

**О. В. Петренко<sup>1</sup>, Л. В. Натрус<sup>2</sup>, К. К. Таварткиладзе<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України  
– м. Київ, Україна,

<sup>2</sup> Науково-дослідний інститут експериментальної та клінічної медицини  
Національного медичного університету імені О. О. Богомольця  
– м. Київ, Україна

УДК 617.735–02:616.379–008.64:577.115.3

## ОСОБЛИВОСТІ ВМІСТУ ЖИРНИХ КИСЛОТ У КЛІТИНАХ КРОВІ ХВОРИХ НА ДІАБЕТИЧНУ РЕТИНОПАТІЮ

Проблема розробки ефективних схем лікування ретинопатії при цукровому діабеті (ЦД) і на сьогодні залишається актуальною та включає вивчення гемореологічних розладів при ЦД 2-го типу. На структуру і фізичні властивості клітинних мембран істотний вплив має обмін жирних кислот (ЖК).

**Мета роботи** – порівняти вміст ЖК у клітинах крові пацієнтів, хворих на ДР, та визначити найбільш інформативну модель дослідження структурних особливостей клітин організму за умов порушень ліпідного метаболізму.

**Матеріали та методи.** Було досліджено плазму крові, лейкоцити, багату тромбоцитами плазму та відмиті еритроцити 16 пацієнтів офтальмологічного відділення (співвідношення жінок та чоловіків 8:8), середній вік яких складав  $56,9 \pm 9,2$  року і в яких було діагностовано ДР (одного або обох очей) у проліферативній стадії. Середній термін діагностування ЦД 2-го типу в групі складав  $16,6 \pm 3,7$  року, рівень глюкози крові на момент обстеження –  $11,55 \pm 1,09$  ммоль/л. Для порівняння вивчалися показники здорових донорів, співставних за віком та статтю, у яких рівень глюкози венозної крові натще складав  $4,57 \pm 1,9$  ммоль/л. Дослідження складу ЖК проводилося методом газової хроматографії. У групу хворих для даного дослідження були відібрані пацієнти, у яких похибка відхилення вмісту ЖК в субстратах не перевищувала  $\pm 10\%$ .

**Результати та їх обговорення.** Аналіз вмісту та спектра ЖК показав суттєву різницю в еритроцитах та тромбоцитах у пацієнтів, хворих на ДР, у порівнянні з групою здорових донорів. Обчислення коефіцієнта рангової кореляції Спірмена виявили високу кореляцію показників еритроцитів у здорових донорів –  $r=0,97$  ( $p<0,001$ ).

Оскільки концентрація та вміст ЖК у плазмі крові хворих із метаболічними зрушеннями зазнає постійних коливань і вивчення спектра ЖК у плазмі утруднює інтерпретацію даних, більш доцільним є вивчення ЖК у складі клітинних мембран. Проведено вимірювання вмісту ЖК у різних клітинах крові здорових донорів для визначення найбільш інформативного середовища аналізу обміну ЖК в організмі. Методичні особливості взяття субстрату виявили, що максимально ізольовану від плазми мембрану клітини можливо отримати тільки у еритроцитів.

Однією із суттєвих ознак порушення обміну ЖК у хворих на ДР виявилось зменшення арахідонової ЖК в еритроцитах та тромбоцитах. Оскільки арахідонова ЖК міститься в тромбоцитах у великій кількості і виконує одну з найважливіших функцій тромбоцитів при їх активації, вивчення процесів і механізмів зміни структури мембрани, які супроводжуються коливанням арахідонової ЖК, недоцільно проводити на тромбоцитах, оскільки збіг механізмів ушкодження також може завадити інтерпретації результатів.

**Висновки.** Ми вважаємо, що серед усіх складових крові для вивчення обміну ЖК найбільш методично обґрунтованим є вивчення ЖК у складі мембран еритроцитів.

**Ключові слова:** еритроцити, тромбоцити, жирні кислоти, плазма, діабетична ретинопатія.

Хронічна гіперглікемія, що розвивається при цукровому діабеті (ЦД), супроводжується розвитком ускладнень з боку багатьох органів та систем, в тому числі і органа зору. За даними ВООЗ, діабетична ретинопатія (ДР) у хворих на ЦД 2-го типу розвивається, в середньому, через 5–7 років від початку захворювання і залишається одним з найбільш частих прогностично несприятливих проявів універсальної діабетичної мікроангіопатії, що в 75 % випадків призводить до сліпоты [1, 2].

Проблема розробки ефективних схем лікування ретинопатії при ЦД залишається актуальною, а тому стає доцільним вивчення так званих «не судинних» механізмів [3]. З цього боку цікавими є дослідження гемореологічних розладів при ЦД 2-го типу.

У хворих на ЦД через потовщення базальної мембрани ендотелію зменшуються діаметри капілярів, у першу чергу – очей і нирок. Такі зміни структури викликають збільшення капілярного опору току рідини, що призводить до порушення мікроциркуляції. Young I. та співавтори (2008) зробили огляд літератури з метою привернути увагу до зміни в'язкості крові у хворих на ЦД [4], що, в свою чергу, може пояснюватися підвищенням агрегації клітин крові та зниженням деформованості еритроцитів. Крім того, при ЦД було виявлено збільшення проникності стінки капілярів, що сприяє виходу плазми за межі судинного русла, збільшує в'язкість крові і відображується підвищенням гематокриту. Автори підкреслюють, що при ЦД через збільшення рівня цукру збільшується осмолярність крові, що на тлі збільшення капілярної проникності і збільшення гематокриту також підвищує в'язкість крові. Такі зміни реології крові можуть прискорити основні судинні ускладнення, пов'язані з діабетом 2-го типу, і це вимагає подальшого вивчення [4].

У свою чергу, зміни структури еритроцитів викликають їхні функціональні обмеження, що призводить до посилення гіпоксії. Тому вивчення еритроцитів людини набуває особливої важливості при дослідженні патогенетичних механізмів, пейсмейкером яких є зменшення тканинного дихання і газообміну.

У експерименті на щурах за умов гострої гіпоксії описані зміни кількості еритроцитів, гемоглобіну, еритроцитарних індексів. Ці зміни обумовлені мембранодеструктивними процесами в клітинах, зменшенням їх абсолютного числа внаслідок гемолізу, а також змінами гематокриту за рахунок перерозподілу крові. В той же час підкреслено, що реакція еритроцитів на гіпоксію недостатньо вивчена [5].

Спроможність еритроцитів до деформації та еластичність мембрани вважається одним із важливих факторів, котрі обумовлюють їхні функціональні властивості і забезпечують проходження через капіляри мікроциркуляторного русла для ефективного газообміну [6–9]. Таким чином, еритроцити сьогодні є до-

сить популярним об'єктом вивчення механізмів, що визначають розвиток патогенетичних ланок, в основі яких лежить гіпоксія. При цьому не важливо, якими були пускові механізми і чи була гіпоксія ендегенною або екзогенною: метаболічні зсуви і процеси ушкодження тканин в умовах нестачі кисню стереотипні.

Ліпідний склад еритроцита представлений: фосфоліпідами – 36,3 %, сфінгомієлінами – 29,6 %, холестерином – 22,2 %, гліколіпідами – 11,9 %. Тому на структуру і фізичні властивості мембран еритроцитів істотний вплив має обмін жирних кислот (ЖК). Взагалі, роль ЖК в організмі неможливо переоцінити. Вони модулюють активність ферментів, транспортів та мембранних рецепторів (рецепторів ліпопротеїдів, інсуліну, антитіл, нейромедіаторів, рецептори для лікарських засобів тощо [10]. Основні насичені ЖК: стеаринова, пальмітинова, маргарінова визначають щільність і міцність структури, а ненасичені: олеїнова, лінолева, ліноленова, які мають особливу конформацію молекули, – надають мембрані гнучкість, що визначає пластичність апікального краю клітини або клітини в цілому [11].

При гіперглікемії склад ЖК у тканинах змінюється, оскільки в клітинах припиняється синтез вищих ЖК і включається їхнє окислення. ЖК стають для клітин основним енергетичним паливом [12, 13]. В умовах інтенсифікації окисного стресу та утворення вільних радикалів (ВР) кисню, мембрани клітин перетворюються на мішені ВР, а першими об'єктами дезорганізації стають їхні ліпіди – жирні кислоти [14].

**Мета роботи** – порівняти вміст ЖК у клітинах крові пацієнтів з ДР і визначити найбільш інформативну модель дослідження структурних особливостей клітин організму за умов порушень ліпідного метаболізму.

**Матеріали та методи.** У дослідженні ми використовували венозну кров 16 пацієнтів офтальмологічного відділення (співвідношення жінок та чоловіків 8:8), середній вік яких складав  $56,9 \pm 9,2$  року і у яких було діагностовано ДР (одного або обох очей), проліферативна стадія. Середній термін діагностування ЦД 2-го типу в групі складав  $16,6 \pm 3,7$  року, рівень глюкози крові на момент обстеження –  $11,55 \pm 1,09$  ммоль/л. Для порівняння ми використовували кров 12 здорових донорів, співставних за віком ( $53,2 \pm 4,57$  року) та статтю, у яких рівень глюкози венозної крові натще складав  $4,57 \pm 1,9$  ммоль/л.

Для дослідження відбирали лейкоцити, багату тромбоцитами плазму та відмиті еритроцити. Венозну кров набирали у пацієнтів натще із ліктьової вени в пластикові пробірки «Гранум» (Україна), що містять розчин цитрату натрію 5,5 водного 3,8 % у співвідношенні кров : антикоагулянт – 9 : 1.

Для отримання багатої тромбоцитами плазми (дослідження *тромбоцитів*) кров центрифугували 5 хви-

лин при швидкості обертання ротора 2000 об./хв., відбирали надосадкову рідину в окрему пробірку. Надалі кров центрифугували 20 хвилин при швидкості обертання ротора 3000 об./хв. і відбирали верхній шар рідини для дослідження *плазми*, бідної тромбоцитами. Потім окремо відбирали тонкий надосадковий шар, який містив *лейкоцити* крові. В пробірку з осадом доверху доливали 0,9 % розчин натрію хлориду, перемішували її вміст і центрифугували протягом 5 хвилин при швидкості обертання ротора 1500 об./хв. Надосад зливали, і процедуру повторювали двічі. Відмиті *еритроцити* із осаду використовували для дослідження.

Дослідження складу ЖК проводили методом газової хроматографії в лабораторії експериментальних досліджень НДІ ЕКМ НМУ імені О. О. Богомольця. Досліджувану рідину поміщали в мірну пробірку об'ємом 10 мл із притертою пробкою та заливали хлороформ-метаноловою сумішшю (у співвідношенні 2:1) на основі методу Фолча і витримували протягом 30 хв. у холодильнику. Піпеткою Пастера відбирали нижню хлороформну фазу, етап екстракції повторювали двічі. Об'єднані хлороформні екстракти концентрували випаровуванням до об'єму однієї краплі під струменем газоподібного азоту за температури 45°C на водяній бані. До сухого осаду ліпідів додавали 5 мл 1 % розчину сірчаної кислоти  $H_2SO_4$  у метанолі та переносили розчин у скляну ампулу ємністю 15 мл. Після запаювання ампули проводили гідроліз та метилування (на основі методу Синяка) у термостаті при температурі 85°C протягом 20 хвилин. Екстракцію етильованих ЖК проводили двічі гексан-ефірною сумішшю (у співвідношенні 1:1) у кількості 5 мл. Для розподілу фаз додавали 1 мл дистильованої води. Верхню фазу відбирали піпеткою Пастера. Об'єднані екстракти випарювали досуха в потоці газоподібного азоту при температурі 45°C на водяній бані. Сухий осад розчиняли в 40–50 мкл чистого гексану та вносили у випаровувач хроматографа в кількості 5 мкл. Газохроматографічний аналіз спектра ЖК ліпідів здійснювали на газовому хроматографі «Цвет-500» (Росія) з полум'яно-іонізаційним детектором в ізотермічному режимі за таких умов: скляна колонка (розміром 3 м × 0,3 см), заповнена фазою 5 % поліетиленгліколю сукцинату на хроматоні N-AW-NMDS (зернистість – 0,125–0,160 мм), температура колонки +180°C, температура випаровувача +250°C, витрати азоту та водню – 35 мл/хв., повітря – 300 мл/хв., швидкість діаграмної стрічки – 200 мм/год., чутливість шкали –  $10^{-9}$  А, об'єм внесеної проби – 5 мкл, тривалість аналізу – 20 хв. Ідентифікували ЖК за піками на газовому хроматографі, порівнюючи час їх утримання з часом утримання піків стандартних чистих речовин з відомим якісним та кількісним складом. Кількісну оцінку спектра ЖК проводили методом нормування площин піків метильованих похідних ЖК та визначали їхній склад у відсотках. У вибірку, що склала групу

хворих для даного дослідження, були відібрані пацієнти, у яких похибка відхилення вмісту ЖК в субстратах не перевищувала  $\pm 10$  %.

У спектрі ЖК ліпідів плазми та клітин крові було ідентифіковано 9 найінформативніших ЖК: із них міристинова  $C_{14:0}$ , пентадеканова  $C_{15:0}$ , пальмітинова  $C_{16:0}$ , маргарінова  $C_{17:0}$ , стеаринова  $C_{18:0}$ , що складають суму насичених жирних кислот (НЖК), а також олеїнова  $C_{18:1}$ , лінолева  $C_{18:2}$ , ліноленова  $C_{18:3}$ , арахідонова  $C_{20:4}$ , що складають групу ненасичених жирних кислот (ННЖК). Лінолева  $C_{18:2}$ , ліноленова  $C_{18:3}$ , арахідонова  $C_{20:4}$  ЖК входять до суми поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) і визначаються як незамінні.

Отримані результати представлено у вигляді середньоарифметичного (М) і стандартної похибки (m) з урахуванням кількісної вибірки (n). Отримані результати обробляли за допомогою t-критерію Стьюдента. Відмінності вважали достовірними при  $p < 0,05$ . Для статистичного вивчення зв'язку між явищами ми використовували непараметричний метод порівняння і обчислювали коефіцієнт рангової кореляції Спірмена за допомогою статистичної програми «MedCalc».

**Результати та їх обговорення.** Аналіз вмісту та спектра ЖК у пацієнтів з ДР показав суттєву різницю в еритроцитах та тромбоцитах (табл. 1). В еритроцитах співвідношення насичених, ненасичених ЖК та долі ПНЖК у хворих на ДР достовірно змінилося у порівнянні із групою здорових донорів за рахунок підвищення в 1,2 разу вмісту насичених і зниження в 1,2 разу вмісту ПНЖК. У тромбоцитах співвідношення насичених, ненасичених ЖК та долі ПНЖК у хворих на ДР практично не змінилося у порівнянні з групою здорових донорів, але виявлялося недостовірне збільшення долі ПНЖК.

В еритроцитах вміст насичених ЖК у пацієнтів, хворих на ДР, змінювався у порівнянні із здоровими особами за рахунок пропорційного, але недостовірного збільшення: міристинової, пентадеканової та маргарінової ЖК. А також достовірного збільшення в 1,4 разу пальмітинової ЖК і зменшення в 1,5 разу стеаринової. В тромбоцитах картина була інакшою. В 6 разів збільшився вміст міристинової ЖК, з'явилися в складі тромбоцитів пентадеканова та маргарінова ЖК, підвищився в 1,2 разу вміст пальмітинової, але в 2 рази зменшився вміст стеаринової ЖК.

Аналіз ненасичених ЖК показав схожі за характеристиками, але різні за ступенем коливання вмісту ЖК в еритроцитах та тромбоцитах у пацієнтів, хворих на ДР, у порівнянні із здоровими донорами (табл. 1). У хворих вміст лінолевої ЖК в еритроцитах збільшився в 1,4 разу, а в тромбоцитах – в 2,3 разу, зменшення арахідонової ЖК виявилось в еритроцитах в 3,7 разу, а в тромбоцитах – в 3,4 разу.

Результати кореляційного аналізу показників проводили шляхом обчислення коефіцієнта рангової

Таблиця 1

## Вміст (%) жирних кислот у еритроцитах і тромбоцитах здорових донорів та хворих на ДР (M±m)

Жирна кислота	Еритроцити здорових донорів (n=12)	Еритроцити хворих на ДР (n=16)	Тромбоцити здорових донорів (n=12)	Тромбоцити хворих на ДР (n=16)
C14:0 Міристинова	0,3±0,1	0,53±0,1	1,1±0,3	6,58±0,3*
C15:0 Пентадеканова	0,5±0,1	0,53±0,1	–	0,58±0,1*
C16:0 Пальмітинова	31,6±1,5	44,09±1,5*	27,1±1,5	32,84±1,5*
C17:0 Маргарінова	0,3±0,1	0,5±0,1	–	0,54±0,1*
C18:0 Стеаринова	17,6±1,0	11,83±1,0*	24,4±1,3	11,18±1,0*
C18:1 Олеїнова	20,6±1,1	17,99±1,5	20,2±1,2	17,26±1,3
C18:2 Лінолева	14,6±1,0	20,33±1,3*	10,7±0,6	25,61±1,5*
C18:3 Ліноленова	0,6±0,1	0,53±0,1	–	0,55±0,1*
C20:4 Арахідонова	13,9±1,0	3,7±0,5*	16,5±1,1	4,86±0,5*
∑ насичених	50,3±1,5	59,8±1,6*	52,6±1,6	51,72±1,8
∑ ненасичених	49,7±1,5	40,2±1,6*	47,4±1,6	48,28±1,8
∑ ПНЖК	29,1±1,3	23,9±1,3*	27,2±1,5	31,02±1,6
		r=0,97		r=0,92

Примітки: \* – статистично достовірна різниця порівняно з відповідним показником здорових донорів (p<0,05);

∑ ПНЖК – сума поліненасичених жирних кислот;

r – коефіцієнт рангової кореляції показників пацієнтів з ДР із здоровими донорами (p<0,001)

Таблиця 2

## Вміст (%) жирних кислот у різних клітинах крові та плазмі здорових донорів (n=12) (M±m)

Жирна кислота	Еритроцити	Тромбоцити	Лейкоцити	Плазма
C14:0 Міристинова	0,3±0,1	1,1±0,3	–	1,7±0,3
C15:0 Пентадеканова	0,5±0,1	–	–	0,5±0,1
C16:0 Пальмітинова	31,6±1,5	27,1±1,5	31,8±1,5	32,6±1,5
C17:0 Маргарінова	0,3±0,1	–	–	0,5±1,5
C18:0 Стеаринова	17,6±1,0	24,4±1,3	24,4±1,2	16,8±1,0
C18:1 Олеїнова	20,6±1,1	20,2±1,2	20,1±1,0	15,5±1,0
C18:2 Лінолева	14,6±1,0	10,7±0,6	12,6±0,8	25,7±1,5
C18:3 Ліноленова	0,6±0,1	–	–	0,9±0,1
C20:4 Арахідонова	13,9±1,0	16,5±1,1	11,1±1,0	5,8±0,8
∑ насичених	50,3±1,5	52,6±1,6	56,2±1,8	52,1±2,0
∑ ненасичених	49,7±1,5	47,4±1,6	43,8±1,8	47,9±2,0
∑ ПНЖК	29,1±1,3	27,2±1,5	23,7±1,5	32,4±1,8
	r=0,939	r=0,945	r=0,948	

Примітка: r – коефіцієнт рангової кореляції із показниками в плазмі (p<0,001)

кореляції Спірмена. При порівнянні показників ЖК еритроцитів пацієнтів, хворих на ДР, та здорових донорів виявили r=0,97 (p<0,001); порівняння показників ЖК тромбоцитів пацієнтів, хворих на ДР, та здорових донорів – r=0,92 (p<0,001).

Надалі ми провели вимірювання вмісту ЖК в різних клітинах крові здорових донорів для визначення найбільш інформативного середовища аналізу обміну ЖК в організмі (табл. 2). Виявили наявність слідових насичених ЖК та ліноленової ЖК в плазмі та еритроцитах і їх відсутність в тромбоцитах та лейкоцитах. У тромбоцитах була виявлена тільки міристинова ЖК. Пальмітинова ЖК практично вдвічі переважала стеаринову ЖК в плазмі та еритроцитах і значно менше переважала в тромбоцитах та лейкоцитах. Решті клітин був притаманний висо-

кий вміст стеаринової ЖК. Вміст арахідонової ЖК суттєво відрізнявся в усіх обстежених субстратах. У найменшій кількості арахідонова ЖК була виявлена в плазмі (5,8 %). В тромбоцитах її вміст був 16,5 %, що в 2,8 разу більше ніж в плазмі. В еритроцитах та лейкоцитах вміст арахідонової ЖК складав 13,9 % та 11,1 %, що більше ніж в плазмі в 2,3 та 1,9 разу відповідно. Вміст насичених та ненасичених ЖК в плазмі та тромбоцитах був практично однаковим, але в плазмі вміст ПНЖК був найвищим за всі середовища (32,4 %) за рахунок лінолевої ЖК. В лейкоцитах переважали насичені ЖК (за рахунок високого вмісту пальмітинової та стеаринової ЖК), а вміст ПНЖК був найнижчим.

Обчислення кореляції між вмістом ЖК в клітинах крові здорових донорів у порівнянні із плазмою крові

хворих на ДР показав, що коефіцієнт рангової кореляції між еритроцитами та плазмою складає  $r=0,939$  ( $p<0,001$ ), між тромбоцитами та плазмою –  $r=0,945$  ( $p<0,001$ ), між лейкоцитами та плазмою –  $r=0,948$  ( $p<0,001$ ), що визначається як дуже міцний кореляційний зв'язок.

Плазма для ЖК – це транспортне середовище, яке вміщує сумарну кількість та різноманіття ЖК. Вважається, що у здорової людини обмін ЖК врегульований і їхня концентрація в плазмі є сталою. Методика визначення вмісту ЖК не дає можливості відокремити ЖК плазми за напрямом транспорту: ЖК, що надходять із еритроцитів кишечника після їжі; ЖК, що вийшли із адипоцитів під впливом гуморального сигналу; ЖК, що йдуть із гепатоцитів після використання та перерозподілу [15]. Ми вважаємо, що концентрація та вміст ЖК в плазмі хворих із метаболічними зрушеннями зазнає постійних коливань, і вивчення спектру ЖК в плазмі утруднює інтерпретацію даних. Тому, на наш погляд, більш доцільним є вивчення ЖК у складі клітинних мембран.

Мембрани клітин крові відносяться до структур організму, в які легко вбудовуються гідрофільні ЖК при адгезії на поверхні. При збільшенні ЖК в крові (при порушенні їх обміну) підвищується пасивний шлях входу ЖК в клітину за рахунок дифузії, і першими це відчувають мембрани клітин крові. За вмістом ЖК ми виявили високу кореляцію між усіма клітинами крові та плазмою. Вважаємо, що особливості обміну речовин, в тому числі ліпідів та їх складових – ЖК, відображаються на всіх середовищах, які ми аналізували, оскільки певний час клітини перебувають у плазмі крові, де проходить цей обмін. Найвищу кореляцію між вмістом ЖК плазми ми виявили у тромбоцитів і лейкоцитів. Менша вона була у еритроцитів. Ми вважаємо це відображенням методичних особливостей взяття субстрату. Отримання «відмитих» від плазми клітин було виконано при вилученні еритроцитів, а значна доля плазми у субстраті тромбоцитів та лейкоцитів і призвела до високої кореляції жирно-кислотного складу. Тому для дослідження мембрани клітини, ізольованої від плазми, доцільно використовувати еритроцити.

Проведено дослідження ліпідного обміну за умов ЦД з урахуванням змін у складі крові ліпопротеїдів та ЖК [16]. Порівняльна характеристика складу ЖК при ЦД 2-го типу показала відсутність прямої кореляції спектра ЖК в плазмі крові та в еритроцитах. Автори підкреслюють, що існує кореляція між змінами властивостей мембран еритроцитів і клітинних мембран внутрішніх органів, що дає підставу використовувати еритроцитарні мембрани як природну модель для дослідження загальних характеристик усіх біомембран та загальних характеристик метаболізму мембранних ліпідів [16]. При цьому автор не вказує

метод обчислення кореляції, вірогідно посилаючись на візуальне порівняння.

Koehrer P. та співавтори (2014) досліджували потенційні зміни в метаболізмі фосфоліпідів, в тому числі ПНЖК, у людей на різних стадіях діабетичної ретинопатії [17]. Автори висловлюють думку, що біохімічні зміни в еритроцитах грають ключову роль у патофізіології діабету, оскільки вони змінюють проникність і властивості мембран у хворих на ЦД. Прямий наслідок цього – погіршення кровотоку в мікрокапілярах.

Однією із суттєвих ознак порушення обміну ЖК у хворих на ДР ми виявили зменшення арахідонової ЖК. Такі зміни відобразилися в більшості на еритроцитах та тромбоцитах. У дослідженні також описано у хворих на ЦД з ретинопатією [17] значне зниження в еритроцитах рівнів арахідонової ЖК, що було збалансовано підвищенням рівня насичених і мононенасичених ЖК.

### Висновки

Відомо, що арахідонова ЖК міститься в тромбоцитах у великій кількості і виконує одну з найважливіших функцій тромбоцитів при їх активації. При ініціації тромбогенезу арахідонова ЖК перетворюється на простагландини та тромбоксани, які сумісно з АДФ і фактором активації тромбоцитів забезпечують незворотну агрегацію тромбоцитів. На нашу думку, вивчення процесів і механізмів зміни структури мембрани, які супроводжуються коливанням арахідонової ЖК, недоцільно проводити на тромбоцитах, оскільки збіг механізмів ушкодження також може завадити інтерпретації результатів.

Таким чином, ми вважаємо обґрунтованим методичним підходом вивчення вмісту ЖК в складі мембран еритроцитів. Оскільки при розвитку ДР тригером ушкодження є тканинна гіпоксія, доцільним є подальший аналіз структурно-функціональних особливостей цих клітин.

### Література

1. Сайт Міністерства охорони здоров'я України [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [www.moz.gov.ua](http://www.moz.gov.ua).
2. Cheung N. Diabetic retinopathy / N. Cheung, P. Mitchell, T. Y. Wong // *Lancet*. – 2010. – Vol. 376, № 9735. – P. 124–136.
3. Peduzzi M. Comparative evaluation of blood viscosity in diabetic retinopathy / M. Peduzzi, M. Melli, S. Fonda [et al.] // *Int Ophthalmol*. – 1984. – Vol. 1, № 7 – P. 15–19.
4. Cho Y. I. Hemoreological Disorders in Diabetes Mellitus / Y. I. Cho, M. P. Mooney, D. J. Cho // *J Diabetes Sci Technol*. – 2008. – Vol. 2, № 6, – P. 1130–1138.

5. Хайбуллина З. Р. Состояние периферической крови при острой гипоксии в эксперименте / З. Р. Хайбуллина, Н. Т. Вахидова // Медицина: вызовы сегодняшнего дня: материалы междунар. науч. конф. – Челябинск, 2012. – С. 24–29.
6. Seki R. Impaired filterability of erythrocytes from patients with chronic hepatitis C and effects of eicosapentaenoic acid on the filterability / R. Seki, T. Okamura, T. Ide [et al.] // J. Physiol. Sci. – 2007. – Vol. 57, № 1. – P. 43–49.
7. Зинчук В. В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты / В. В. Зинчук // Усп. физиол. наук. – 2001. – Т. 32 (3). – С. 66–78.
8. Бобынцева О. В. Количественное содержание липидов и белков клеточных мембран эритроцитов и их корреляционные взаимосвязи у человека: дис. ... канд. биол. наук: спец. 03.00.04. «Биохимия» / О. В. Бобынцева. – Курск, 2006. – 163 с.
9. Горис А. П. Морфофункциональные особенности эритроцитов у лиц различных возрастных групп: автореф. дис. ... канд. биол. наук: спец. 03.03.01 «Физиология» / А. П. Горис. – Ульяновск, 2012. – 16 с.
10. Hussein J. S. Cell membrane fatty acids and health / J. S. Hussein // Int. J. Pharm. Sci. – 2013. – Vol. 5, № 3. – P. 38–46.
11. Cooper G. M. The cell. A molecular approach / G. M. Cooper // Sunderland: Boston Univ. – 2000. – Vol. 2<sup>nd</sup> ed. – P. 739.
12. Lombardo Y. B. Effects of dietary polyunsaturated n–3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review / Y. B. Lombardo, A. G. Chicco // J. Nutr. Biochem. – 2006. – Vol. 17, № 1. – P. 1–13.
13. Dey D. Fatty acid represses insulin receptor gene expression by impairing HMGAl through protein kinase Cepsilon / D. Dey, A. Bhattacharya, S. Roy, S. Bhattacharya // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2007. – Vol. 357, № 2. – P. 474–479.
14. Enriquez Y. R. Fatty acid composition of erythrocyte phospholipids is related to insulin levels, secretion and resistance in obese type 2 diabetics on Metformin / Y. R. Enriquez, M. Giri, R. Rottiers, A. Christophe // Clin. Chim. Acta. – 2004. – Vol. 346, № 2. – P. 145–152.
15. Біохімія: підручник / за загальною редакцією проф. А. Л. Загайка, проф. К. В. Александрової – Х.: Вид-во «Форт», 2014. – 728 с.
16. Нгуен З. Х. Липидный обмен при сахарном диабете и его осложнениях (экспериментально-клиническое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук: спец. 03.01.04 «Биологическая химия», 14.03.03 «Патологическая физиология» / З. Х. Нгуен – М., 2015. – 25 с.
17. Koehrer P. Erythrocyte Phospholipid and Polyunsaturated Fatty Acid Composition in Diabetic Retinopathy / P. Koehrer, S. Saab, O. Berdeaux [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9 (9). – e106912. – DOI: 10.1371/journal.pone.0106912.

## ОСОБЕННОСТИ СОДЕРЖАНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В КЛЕТКАХ КРОВИ БОЛЬНЫХ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ

*О. В. Петренко, Л. В. Натрус, К. К. Таварткиладзе*

Проблема разработки эффективных схем лечения ретинопатии при СД остается актуальной и до сегодня и включает изучение гемореологических расстройств при СД 2-го типа. На структуру и физические свойства клеточных мембран существенное влияние оказывает обмен жирных кислот (ЖК).

**Цель работы:** сравнить содержание ЖК в клетках крови пациентов с ДР и определить наиболее информативную модель исследования структурных особенностей клеток организма в условиях нарушений липидного метаболизма.

**Материалы и методы.** Исследовались плазма крови, лейкоциты, богатая тромбоцитами плазма и отмытые эритроциты 16 пациентов офтальмологического отделения (соотношение женщин и мужчин 8:8), средний возраст которых составлял  $56,9 \pm 9,2$  года и у которых была диагностирована ДР (одного или обоих глаз), пролиферативная стадия. Средняя продолжительность СД 2-го типа в группе составляла  $16,6 \pm 3,7$  года, уровень глюкозы крови на момент обследования –  $11,55 \pm 1,09$  ммоль/л. Для сравнения изучали показатели здоровых доноров, сопоставимых по возрасту и полу, у которых уровень глюкозы венозной крови натощак составлял  $4,57 \pm 1,9$  ммоль/л. Исследование состава ЖК проводили методом газовой хроматографии. В выборку, которая составила группу больных с ДР, для данного исследования были отобраны пациенты, у которых погрешность отклонения содержания ЖК в субстратах не превышала  $\pm 10\%$ .

**Результаты и их обсуждение.** Анализ содержания и спектра ЖК показал существенную разницу в эритроцитах и тромбоцитах у пациентов с ДР по сравнению с группой здоровых доноров. Вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена обнаружили высокую корреляцию показателей эритроцитов у пациентов с ДР и здоровых доноров –  $r=0,97$  ( $p<0,001$ ).

Поскольку концентрация и содержание ЖК в плазме больных с метаболическими сдвигами подвергается постоянным колебаниям и изучение спектра ЖК в плазме усложняет интерпретацию данных, более целе-

сообразным является изучение ЖК в составе клеточных мембран. Проведены измерения содержания ЖК в разных клетках крови здоровых доноров для определения наиболее информативной среды для анализа обмена ЖК в организме. Методические особенности взятия субстрата показали, что максимально изолированную от плазмы мембрану клетки можно получить только в эритроцитах.

Одним из существенных признаков нарушения обмена ЖК у больных ДР было обнаружено уменьшение арахидоновой ЖК в эритроцитах и тромбоцитах. Поскольку арахидоновая ЖК в большом количестве содержится в тромбоцитах и выполняет одну из самых важных функций тромбоцитов при их активации, изучение процессов и механизмов изменения структуры мембраны, сопровождающихся колебаниями арахидоновой ЖК, нецелесообразно проводить на тромбоцитах, поскольку интерференция механизмов повреждения может помешать интерпретации результатов.

**Выводы.** Мы считаем, что среди всех составных крови для изучения обмена ЖК наиболее методически обоснованным является изучение ЖК в составе мембран эритроцитов.

**Ключевые слова:** эритроциты, тромбоциты, жирные кислоты, плазма, диабетическая ретинопатия.

## FEATURES OF BLOOD CELLS' FATTY ACIDS CONTENT IN PATIENTS WITH DIABETIC RETINOPATHY

*O. V. Petrenko<sup>1</sup>, L. V. Natrus<sup>2</sup>, K. K. Tavartkiladze<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> National Medical Academy of Postgraduate Education named after P. L. Shupyk  
of the Ministry of Public Health of Ukraine  
*Kyiv, Ukraine,*

<sup>2</sup> Research Institute of Experimental and Clinical Medicine  
of National Medical University named after O. O. Bogomolets  
*Kyiv, Ukraine*

The problem of developing effective regimens for the treatment of diabetes retinopathy (DR) continues to be relevant and includes the study of hemorheological disorders in type 2 diabetes. The metabolism of fatty acids (FA) has a significant effect on the structure and physical properties of cell membranes (LC).

**The goal is** to compare the FA composition in the blood cells of patients with DR, and to determine the most informative model for studying the structural features of the body cells during lipid metabolism disorders.

**Materials and methods.** Blood plasma, leukocytes, platelet-rich plasma and erythrocytes were investigated in 16 patients of the ophthalmological department (the ratio of women and men 8/8), whose average age was 56.9±9.2 years and who had been diagnosed with proliferative stage DR (one or both eyes).

The average duration of type 2 diabetes in this group was 16.6±3.7 years, the blood glucose level at the study moment was 11.55±1.09 mmol/l. The indices with regard to age and sex of healthy donors were studied for comparison; the level of glucose of venous blood in them was 4.57±1.9 mmol/l. The FA composition was studied by gas chromatography. Patients were selected with an error of deviation of the FA content in substrates no more than ±10 %. They made up a group of patients with DR for this study.

**Results and discussion.** Analysis of the FA content and spectrum showed a significant difference in erythrocytes and platelets in patients with DR compared with a group of healthy donors. Calculations of the Spearman rank correlation coefficient found a high correlation of erythrocyte and healthy donor indices  $r=0.97$  ( $p<0.001$ ).

The FA concentration and content in the patients with metabolic shifts plasma is constantly changing, so that the study of the FA spectrum in plasma complicates the interpretation of the data. The study of FA in cell membranes is more appropriate. We measured the FA content in healthy donor's different blood cells and determined the most informative environment for the FA metabolism analysis.

The methodological features of the substrate taking showed that the cell membrane which maximally isolated from the plasma can be obtained only in erythrocytes. We found that a decrease in the arachidonic FA in erythrocytes and platelets is one of the most significant signs of impaired metabolism of FA in patients with DR.

Arachidonic acid is found in large numbers in platelets and, it performs one of the most important functions of platelets when they are activated. The study of the processes and mechanisms of changing the structure of the membrane, accompanied by fluctuations of the arachidonic FA is impractical to conduct on platelets. Mix of the pathogenetic mechanisms can influence the interpretation of the results.

**Conclusion.** We believe that the erythrocyte membranes FA study is the most methodologically correct in investigation of the LC metabolism while comparing all blood cells.

**Key words:** erythrocytes, platelets, fatty acids, plasma, diabetic retinopathy.

Стаття надійшла до редакції 29.09.2017 р.