

Микаелян Н.П., Нгуен Х.З., Микаелян А.А.

НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА ЖИРНЫХ КИСЛОТ ПРИ ОЖИРЕНИИ И САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2-ГО ТИПА У ЖЕНЩИН С ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России, 117997, Москва, Россия

Для корреспонденции: Микаелян Нина Погосовна, доктор биол.наук, профессор кафедры биохимии
лечебного факультета. E-mail: ninmik@yandex.ru

♦ Результаты исследования свидетельствуют о том, что ожирение и сахарный диабет 2-го типа (СД2) у женщин сопровождаются дислипидемией атерогенного характера с активацией процессов липидной перекисидации, а также нарушениями в системе антиоксидантной защиты. СД2, обусловленный дисбалансом в системе ПОЛ—АОА, сопровождается более высокой концентрацией перекисленных липопродуктов, снижением параметров антиоксидантных систем и утилизации глюкозы клетками. Ожирение и СД2 сопровождаются модификацией состава свободных и этерифицированных жирных кислот (ЖК) плазмы крови, что может привести к изменению функциональной активности мембран клеток, следовательно, к снижению функциональной активности инсулиновых рецепторов, инсулинозависимых транспортеров глюкозы. Полученные результаты исследования убедительно свидетельствуют о важной роли ЖК и их метаболитов в патогенезе ожирения и СД2, что необходимо учитывать при разработке и выборе соответствующих профилактических и терапевтических мероприятий, направленных на предотвращение или устранение выявленных нарушений.

Ключевые слова: жирные кислоты; сахарный диабет; ожирение; инсулинрезистентность; утилизация глюкозы; оксидативный стресс.

Для цитирования: Российский медицинский журнал. 2015; 21 (6): 28—32.

Mikaelyan N.P., Nguien Kh.Z., Mikaelyan A.A.

THE IMBALANCE OF FATTY ACIDS METABOLISM UNDER OBESITY AND DIABETES MELLITUS TYPE II IN WOMEN WITH INSULIN RESISTANCE

The N.I. Pirogov Russian national research medical university Minzdrav of Russia, 117997 Moscow, Russia

♦ The results of study testify that in women obesity and diabetes mellitus type II are accompanied by dyslipidaemia of atherogenic character with activation of processes of lipid peroxidation and disorders of system of antioxidant defense. The diabetes mellitus type II conditioned by imbalance in system POL-AOA is accompanied by higher concentration of peroxidized lipoproducs. decreasing of parameters of antioxidant systems and utilization of glucose by cells. The obesity and diabetes mellitus type II is accompanied by modification of content of free and esterified fatty acids of blood plasma. This occurrence can result in alterations of functional activity of cell membranes and therefore in decreasing of functional activity of insulin receptors and insulin-dependent glucose transporter. The results of study convincingly testify the important role of fatty acids and their metabolites in pathogenesis of obesity and diabetes mellitus type II. This is to be accounted in development and choosing of corresponding preventive and therapeutic activities targeted to prevention or elimination of detected disorders.

Keywords: fatty acids; diabetes mellitus; obesity; insulin resistance; utilization of glucose; oxidative stress.

Citation: Rossiiskii meditsinskii zhurnal. 2015; 21 (6): 28—32. (In Russ.)

For correspondence: Nina Mikaelyan, MD, PhD, DSc. E-mail: ninmik@yandex.ru

Received 16.03.15

Известно, что нарушение липолитических процессов с образованием жирных кислот (ЖК) играет важную роль в этиологии ожирения и сахарного диабета 2-го типа (СД2) [1]. Ожирение и СД2 часто встречаются вместе, что свидетельствует об общих патогенетических механизмах этих патологий. Оба эти состояния характеризуются резистентностью к инсулину и нарушением промежуточного метаболизма углеводов и липидов в тканях [2]. Известно также, что высокий уровень плазменных свободных жирных кислот (СЖК) при ожирении приводит к развитию диабета, что подтверждается экспериментальными исследованиями, указывающими на нарушение толерантности к глюкозе [3], и наличием стимулирующего воздействия СЖК на секрецию инсулина [4]. Между тем, по мнению ряда авторов, формированию резистентности к инсулину предшествует дефицит в клетках эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот (ПННЖК) [5]. Вследствие этого эндогенный недостаток в клетках ПННЖК приводит к изменению жирно-кислотного состава фосфолипидов и физико-химических свойств плазматических мембран, снижению их жидкостности, нарушению функциони-

рования рецепторов к инсулину и транспортных систем поступления в клетку глюкозы [3, 6]. Однако патогенетическая роль ЖК вследствие нарушения их транспорта, связанного с дисфункцией инсулиновых рецепторов, недостаточно изучена.

Цель исследования — изучение нарушений состава ЖК в крови у женщин с ожирением и СД2 и связи этих показателей с инсулинсвязывающей активностью клеток.

Материал и методы

У 30 женщин с СД2, у 20 здоровых (контрольная группа) и 15 женщин с ожирением проводили комплексное исследование липидного и жирно-кислотного состава плазмы крови, процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ), состояние системы антиоксидантной защиты (АОЗ), а также чувствительности клеток к инсулину. Длительность диабета у пациенток варьировала от 3 до 5 лет, при этом 10 женщин страдали СД2 менее трех лет, а 20 — более трех лет. К моменту исследования диабетические нарушения у больных СД2 были компенсированы диетой и сахароснижающими препаратами.

Таблица 1

Изменение некоторых клинико-метаболических показателей у женщин с инсулинорезистентностью при ожирении и СД2 (M ± SD)

Показатель	Контроль	Ожирение	СД2
ОХС, ммоль/л	4,53 ± 0,21	5,80 ± 0,55	5,82 ± 0,29
ТГ, ммоль/л	0,68 ± 0,05	1,71 ± 0,23*	2,93 ± 0,37*
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,43 ± 0,12	1,19 ± 0,07	1,05 ± 0,08*
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,76 ± 0,23	3,82 ± 0,44	4,30 ± 0,57*
МДА в ЛПНП, нмоль/мл	3,09 ± 0,12	4,83 ± 0,485	5,98 ± 0,58*
Гидроперекиси в ЛПНП, ммоль/мл	3,22 ± 0,59	6,11 ± 1,96*	8,41 ± 1,16*
Глюкоза/инсулин, усл. ед.	0,54 ± 0,09	4,2 ± 0,3	7,3 ± 0,4*
ИМТ, кг/м ²	21,89 ± 0,61	26,97 ± 0,84	34,37 ± 1,07
ОТ, см	72,34 ± 1,35	91,05 ± 2,34	97,34 ± 1,87
ОБ, см	98,34 ± 1,53	108,46 ± 1,92	110,38 ± 1,47*
ОТ/ОБ, усл. ед.	0,73 ± 0,01	0,84 ± 0,02	0,88 ± 8
Систолическое АД, мм рт. ст.	105 ± 2,0	117,0 ± 4,9*	156,0 ± 3,1*
Диастолическое АД, мм рт. ст.	65 ± 2,1	73,1 ± 2,6	87,2 ± 2,3
Пульс в минуту	70 ± 0,63	76,70 ± 1,01*	81,20 ± 0,87

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Общеклиническое и биохимическое обследование включало расчет индекса массы тела (ИМТ), оценку систолического и диастолического артериального давления (АД), пульса, исследование углеводного и липидного обмена, спектра ЖК, состояние инсулиновых рецепторов и баланс ПОЛ—АОА.

У пациентов определяли наличие абдоминально-висцерального ожирения, артериальной гипертензии и инсулинорезистентности/гиперинсулинемии (ИР/ГИ). Для характеристики ИР/ГИ использовали показатели базального инсулина и соотношение глюкоза/инсулин натощак. Уровень базального инсулина более 25 мкЕд/мл свидетельствовал о гиперинсулинемии. Для выявления ИР рассчитывали индекс Саго — соотношение глюкоза, мг%/инсулин натощак. Показатель глюкоза/инсулин натощак менее 6 усл. ед. свидетельствовал о наличии ИР. Значение объема талии (ОТ) более 88 см, свидетельствующее об избыточном накоплении жира в абдоминальной (подкожной и висцеральной) области, выявлено у большинства женщин с ожирением и СД2.

Об интенсивности ПОЛ в выделенных плазматических мембранах эритроцитов судили по ранее описанному нами методу [7—9], т.е. по содержанию гидроперекисей и малонового диальдегида (МДА), используя цветную реакцию с тиобарбитуровой кислотой [10]. Инсулинсвязывающую активность клеток определяли радиоиммунологическим методом [8,11,12]. Содержание общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), ХС липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови определяли на автоанализаторе Airpore 200 ферментативным методом с помощью комбинированных диагностических наборов фирмы «Bioscop» (Германия). Концентрацию ХС липопротеинов низкой и очень низкой плотности (ЛПНП и ЛПОНП) оценивали по расчетным формулам W. Friedwald (1972) и выражали в молях на 1 л. Коэффициент атерогенности определяли по формуле А.Н. Климова (1999).

Материалом для исследования служила венозная кровь, в качестве антикоагулянта использовали ЭДТА. Экстракцию липидов из сыворотки крови проводили по методу J.Folch и соавт. [13], после чего осуществляли метилирование ЖК методом Kenichi Ichihara и Yumeto Fukubayashi [14] с дальнейшим анализом на газофазном хроматографе с масс-спектрометрией ULTRA

Таблица 2

Изменение некоторых показателей антиоксидантной защиты и утилизации глюкозы эритроцитами у различных групп больных женщин (M ± SD)

Группа обследованных	АОА, %	CuZn-COD, ед/мг НВ	Каталаза, ед/мг НВ	Глутатион-пероксидаза, ед/мг НВ	Утилизация глюкозы эритроцитов, мкмоль (2 · 10 ⁹) кл/ч
Контрольная	56,7 ± 2,3	1380 ± 31	622 ± 2,8	48,6 ± 0,6	1,68 ± 0,05
Больные с ожирением	41,7 ± 2,4*	923 ± 29*	510 ± 4,3*	46,0 ± 0,6	0,93 ± 0,04*
Больные с СД2	39,9 ± 1,1*	752 ± 23*	490 ± 3,9*	40,3 ± 0,57	0,87 ± 0,03*

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Таблица 3

Уровень жирных кислот в плазме крови у больных с ожирением и СД2 по сравнению с их уровнем в контрольной группе (% от суммы жирных кислот, M ± SD)

Семейство ПНЖК	Жирные кислоты	Контрольная группа	Ожирение	СД2
ω3-ПННЖК	20:5 (ЭПК)	0,6 ± 0,12	0,45 ± 0,07	0,36 ± 0,03*
	22:6 (ДГК)	2,2 ± 0,8	2,18 ± 0,09	1,23 ± 0,23*
	ω6-ПННЖК	18:2 (линолевая кислота)	14,0 ± 3,5	11,98 ± 0,28*
20:3 (дигомо-γ-линоленовая кислота)		0,3 ± 0,05	0,88 ± 0,12	0,7 ± 0,2*
20:4 (арахидоновая кислота)		8,3 ± 1,9	6,14 ± 0,98	5,01 ± 1,1*
Σω3- ПННЖК		2,9 ± 0,1	2,73 ± 0,12	1,5 ± 0,4*
Σω6- ПННЖК		23,6 ± 3,1	19,5 ± 3,4	48,6 ± 3,2*
ω3-ПННЖК/ω6-ПННЖК, ед.		0,097	0,14	0,028
Σ НЖК		31,87 ± 3,01	35,00 ± 2,05	38,60 ± 2,20*
Σ ННЖК		68,13 ± 2,35	65,00 ± 3,21	61,2 ± 2,3*
НЖК/ННЖК, ед.		0,46 ± 0,05	0,54 ± 0,01	0,63 ± 0,02*

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, Σ — сумма.

GC-ITQ 900 (США), снабженном пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой (0,25×30 м) с привитой фазой Supercowax 10. Прибор калибровали стандартными смесями метиловых эфиров ЖК фирмы «Sigma» (США). Обсчет и идентификацию пиков проводили с помощью программно-аппаратного комплекса «Anflytica for Windows» с использованием IBM Pentium IV 1800. Определяли концентрации следующих высших ЖК: миристиновой (C14:0), пальмитиновой (C16:0), стеариновой (C18:0), пальмитолеиновой (C16:1), олеиновой (C18:1), линолевой (C18:2 ω 6), α -линоленовой (C18:3 ω 3), γ -линоленовой (C18:3 ω 6), дигомо- γ -линоленовой (C20:3 ω 6), арахидиновой (C20:4 ω 6).

Концентрацию глутатионпероксидазы (ГПО), супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КТ) определяли с помощью наборов фирмы "BioVision" (США) на иммуноферментном анализаторе Stat Fax 3200. Уровень общих антиоксидантов исследовали в сыворотке крови больных на биохимическом анализаторе SAPHIRE 400 с использованием реактивов фирмы RANDOX (США). Статистическую обработку материала осуществляли с помощью компьютерной программы Microsoft Excel. Достоверность различий оценивали по критерию *t* Стьюдента. При изучении характера взаимоотношений исследуемых параметров использовали коэффициент корреляции.

Данное исследование одобрено комитетом по этике РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при СД2 происходят более значительные изменения в липидном составе крови по сравнению с группой больных с ожирением: повышение уровня общего ХС, ТГ, ЛПНП и ЛПОНП, коррелирующее со снижением показателей потребления глюкозы эритроцитами ($r = 0,7$). При этом снижается уровень ЛПВП. Гипертриглицеридемия сопряжена с повышением содержания ЛПОНП и увеличенным поступлением ЖК, по-видимому, вследствие отсутствия ингибирующего влияния инсулина на продукцию и формирование ЛПОНП. Также отмечалось снижение как базального, так и стимулируемого потребления глюкозы эритроцитами по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

При ожирении отмечалось увеличение концентрации всех продуктов ПОЛ в плазме крови, которые имели наибольшие значения у больных с СД2 (табл.1). При этом установлено, что определяется взаимосвязь между соотношением глюкоза/инсулин натощак и систолическим АД ($r = 0,71$; $p < 0,05$).

Отмеченная в табл. 1 дислипидемия сопровождалась активацией свободнорадикальных реакций ПОЛ у больных с ожирением и СД2, что привело к снижению утилизации глюкозы в цитомембранах эритроцитов

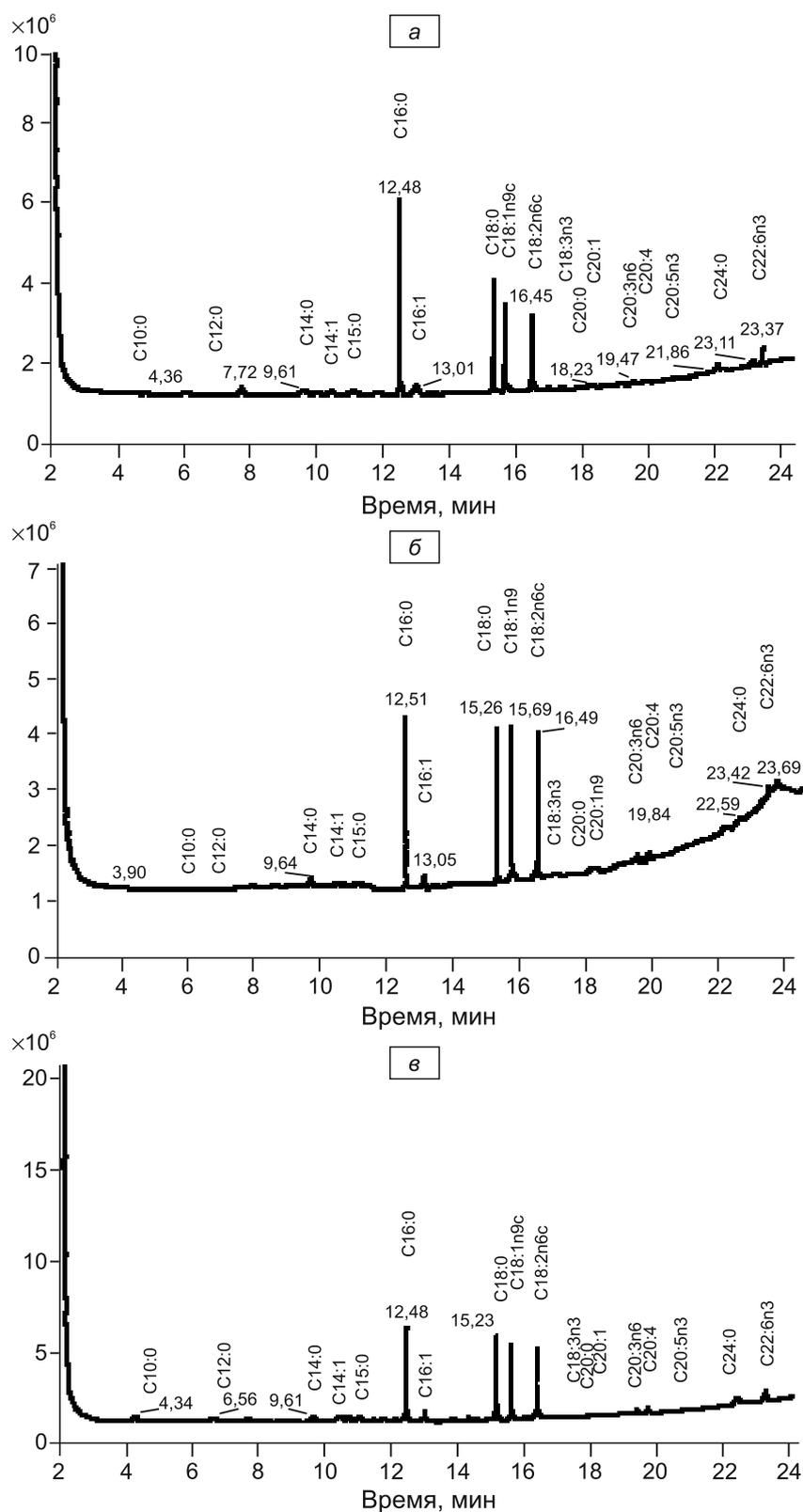


Рис. 1. Хроматограммы жирных кислот в плазме.

Здесь и на рис. 2: а – контрольная группа; б – пациенты с ожирением; в – пациенты с СД2.

($p < 0,05$). Например, содержание МДА возрастает в мембранах эритроцитов у больных СД2 в 1,8 раза, гидроперекиси — в 1,5 раза, утилизация глюкозы эритроцитами снижается в 1,93 раза, значительно снижается активность ферментов-антиоксидантов, например активность CuZn-COD снижается в 1,83 раза ($p < 0,05$) (табл. 2).

Достоверное снижение инсулинсвязывающей активности и утилизации глюкозы в этих группах свидетельствует также о наличии ИР. Резко выраженная гипергли-

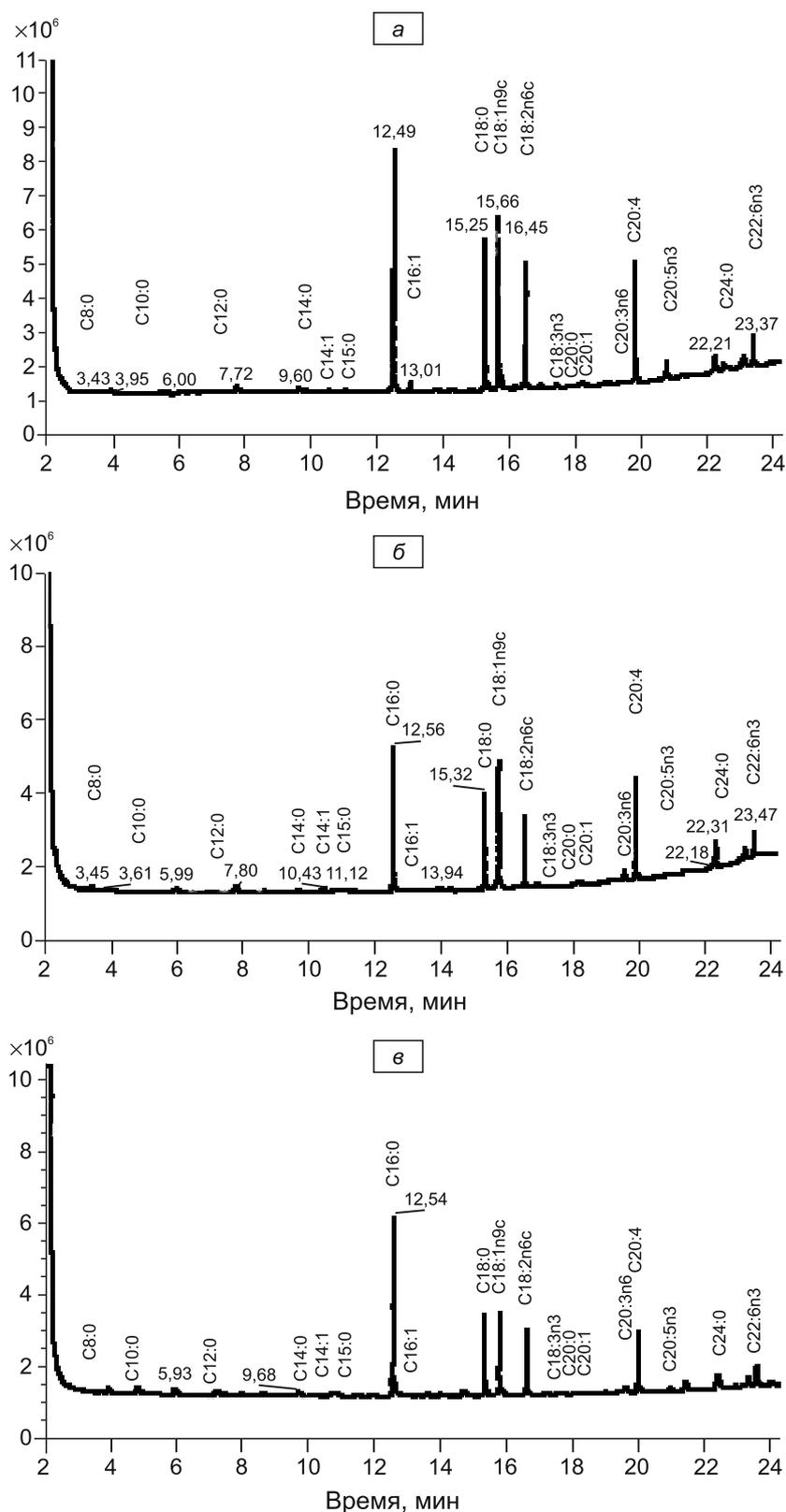


Рис. 2. Хроматограммы жирных кислот в эритроцитах.

кемия, т. е. значительное снижение степени утилизации глюкозы, а также активности ферментов АОЗ при высокой степени пероксидации липидов, отмечается особенно в группе больных СД2.

В пуле насыщенных ЖК (НЖК) максимальное повышение содержания отдельных фракций отмечается также у больных СД2 (рис. 1, 2): миристиновой (С14:0) кислоты — на 76%, пальмитиновой (С16:0) — на 35,8%, стеариновой (С18:0) — на 24,8% по отношению

к контрольной группе. Через 2 нед наблюдения изменения во фракционном составе НЖК были иными: уровень миристиновой кислоты повысился на 77%, а пальмитиновой — на 19,4% по отношению к контрольным значениям. Анализ концентрации отдельных ПННЖК показал, что уровень α -линоленовой (С18:3 ω 3) кислоты при СД2 снижается на 63%, при ожирении, напротив, повышается на 38% ($p < 0,05$). При СД2 по сравнению с контролем повышается суммарное содержание ω 6-ПННЖК более чем в 2 раза (табл. 3; см. рис. 1).

Возрастание суммарного уровня ω 6-ПННЖК, имеющее место при СД2, сопровождается уменьшением коэффициента ω 3-ПННЖК/ ω 6-ПННЖК, что обусловлено низкой концентрацией α -линоленовой кислоты, а также эйкопентаеновой кислоты (ЭПК) и докозагексаеновой кислоты (ДГК) (30 и 52% соответственно). При этом соотношение $\Sigma\omega$ 3-ПННЖК/ $\Sigma\omega$ 6-ПННЖК снизилось у больных СД2 более чем в 3 раза ($p < 0,05$). Изменения во фракционном составе ЖК у пациентов с ожирением по сравнению с контрольной группой имели такое же направление, как и у больных СД2, но были менее выражены. Отмечались прямые корреляционные взаимосвязи между активностью СОД и α -линоленовой кислотой ($r = 0,53$; $p < 0,05$), уровнем ДГК и ферментативной активностью ГПО ($r = 0,47$; $p < 0,05$). Прямая корреляционная связь существовала и между концентрациями МДА и линолевой кислотой ($r = 0,67$; $p < 0,05$). Увеличение соотношения ω 6-ПНЖК/ ω 3-ПНЖК в крови больных СД2 сопровождалось повышением активности и интенсивности ПОЛ ($p < 0,05$). Суммарное соотношение ω 3/ ω 6 ($p < 0,05$) снижалось за счет повышения суммарной активности СОД+КТ ($r = -0,763$; $p < 0,05$; $n = 19$). Приведенные результаты свидетельствуют о том, что у пациентов с СД2 по сравнению с пациентами с ожирением установлены более выраженные нарушения жирно-кислотного состава сыворотки крови за счет группы ЖК омега-3 и омега-6, сохранившиеся в течение всего периода наблюдения. Также отмечено увеличение коэффициента НЖК/ПННЖК. Эти изменения связаны, по-видимому, с тем, что при липолизе в первую очередь мобилизуются ННЖК, которые и окисляются первыми [11,13]. Можно предположить, что этим объясняется активация процессов ПОЛ у больных при ожирении и СД2.

Таким образом, анализ полученных данных свидетельствует о том, что у больных СД2 и у пациентов с ожирением отмечается повышение показателей ХС, ТГ, ЛПНП, ЛПОНП, а также коэффициента атерогенности (КА) по сравнению с их значениями в контрольной группе. Эти изменения позволяют утверждать, что развитие СД2 у женщин, так же, как и при ожирении, сопровождается дислипидемией атерогенного характера. При этом у больных СД2 имеют место более выраженные изменения количественного состава липидов, в том числе жирно-кислотного состава крови. Ожирение

и СД2 сопровождаются модификацией состава свободных и этерифицированных ЖК эритроцитов и плазмы крови, что может привести к изменению функциональной активности мембран, к нарушению инсулинсвязывающей активности цитомембран. Нарушение метаболизма ЖК, сопровождающееся нарастанием концентрации свободных радикалов и снижением активности ферментов АОЗ, коррелирует со снижением инсулинсвязывающей активности клеток и нарушением процессов утилизации глюкозы.

У больных СД2 и у пациентов с ожирением отмечается повышение показателей ХС, ТГ, ЛПНП, ЛПОНП, а также КА по сравнению с контрольной группой. Эти изменения позволяют утверждать, что развитие СД2 у женщин, так же, как и при ожирении, сопровождается дислипидемией атерогенного характера.

Ожирение и СД2 сопровождаются модификацией состава свободных и этерифицированных ЖК эритроцитов и плазмы крови, что приводит к изменению функциональной активности мембран и нарушению инсулинсвязывающей активности цитомембран.

Нарушение метаболизма ЖК коррелирует со снижением инсулинсвязывающей активности эритроцитов и нарушением процессов утилизации глюкозы.

ЛИТЕРАТУРА

(пп. 2—4, 6, 10, 12—14 см. References)

1. Аметов А.С., Демидова Т.Ю., Целиковская А.Л. Ожирение и сердечно-сосудистые заболевания. *Терапевтический архив*. 2001; 73 (8): 66—9.
5. Галенок В.А., Диккер Е.В., Гостинская Е.В. Спектр свободных жирных кислот и реологические свойства эритроцитов у лиц с нарушенной толерантностью к глюкозе и у больных сахарным диабетом. *Проблемы эндокринологии*. 1991; 37(2): 17—20.
7. Максина А.Г., Микаелян Н.П., Дайняк Б.А., Князев Ю.А. Регистрация методом спинного зонда изменения поверхностного потенциала мембран эритроцитов крови больных инсулинзависимым сахарным диабетом. *Биофизика*. 1994; 39(3): 475—8.
8. Микаелян Н.П., Князев Ю.А., Петрухин В.А., Микаелян А.В., Беспалова В.А. Гестационный сахарный диабет: аспекты метаболизма. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2006; 5(52): 16—20.
9. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. *Лабораторное дело*. 1983; 3: 33—5.
11. Микаелян Н.П., Терентьев А.А., Гурина А.Е., Смирнов В.В. Нарушения функций мембрано-рецепторного аппарата клеток кро-

ви детей, больных сахарным диабетом. *Биомедицинская химия*. 2011; 57(6): 642—9.

REFERENCES

1. Ametov A.S., Demidova T.Yu., Tselikovskaya A.L. Obesity and cardiovascular disease. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2001; 73 (8): 66—9. (in Russian)
2. Blaak E.E. Fatty acid metabolism in obesity and type 2 diabetes mellitus. *Proc. Nutr. Soc.* 2003; 62(3): 753—60.
3. Unger R.H., Zhou Y.T. Lipotoxicity of beta-cells in obesity and in other causes of fatty acid spillover. *Diabetes*. 2001; 50(Suppl. 1): S118—21.
4. Klein-Platat C., Draï J., Oujaa M., Schlienger J.L., Simon C. Plasma fatty acid composition is associated with the metabolic syndrome and low-grade inflammation in overweight adolescents. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005; 82 (6): 1178—84.
5. Galenok V.A., Dikker E.V., Gostinskaya E.V. The spectrum of free fatty acids and rheological properties of red blood cells in people with impaired glucose tolerance and diabetes mellitus patients. *Problemy endokrinologii*. 1991; 37(2): 17—20. (in Russian)
6. Sawka-Verhelle D., Filloux C., Tartare-Deckert S., Mothe I., Van-Obberghen E. Identification of Stat 5B as a substrate of insulin receptor. *Eur. J. Biochem.* 1997; 250: 411—7.
7. Maksina A.G., Mikaelyan N.P., Daynyak B.A., Knyazev Yu.A. Register by spin probe changes in the surface potential of the membrane of red blood cells of patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Biofizika*. 1994; 39(3): 475—8. (in Russian)
8. Mikaelyan N.P., Knyazev Yu.A., Petrukhin V.A., Mikaelyan A.V., Bepalova V.A. Gestational diabetes: metabolic aspects. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2006; 5(52): 16—20. (in Russian)
9. GavriloV.V.B., Mishkorudnaya M.I. Spectrophotometric determination of lipid hydroperoxides in plasma. *Laboratornoe delo*. 1983; 3: 33—5. (in Russian)
10. Yagi Y., Matsuda M. Formation of lipoperoxide in isolated sciatic nerve by chinophorm- ferric chelate. *Experimentia*. 1976; 32(7): 905—6.
11. Mikaelyan N.P., Terent'ev A.A., Gurina A.E., Smirnov V.V. Narusheny functions of membrane-receptor system of blood cells of children with diabetes. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2011; 57(6): 642—9. (in Russian)
12. Saydah S.H., Miret M., Sung J., Varas C., Gause D., Brancati F.L. Postchallenge hyperglycemia and mortality in a national sample of U.S. adults. *Diabetes care*. 2001; 24(8): 1397—402.
13. Folch J., Lees M., Sloane-Stanley A.G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 1957; 226 (1): 497—509.
14. Ichihara K., Fukubayashi Y. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *J. Lipid Res.* 2010; 51 (3): 635—40.

Поступила 16.03.15