

Л. И. САНДУЛЯК

## ЭРИТРОЦИТЫ КАК ДЕПО И СИСТЕМА ТРАНСПОРТА ИНСУЛИНА

(Представлено академиком В. Н. Черниговским 13 IX 1974)

Инсулин не выявляется в эритроцитах при изучении распределения его в организме методами электрофореза, хроматографии, а также при помощи радиоактивных изотопов и биологических тестов (1). Считается также (2), что эритроциты не чувствительны к инсулину. Вместе с тем в последние годы показано наличие в эритроцитах рецепторов к инсулину (3).

Нам удалось разработать способ выявления инсулина в эритроцитах путем окрашивания мазка крови паральдегидфуксином.

Окрашивание препаратов проводили следующим образом. 1. На тщательно вымытом и обезжиренном предметном стекле изготавливается мазок крови, взятой из пальца. 2. Свежий, неподсохший мазок крови погружается на 8–24 час. в раствор следующего состава: а) 1% раствор хромовокислого калия, приготовленного на изотоническом растворе хлористого натрия — 1 часть; б) 5% раствор двуххромовокислого калия, приготовленного на изотоническом растворе хлористого натрия — 10 частей. Инкубация проводится в биологических стаканчиках при комнатной температуре. Мазки крови в стаканчиках находятся в наклонном положении. 3. Мазок промывается в нескольких порциях дистиллированной воды. 4. Погружение в 1% раствор фосфорновольфрамовой кислоты на 3 мин. 5. Отмывание от фосфорно-вольфрамовой кислоты в нескольких порциях дистиллированной воды. 6. Мазок переносится на 10–15 мин. в 0,5% спиртовой раствор паральдегидфуксина. 7. Препарат споласкивается 1% 70° солянокислым этанолом до тех пор, пока отмывается краситель. 8. Мазок промывается в 70° этаноле. 9. Докрашивается 1% спиртовым раствором эозина. 10. Обезживляется в спиртах возрастающей концентрации, просветляется в ксилоле и заключается в канадский бальзам. В результате эритроциты, содержащие инсулин, окрашиваются паральдегидфуксином в фиолетовый цвет; эритроциты, не содержащие инсулина, окрашиваются эозином в розовый цвет.

Суждение о том, что мы выявляем в эритроцитах именно инсулин, базируется на уменьшении количества альдегидфуксинофильных эритроцитов в крови больных сахарным диабетом и при аллоксановом диабете у крыс; на почти полном исчезновении их из крови после удаления поджелудочной железы у собак; появлении эритроцитов, окрашенных на инсулин, после введения инсулина больным сахарным диабетом и подопытным животным, а также на том, что, если мазок крови перед фиксацией в смеси хромово- и двуххромовокислого калия обработать, хотя бы в течение 30 сек., этанолом, экстрагирующим инсулин, то последний в эритроцитах не выявляется.

Мы изучали содержание инсулина (путем подсчета количества альдегидфуксинофильных клеток на 1000 эритроцитов в каждом мазке крови) в эритроцитах 13 здоровых людей, 29 больных тяжелой формой сахарного диабета, 14 — средней и 10 — легкой формами сахарного диабета. Кроме того, изучали содержание инсулина в различных фазах развития аллоксанового диабета у 10 белых крыс и после удаления поджелудочной железы у 5 собак и 5 белых крыс.

Результаты исследования показали, что  $614 \pm 48\%$  эритроцитов здоровых людей содержат инсулин. У белых крыс инсулинсодержащие эритроциты составляют  $842 \pm 30\%$ , а у собак  $632 \pm 38\%$ . При тяжелой, средней и легкой форме сахарного диабета у людей отмечается статистически достоверное ( $P < 0,001$ ) уменьшение количества эритроцитов, содержащих инсулин, причем количество инсулинсодержащих эритроцитов наименьшее при тяжелой форме сахарного диабета ( $354 \pm 23\%$ ), хотя и при легкой форме заболевания это уменьшение выступает довольно отчетливо ( $419 \pm 28\%$ ). Заслуживает внимания тот факт, что через 4 часа после инъекции лечебной дозы инсулина больным тяжелой формой сахарного диабета количество эритроцитов, дающих реакцию на инсулин, увеличивается до  $524 \pm 79\%$  ( $P < 0,05$ ).

При исследовании крови крыс, страдающих аллоксановым диабетом, наряду с полностью окрашенными эритроцитами имеются эритроциты, в которых окрасилась только оболочка. В гипогликемической фазе развития аллоксанового диабета (через 6–8 час. после введения аллоксана) отмечалось некоторое увеличение количества инсулинсодержащих эритроцитов ( $879 \pm 42\%$ ). Через 1 сутки после введения аллоксана количество эритроцитов, дающих реакцию на инсулин, резко уменьшилось, а на 5–7 сутки инсулинсодержащие эритроциты составляли только  $192 \pm 55\%$  ( $P < 0,001$ ). На 10–15 сутки развития аллоксанового диабета количество эритроцитов, окрашивающихся на инсулин, увеличилось до  $416 \pm 28\%$ . На 3–4 сутки после удаления поджелудочной железы инсулинсодержащие эритроциты составляли: у крыс  $195 \pm 15\%$ , а у собак только  $9 \pm 4\%$ . Почти полное исчезновение селективно окрашивающихся эритроцитов из крови собак после удаления у них поджелудочной железы убедительно доказывает, что мы выявляем в эритроцитах именно инсулин. Наличие, хотя и небольшого количества, инсулинсодержащих эритроцитов в крови оперированных крыс не опровергает этого доказательства, так как удалить полностью поджелудочную железу у грызунов технически невозможно. Кроме того, у всех животных с экспериментальным диабетом наблюдалось включение в эритроциты введенного извне инсулина. Так, у диабетических собак через 4 часа после инъекции 10 единиц инсулина количество инсулинсодержащих эритроцитов увеличилось с  $9 \pm 4\%$  до  $223 \pm 6\%$  ( $P < 0,001$ ).

Полученные данные позволяют предполагать, что эритроциты, будучи сами не чувствительными к инсулину, но обладая рецепторами к нему, осуществляют транспорт инсулина в организме и депонируют избыток этого гормона на своей поверхности путем связывания его с белками плазматической мембраны.

Исследования в плане настоящей гипотезы могут пролить свет на некоторые неясные стороны патогенеза сахарного диабета, особенно внепанкреатических форм его, и развитие инсулинорезистентности. Предложенный нами метод определения инсулина в эритроцитах является простым и общедоступным, в связи с чем может быть применен для массового обследования населения на сахарный диабет.

Черновицкий государственный  
университет

Поступило  
12 IX 1974

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Р. Уильямс, В кн. Диабет, М., 1964, стр. 59.   <sup>2</sup> А. Ренолд, А. Уайлгрэд, там же, стр. 113.   <sup>3</sup> R. Govin James III, Roth Jesse et al., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 69, 3, 747 (1972).