insulin can be estimated at GTT authentically on the basis of change in blood plasma not only of the glucose content, but also concentration of nonsaturated FA and DB number characterizing degree of nonsaturation of blood plasma lipids.

Keywords: oral glucose tolerance test, resistance to insulin, double bonds, fatty acids.

For citation: Sazhina N.N., Titov V.N., Evteeva N.M., Aripovsky A.V.

Change of total nonsaturation of blood plasma lipids for patients with arterial hypertension in glucose tolerance test. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2016; 60 (2): 74–80. (in Russ).

For correspondence: Natalia N. Sazhina, Candidate of phys.-math. sciences, Senior researcher, «FSBIS «Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences»; 4 Kosjgina ul., Moscow, 119334, Russia, e-mail: Natnik48s@yandex.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Received 17.10.14

Введение

Тест толерантности к глюкозе (ГТТ) — наиболее частый функциональный тест клинической биохимии: прием 75 г глюкозы per os и определение содержания ее в капиллярной крови натощак и через 2 часа [1]. Гипергликемия активирует поглощение клетками глюкозы по градиенту концентрации «межклеточная среда > цитоплазма», поскольку содержание глюкозы в цитоплазме всегда ниже, чем в межклеточной среде. Гипергликемию воспринимают сенсоры β -клеток поджелудочной железы и активируют секрецию в кровь проинсулина (инсулин + С-пептид). Образование активной формы инсулина происходит в крови при гидролизе С-пептида. Инсулин физиологично блокирует гидролиз ТГ в инсулинозависимых адипоцитах и уменьшает освобождение в кровоток ЖК в форме полярных неэтерифицированных ЖК (НЭЖК). Поглощенные клетками НЭЖК блокируют окисление ацетил-КоА, который митохондрии образуют из пирувата, нарабатываемого клетками при метаболизме глюкозы в пируватдегидрогеназном комплексе. Пока митохондрии имеют возможность поглощать НЭЖК из цитоплазмы и образовывать ацетил-КоА при β -окислении ЖК в матриксе, они не станут окислять ацетил-КоА из глюкозы, поскольку могут образовать его из пирувата.

Более глубоко понять действие инсулина на метаболизм глюкозы можно, изучив одновременно метаболизм ЖК и определив степень суммарной ненасыщенности липидов плазмы крови.

Исследованием метаболизма ЖК, глюкозы и других аналитов плазмы крови в ходе ГТТ занимались многие авторы [2–6]. В работе [3], например, используя современные дорогостоящие масс-спектрометры и жидкостные хроматографы, исследовали состав индивидуальных ЖК и их содержание в пуле НЭЖК. Однако ни в одной из этих работ не использовался достаточно оперативный метод озонирования для определения степени ненасыщенности липидов плазмы крови и связь ее с параметрами метаболизма ЖК и глюкозы в ГТТ.

Ранее установлено [7,8], что содержание в плазме крови триглицеридов (ТГ) взаимосвязано с концентрацией двойных связей (ДС) в ЖК липидов и липопротеинов (ЛП), так как число ДС в ЖК определяет все кинетические параметры метаболизма. Наличие в плазме крови мононенасыщенных ЖК с одной ДС (МЖК), 2–3 ДС в ненасыщенных ЖК (ННЖК) и 4–6 ДС в полиеновых ЖК (ПНЖК) является в филогенезе своего рода «метаболическим признаком» [8]. Чтобы обеспечить инсулинозависимые клетки (скелет-

ные миоциты, кардиомиоциты, жировые клетки и перипортальные гепатоциты) субстратами для наработки энергии, инсулин регулирует окисление ЖК в митохондриях и вторично метаболизм глюкозы.

Цель исследования — оценка в динамике ГТТ содержания в плазме крови пациентов с артериальной гипертензией общего содержания ДС, НЭЖК, индивидуальных ЖК, инсулина, глюкозы, С-пептида и других анализов для выяснения функциональных связей между ними.

Методика

ГТТ провели, согласно рекомендациям ВОЗ и Международной федерации диабета, у 20 пациентов с диагнозом артериальная гипертензия в Институте клинической кардиологии, получив их информированное согласие. Кровь брали из вены локтевого сгиба и через 2 и 4 ч с помощью пластиковых шприцов с антикоагулянтом ЭДТА. Плазму крови отделяли от эритроцитов и хранили при 70°C. ЖК определяли на аналитическом газовом хроматографе модели «Вариан 3900» (США) при использовании кварцевой капиллярной колонки с неподвижной жидкой фазой «Супелко-вакс-10» (Швейцария). После модифицированной процедуры метилирования ЖК, пробы образцов вводили в инжектор хроматографа в объеме 2 мкл. Регистрация и обработка сигнала осуществлялась по программе «Мультихром-1,5х» [9]. Для количественного определения ЖК использовали стандартные образцы ЖК и стандартные смеси ЖК фирмы Супелко (Швейцария). Концентрацию индивидуальных ЖК выражали в ммоль/л плазмы крови. Содержание инсулина и С-пептида в плазме крови определяли на анализаторе «Иммулайт» («Сименс», ФРГ) с использованием диагностических наборов фирмы «Иммунно» (США). Содержание в плазме крови глюкозы, ТГ, НЭЖК, свободного ХС, фосфолипидов и кетонных тел измеряли на биохимическом анализаторе модели «Архитект-800» («Эбботт», США), используя биохимические наборы фирмы Диасис, ФРГ.

Суммарное содержание ДС в липидном пуле плазмы крови определяли методом озонирования, который основан на способности озона быстро присоединяться к ДС в ЖК с константой скорости реакции порядка 10^5 – 10^6 М⁻¹ с [10]. Липидную фракцию из плазмы крови экстрагировали хлороформом с последующим отделением ее водно-метанольной смесью. Измерения выполнены на анализаторе ДС АДС-4М. В качестве стандартного образца использовался стирбен с одной ДС, контроль работы прибора осуществлялся по β-каротину с 11 ДС [11]. Погрешность измерения содержания ДС составила ± 15%. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью

стандартных алгоритмов программ MS Excel. Достоверность различия величин считали по t-критерию Стьюдента (t-тест), используя 95%-ную доверительную вероятность ($p \leq 0,05$) [12].

Результаты и обсуждение

При физиологическом или повышенном содержании глюкозы в крови натощак, через 2 ч после ее приема уровень $\leq 7,8$ ммоль/л оценивают как норму. При содержании глюкозы $\geq 7,8$ ммоль/л гипергликемию рассматривают как нарушение толерантности к глюкозе, т.е. состояние резистентности к инсулину (ИР). В таблице приведены определенные в динамике ГТТ средние значения содержания некоторых анализов, индивидуальных ЖК и ДС для двух групп пациентов: без ИР (I гр., n = 7) и с ИР (II гр., n = 13). ($M \pm \sigma$), где σ — среднее квадратичное отклонение (СКО) в указанных группах.

В срок 2 ч ГТТ средняя концентрация глюкозы у пациентов без ИР существенно не изменилась, а при ИР гипергликемия возросла в 1,6 раза. Через 4 ч гликемия в обеих группах была в физиологических пределах. Секреция β-клетками инсулина у пациентов без ИР увеличилась в ~3 раза, а при ИР — в ~8 раз. Концентрация С-пептида — достоверный тест секреции инсулина β-клетками. Между содержанием в плазме крови инсулина и С-пептида в ГТТ (через 2 ч) выявлена позитивная коррелятивная зависимость с коэффициентами корреляции $r = 0,915$ и $r = 0,888$ для I и II групп пациентов. Инсулин блокирует освобождение НЭЖК из адипоцитов, и содержание НЭЖК в крови через 2 ч понижается в ~3 раза у пациентов обеих групп. Гипергликемия в ГТТ несущественно изменяет содержание в плазме крови насыщенных ЖК (НЖК): С14:0 миристиновой, С15:0 пентадециновой, С18:0 стеариновой, С16:0 пальмитиновой, а также С16:1 пальмитолеиновой МЖК. Различия в концентрации этих ЖК между группами пациентов также невелики. Статистически значимо снизилось содержание С18:1 олеиновой и С18:2 линолевой ЖК. Концентрация же других ННЖК и ПНЖК меняется не существенно. Можно полагать, что уменьшение содержания НЭЖК происходит за счет блокады инсулином освобождения из адипоцитов С18:1 олеиновой и С18:2 линолевой ЖК. Возможно, происходит и более быстрое поглощение их клетками.

Блокаду инсулином липолиза в адипоцитах можно оценить и при определении числа ДС в плазме крови методом озонирования. На рис. 1 приведены диаграммы суммарного содержания ДС в липидном пуле плазмы крови в ГТТ у пациентов, полученные этим методом (рис. 1,А). Было рассчитано также суммарное содержа-

Средние значения содержания анализов, ЖК и ДС в плазме крови пациентов в динамике ГТТ при отсутствии ИР (I гр.) и наличии ИР (II гр.). Степень изменения - $M_{2ч}/M_{нат}$.

Аналиты, $M \pm \sigma$: I гр. (n = 7), II гр. (n = 13)		Натощак	Через 2 ч	Через 4 ч	Степень изменения	t-тест
Глюкоза, ммоль/л	I гр.	6,15 ± 0,53	5,82 ± 1,04	4,25 ± 0,29	0,95	0,506
	II гр.	6,16 ± 0,62	9,93 ± 1,63	4,29 ± 0,83	1,61	0,0001
Инсулин, МЕ/мл	I гр.	18,3 ± 6,5	54,7 ± 32,3	11,5 ± 5,8	2,99	0,018
	II гр.	13,5 ± 4,3	106,0 ± 39,6	16,5 ± 6,3	7,85	2 · 10 ⁻⁵
С-пептид, нг/мл	I гр.	4,5 ± 0,9	11,1 ± 2,3	4,1 ± 1,1	2,48	0,0001
	II гр.	4,0 ± 1,1	17,3 ± 4,7	7,1 ± 1,9	4,33	3 · 10 ⁻⁷
НЭЖК, ммоль/л	I гр.	0,49 ± 0,17	0,15 ± 0,04	0,48 ± 0,28	0,31	0,001
	II гр.	0,55 ± 0,14	0,19 ± 0,15	0,34 ± 0,19	0,35	5 · 10 ⁻⁹
Триглицериды, ммоль/л	I гр.	1,93 ± 0,55	1,81 ± 0,48	1,72 ± 0,52	0,94	0,257
	II гр.	2,84 ± 0,55	1,70 ± 0,46	1,71 ± 0,47	0,92	0,021
Фосфолипиды, ммоль/л	I гр.	2,53 ± 0,14	2,43 ± 0,22	2,42 ± 0,17	0,96	0,153
	II гр.	2,55 ± 0,24	2,49 ± 0,27	2,43 ± 0,31	0,98	0,114
ХС свободный, ммоль/л	I гр.	1,35 ± 0,16	1,29 ± 0,17	1,32 ± 0,16	0,96	0,067
	II гр.	1,36 ± 0,19	1,31 ± 0,19	1,32 ± 0,21	0,96	0,008
Кетоновые тела, ммоль/л	I гр.	85 ± 11	84 ± 13	105 ± 37	0,99	0,704
	II гр.	106 ± 18	103 ± 18	109 ± 17	0,97	0,138
НОМА индекс, ммоль/л	I гр.	5,05 ± 1,97	14,92 ± 10,71	2,15 ± 1,05	2,95	0,042
	II гр.	3,72 ± 1,22	48,02 ± 22,9	3,19 ± 1,69	12,97	2 · 10 ⁻⁵
Жирные кислоты, ммоль/л						
Насыщенные (НЖК)						
Миристиновая, С14:0	I гр.	0,17 ± 0,06	0,15 ± 0,05	0,14 ± 0,05	0,88	0,096
	II гр.	0,15 ± 0,05	0,13 ± 0,04	0,13 ± 0,04	0,87	0,022
Пентадеценивая, С15:0	I гр.	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	1,00	0,811
	II гр.	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,75	0,371
Пальмитиновая, С16:0	I гр.	2,76 ± 0,53	2,55 ± 0,51	2,53 ± 0,75	0,92	0,052
	II гр.	2,79 ± 0,53	2,56 ± 0,51	2,63 ± 0,57	0,92	0,008
Стеариновая, С18:0	I гр.	0,67 ± 0,15	0,62 ± 0,20	0,63 ± 0,15	0,93	0,016
	II гр.	0,66 ± 0,16	0,63 ± 0,22	0,63 ± 0,15	0,95	0,011
Мононенасыщенные (МЖК)						
Пальмитолеиновая, С16:1	I гр.	0,27 ± 0,06	0,25 ± 0,09	0,23 ± 0,09	0,93	0,262
	II гр.	0,31 ± 0,11	0,27 ± 0,09	0,27 ± 0,09	0,87	0,004
Олеиновая, С18:1	I гр.	2,12 ± 0,45	1,88 ± 0,45	1,91 ± 0,55	0,88	0,006
	II гр.	2,24 ± 0,47	1,96 ± 0,35	1,96 ± 0,45	0,88	0,003
Ненасыщенные (ННЖК)						
Линолевая, С18:2	I гр.	3,09 ± 0,68	2,79 ± 0,60	2,83 ± 0,82	0,90	0,059
	II гр.	3,17 ± 0,50	2,91 ± 0,54	2,97 ± 0,54	0,92	0,027
Дигомо-γ-линоленовая, С20:3	I гр.	0,13 ± 0,03	0,13 ± 0,04	0,13 ± 0,04	1,00	0,457
	II гр.	0,15 ± 0,05	0,14 ± 0,05	0,14 ± 0,05	0,93	0,143
Полиеновые (ПНЖК)						
Арахидоновая, С20:4	I гр.	0,71 ± 0,26	0,69 ± 0,25	0,72 ± 0,30	0,97	0,458
	II гр.	0,69 ± 0,19	0,68 ± 0,19	0,70 ± 0,19	0,98	0,786
Эйкозопентаеновая, С20:5	I гр.	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	1,00	0,674
	II гр.	0,07 ± 0,04	0,065 ± 0,03	0,063 ± 0,02	1,00	0,512
Докозопентаеновая, С22:5	I гр.	0,043 ± 0,01	0,044 ± 0,01	0,042 ± 0,01	1,02	0,720
	II гр.	0,042 ± 0,01	0,041 ± 0,01	0,042 ± 0,01	0,98	0,516
Докозагексаеновая, С22:6	I гр.	0,198 ± 0,06	0,195 ± 0,08	0,186 ± 0,09	0,98	0,877
	II гр.	0,226 ± 0,11	0,220 ± 0,09	0,229 ± 0,09	0,97	0,641
[C = C], ммоль/л, по озону	I гр.	13,55 ± 2,75	12,54 ± 2,92	12,79 ± 3,55	0,925	0,067
	II гр.	13,96 ± 2,83	13,02 ± 2,55	13,27 ± 2,67	0,933	0,068
[C = C], ммоль/л, по сумме ДС в индивидуальных ЖК	I гр.	16,17 ± 2,92	13,01 ± 3,43	14,21 ± 3,46	0,80	0,0044
	II гр.	16,68 ± 2,38	13,75 ± 2,65	14,15 ± 2,87	0,82	0,0001

ние ДС в ненасыщенных ЖК, исходя из данных хроматографического определения их концентрации и известными значениями ДС в них (рис. 1,Б).

Вклад ДС ненасыщенных ЖК, входящих в общий пул НЭЖК, незначителен (см. таблицу), поэтому он не учитывался. Корреляция результатов, полученных двумя способами, оказалась достаточно высокой ($r = 0,851$), что свидетельствует о корректности оценки степени ненасыщенности липидов плазмы крови методом озонирования. Из сравнения диаграмм можно заключить, что степень ненасыщенности плазмы крови определяется, главным образом, содержанием в ней МЖК, ННЖК и ПЖК. У большинства пациентов этот показатель через 2 часа ГТТ уменьшился, в основном за счет снижения содержания олеиновой и линолевой ЖК. На рис. 2 приведены корреляционные зависимости между содержанием инсулина и ДС в контрольной точке ГТТ (2 часа).

Видно, что чем сильнее вырос уровень инсулина, тем меньше понижено содержание ДС. Коэффициенты корреляции составили $r = 0,816$ для пациентов без ИР и $r = 0,643$ с ИР. Это может означать, что при ИР даже высокое содержание инсулина не может блокировать липолиз и физиологично понизить в плазме крови содержание ЖК и ДС. Если у пациентов без ИР понижается содержание олеиновой и линолевой ЖК, то при симптоме ИР этого не происходит — инсулин не блокирует липолиз в адипоцитах, и это — причина более высокого уровня глюкозы в контрольной точке ГТТ. Для понимания метаболизма, происходящего в ГТТ, важно выявить зависимость между секрецией инсулина и исходным содержанием в плазме крови пальмитиновой НЖК. На рис. 3 приведены зависимости концентрации инсулина через 2 часа и содержанием натоцка пальмитиновой ЖК (С16:0) для двух групп пациентов.

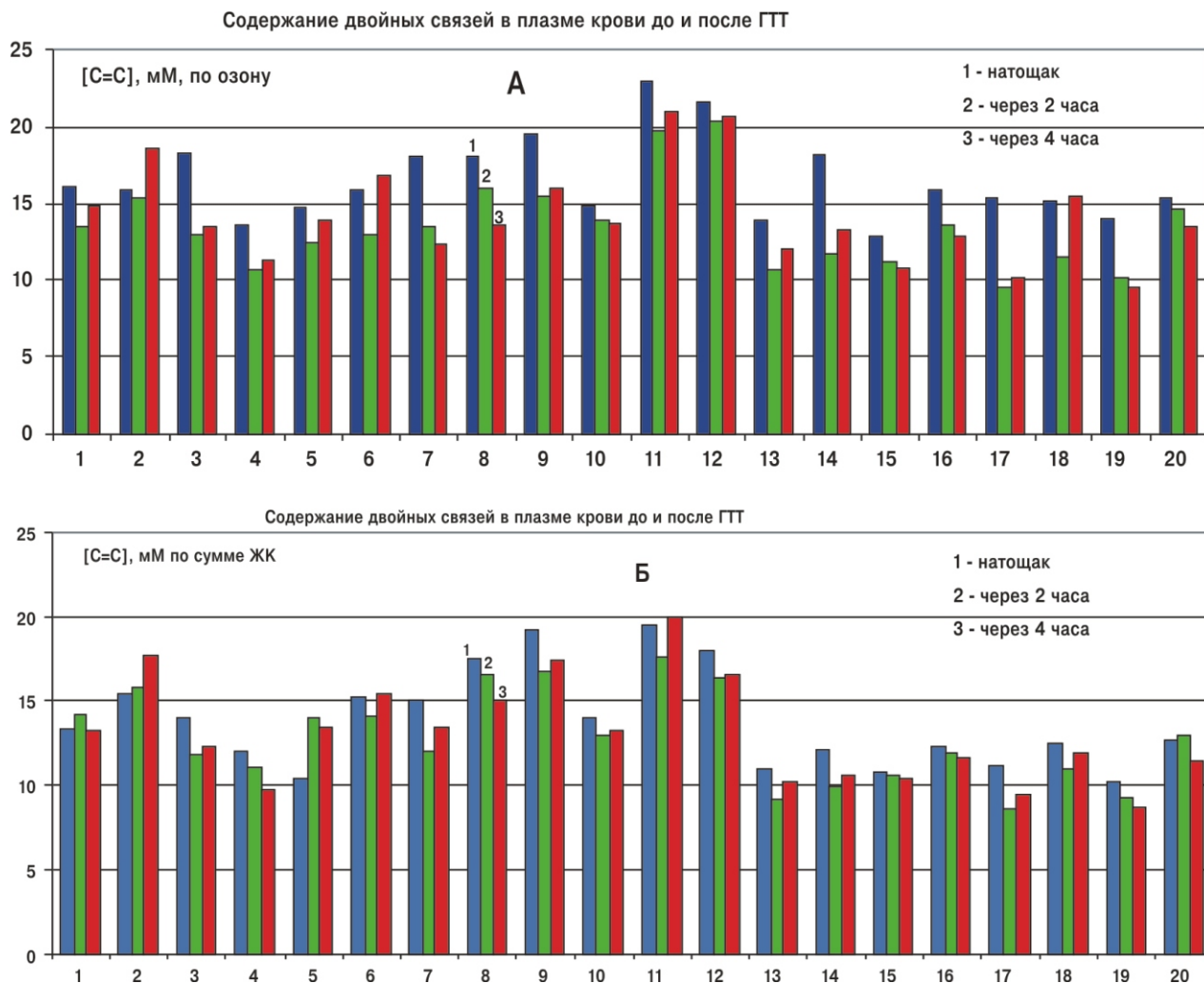


Рис. 1. Суммарное содержание ДС в липидах плазмы крови 20 пациентов в ГТТ, полученные: А — методом озонирования; Б — по сумме ДС ненасыщенных ЖК.

Как оказалось, у второй группы пациентов с ИР более высокая секреция инсулина в ГТТ (в 1,5—2 раза) при равном начальном содержании пальмитиновой кислоты. Корреляция между содержанием инсулина в контрольной точке ГТТ и исходным содержанием пальмитиновой НЖК оказалась выше ($r = 0,839$) у пациентов без ИР.

Согласно предложенной в [8] филогенетической теории общей патологии, система выработки инсулина сформировалась на поздних ступенях филогенеза при становлении биологической функции локомоции — движения за счет сокращения скелетных поперечнополосатых миоцитов. К этому времени регуляция метаболизма глюкозы миллионами лет ранее уже была завершена и для инсулина места в ней не осталось. Предназначение инсулина — обеспечивать субстратами для наработки энергии все клетки, которые во-

влечены в реализацию функции локомоции. Эти клетки не зависимы от инсулина и на плазматической мембране имеют рецепторы к нему. В биологической функции локомоции инсулин, в первую очередь, регулирует метаболизм ЖК и, через них, задействован в регуляции метаболизма глюкозы. Блокируя липолиз (гидролиз неполярных ТГ с освобождением НЭЖК) в инсулинзависимых адипоцитах, но не в инсулинозависимых клетках висцеральной жировой ткани (ВЖК), инсулин понижает содержание НЭЖК в межклеточной среде и уменьшает поглощение ЖК клетками. Одновременно инсулин активирует поглощение клетками глюкозы через ГЛЮТ4, вынуждая митохондрии формировать ацетил-КоА для наработки АТФ не путем β -окисления в ЖК, а при образовании пировиноградной кислоты в пируватдегидрогеназном комплексе цитоплазмы клеток. Пока там при-

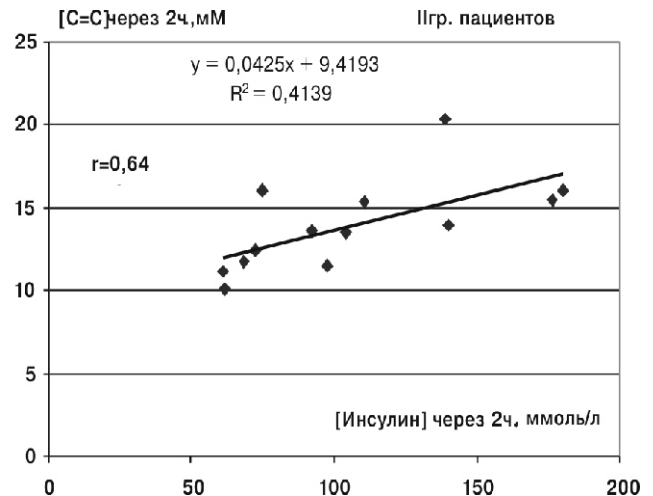
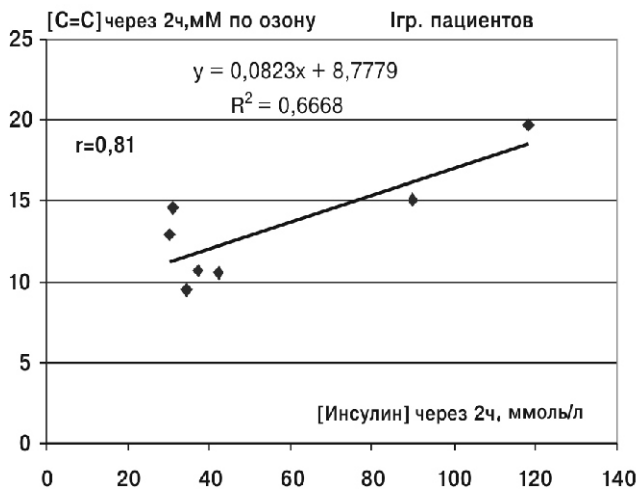


Рис. 2. Корреляция между концентрацией инсулина и содержанием ДС в плазме крови в контрольной точке ГТТ для пациентов без симптома ИР (I гр. слева) и с симптомом (II гр. справа).

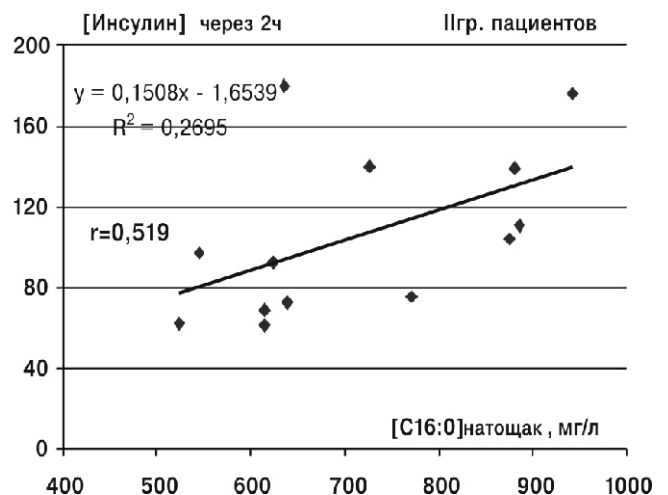
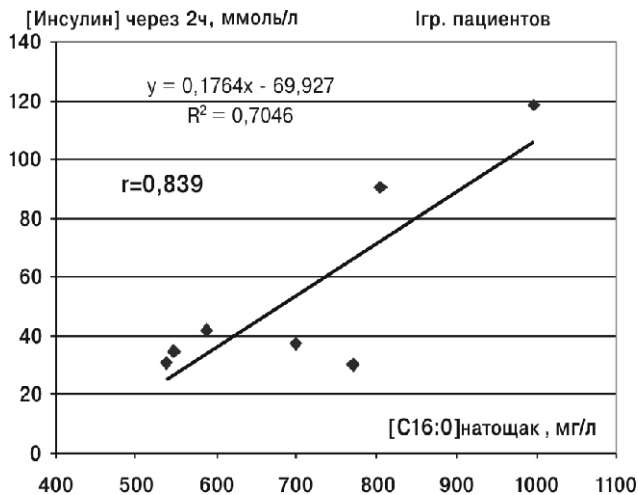


Рис. 3. Зависимость между секрецией инсулина в контрольной точке ГТТ и исходным (натошак) содержанием в крови пальмитиновой НЖК для пациентов без симптома ИР (I гр. слева) и с симптомом ИР (II гр. справа).

сутствуют ЖК, и их могут окислять митохондрии, они не начнут окислять ацетил-КоА, образованный из глюкозы. Симптом ИР патофизиологично определен тем, что инсулин ингибирует липолиз и освобождение в кровь НЭЖК только в генетически более поздних, инсулинозависимых адипоцитах, и не может блокировать липолиз в более ранних клетках ВЖК, которые не имеют рецепторов к инсулину. Поэтому активация постоянного освобождения НЭЖК из ВЖК является главной в патогенезе ИР. Неспособность инсулина понизить содержание НЭЖК в межклеточной среде и вынудить митохондрии клеток формировать ацетил-КоА из пировиноградной кислоты — основа патогенеза ИР. Это и было изучено нами в динамике ГТТ у пациентов при наличии и отсутствии симптома ИР. Чем больше инсулина в контрольной точке ГТТ, тем в меньшей степени понижено содержание ЖК и ДС в липидах. У пациентов без ИР секреция инсулина в среднем возрастает в 3 раза, в то время как у пациентов с ИР увеличена в 8 раз, причем гиперсекреция инсулина достоверно коррелирует с исходной концентрацией пальмитиновой НЖК в плазменных липидах. В общем пуле ЖК и в НЭЖК более выражено снижение содержания олеиновой МЖК и линоленовой ННЖК, причем оно происходит в большей степени у пациентов без ИР. Впервые отмечено, что чем выше исходное содержание пальмитиновой НЖК в плазме крови, тем в меньшей мере проявляется действие инсулина. И если действие полиеновых ЖК *in vivo* рассматривают как инсулиноподобное, то высокое содержание пальмитиновой НЖК оценивают как ингибирующее. Инсулин в первую очередь регулирует метаболизм ЖК и, в зависимости от функциональных особенностей митохондрий, вторично регулирует метаболические превращения глюкозы как субстрата выработки энергии. Среди липопротеинов (ЛП) инсулинозависимыми являются только генетически более поздние липопротеины очень низкой плотности. Самые ранние ЛП высокой плотности и несколько более поздние ЛП низкой плотности являются инсулиннезависимыми и рецепторов к более позднему в филогенезе гормону на мембране не имеют.

Таким образом, в проведенной работе мы впервые показали, что действие инсулина в ГТТ можно достоверно оценить на основании изменения в плазме крови не только содержания глюкозы, но и концент-

рации ненасыщенных ЖК и числа ДС, характеризующих степень ненасыщенности липидов плазмы крови. Выявлена достоверная корреляция ($r = 0,851$) между содержанием ДС, определенным методом озонирования, и рассчитанным, исходя из концентрации индивидуальных ЖК с известным числом ДС.

References

1. Balabolkin M.I., Kreminskaja V.M., Klebanova E.M. *Reference book of the polyclinic doctor. Endocrinology [Spravochnik polyklinicheskogo vracha. Endokrinologija]*. M. Medicine; 2005. (in Russian)
2. Amelyushkina V.A., Aripovsky A.V., Titov V.N. Fatty acids in blood plasma and erythrocytes in the glucose tolerance test. *Clinicheskaja laboratornaja diagnostica*. 2014; 4: 3-11. (in Russian)
3. Zhao X., Andreas P., Fritsche J., Elcnerova M., Fritsche A., Haring H. et al. Changes of the plasma metabolome during an oral glucose tolerance test: is there more than glucose to look at? *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009; 296: 284-93.
4. Breda E., Cavaghan M.K., Toffolo G. Oral Glucose Tolerance Test Minimal Model Indexes of β -Cell Function and Insulin Sensitivity. *Diabetes*. 2001; 50: 150-8.
5. Nakamura H., Faludi G., Spitzer J.J. Changes of individual free fatty acids during glucose tolerance test. *Diabetes*. 1967; 16: 175-80.
6. Kusunoki M., Tsutsumi K., Nakayama M. et al. Relationship between serum concentrations of saturated fatty acids and unsaturated fatty acids and the homeostasis model insulin resistance index in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Med. Invest.* 2007; 54: 243-7.
7. Titov V.N. *Phylogenetic theory of the general pathology. Pathogenesis of metabolic pandemics. Diabetes [Filogeneticheskaja teorija obzhshej patologii. Patogenes metabolicheskich pandemij. Sacarnij diabet]*. M: Infra-M; 2014. (in Russian)
8. Titov V.N., Lisitsyn D.M. The content of cholesterol and glycerin in blood plasma depends on number of double bonds of fatty acids in a bullet of lipoprotein lipids. *Byulleten experimentalnoj biologii i meditsiny*. 2006; 11: 521-4. (in Russian)
9. Aripovsky A.V., Kolesnik P.O., Vezhdel M.I., Titov V.N. Method of test preparation for gasochromatografic definition of fatty acids without preliminary extraction of lipids. *Clinicheskaja laboratornaja diagnostica*. 2012; 1: 3-6. (in Russian)
10. Rasumovskiy S.D., Zaikov G.E. *Ozone and its reactions with organic compounds [Ozon i ego reaktsii s organicheskimi soedinenijami]*. M: Nauka; 1974. (in Russian)
11. Gagarina A.B., Evteeva N.M. Kinetic regularities of an expenditure of nonsaturated bonds in during of beta carotene oxidation. *Khimicheskaja fizika*. 2002; 22 (7): 41-9. (in Russian)
12. Derffel' K. *Statistics in analytical chemistry [Statistika v analiticheskoy khimii]*. M: Mir; 1994. (in Russian)

Сведения об авторах:

Титов Владимир Николаевич, доктор мед. наук, проф., руководитель лаборатории клинической биохимии липопротеинов; e-mail: vn_titov@mail.ru

Сажина Наталья Николаевна, канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр., e-mail: Natnik48s@yandex.ru

Евтеева Нина Михайловна, канд. хим. наук, ст. науч. сотр., e-mail: ninaevt@mail.ru

Ариповский Александр Викторович, канд. хим. наук, вед. науч. сотр., e-mail: aripovsky@rambler.ru