

УДК 616.1+612.397.23+612.123+612.111.6+612.111.19+616-008.9+612.015

© А.Н. Осипенко, Н.В. Акулич, Ф.Н. Клишевич, 2012.

ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ КРОВИ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗИ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

А.Н. Осипенко, Н.В. Акулич, Ф.Н. Клишевич

УО «Могилевский государственный университет им. А. А. Кулешова», лаборатория экологической физиологии; УЗ «Могилевская областная больница», отделение рентгенэндоваскулярной хирургии, г. Могилев, Республика Беларусь.

FATTY ACIDS OF BLOOD AND THEIR RELATIONSHIP WITH ATHEROSCLEROSIS

A.N. Osipenko, N.V. Akulich, F.N. Klishevich

SUMMARY

The results of researches of composition of fatty acids of erythrocytes and lipoproteins of blood plasma of patients with ischemic heart disease and atherosclerosis are presented. There was detected modification of correlations between several fatty acids of erythrocytes and blood plasma lipoproteins.

ЖИРНІ КИСЛОТИ КРОВІ ТА ЇХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКИ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗІ

О.М. Осипенко, М.В. Акулич, Ф.М. Клішевіч

РЕЗЮМЕ

У статті представлені результати дослідження складу жирних кислот еритроцитів та ліпопротеїнів плазми крові пацієнтів з ішемічною хворобою серця та атеросклерозом. Виявлена зміна кореляційних зв'язків між окремими жирними кислотами еритроцитів та ліпопротеїнів плазми крові.

Ключевые слова: жирные кислоты, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца.

От заболеваний сердечно-сосудистой системы в развитых странах погибает больше людей, чем от других болезней. Тем не менее, до настоящего времени у исследователей нет единого мнения относительно причин развития дислипидемии и нарушения баланса жирных кислот (ЖК) при атеросклерозе [2, 8, 9], до конца не определена роль отдельных жирных кислот в его патогенезе [5, 8, 9]. Следовательно, исследования, касающиеся количественных изменений отдельных ЖК в составе липидов крови у больных с верифицированным атеросклерозом, могут иметь значение как для выяснения патофизиологических механизмов атерогенеза, так и для оценки выраженности патологического процесса.

Цель работы: исследовать баланс жирных кислот плазмы и эритроцитов крови при ишемической болезни сердца (ИБС) и атеросклерозе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились 16 пациентов (57,1±1,4 лет) с диагнозом: ИБС, атеросклероз коронарных артерий, стенокардия напряжения II–III функционального класса. Контролем служила кровь 16 здоровых добровольцев в возрасте 37,7±3,2 лет. Кроме того, были проанализированы образцы крови из 9 тел мужчин (средний возраст на момент смерти 50±6,7 лет) с различной степенью атеросклеротического поражения брюшной аорты. Шесть из них – 4 тип (контроль), три – 5-6 тип атеросклеротического поражения (опытная группа). Оценка атеросклеротических поражений проводилась по классификации, разработанной Х.К. Стэри [3].

Преаналитический этап состоял в отделении клеточного компонента от плазмы крови путем центрифугирования. Далее эритроциты дважды отмывались в рН сбалансированном изотоническом растворе. Затем из фиксированных объемов плазмы крови и эритроцитарной массы, используя кислотный этанолиз с последующей экстракцией полученных эфиров гексаном, готовили растворы этиловых эфиров ЖК.

Анализ состава ЖК плазмы крови и эритроцитарной массы проводился методом капиллярной газо-жидкостной хроматографии [4]. Для этого на капиллярной колонке с фазой SE-30 (газ-носитель – азот) осуществлялось разделение этиловых эфиров жирных кислот, полученных в ходе пробоподготовки из эфиров высокомолекулярных спиртов (холестерина и глицерина) с ЖК. Измерения проводились на хроматографах «ГХ-1000» и «ЦВЕТ-800» (РФ) с пламенно-ионизационными детекторами. Идентификация анализируемых соединений осуществлялась с помощью метода хромато-масс-спектрометрии. Для этого использовался прибор «Finnigan DSQ II» (США).

Количественная оценка содержания отдельных жирных кислот производилась в процентном отношении к их общей сумме. Полученные данные представлены в виде значений средних арифметических показателей сравниваемых групп и соответствующих значений доверительного интервала ($p=0,05$). Нормальность распределения значений переменных в выборках была подтверждена при помощи критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка при $p=0,05$. Статистическая

взаимосвязь оценивалась как линейная зависимость двух переменных (коэффициент корреляции Пирсона). Оценка значимости различий между выборками осуществлялось с использованием U-критерия Манна-Уитни [6]. Изменения считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У пациентов с ишемией миокарда и атеросклерозом в сравнении со здоровыми людьми наблюдается значительное изменение баланса жирных кислот плазмы крови, этерифицированных с высокомолекулярными спиртами и относящихся к фракции гидрофобных липидов, транспортируемых ЛП. Отмечается повышенное относительное содержание насыщенных жирных кислот (с $39,82 \pm 2,02\%$ до $47,92 \pm 1,00\%$ ($p < 0,001$)). Причем содержание миристиновой ($C_{14:0}$) кислоты увеличивается с $0,67 \pm 0,12\%$ до $1,29 \pm 0,31\%$ ($p < 0,001$), а содержание пальмитиновой ($C_{16:0}$) и стеариновой ($C_{18:0}$) ЖК – с $26,81 \pm 1,64\%$ до $31,72 \pm 1,05\%$ ($p < 0,001$) и с $12,02 \pm 0,70$ до $14,51 \pm 0,75\%$ ($p < 0,001$) соответственно. В опытной группе также отмечается увеличение полиненасыщенной дигомо-г-линоленовой ($C_{20:3}$) кислоты (с $1,20 \pm 0,18\%$ до $1,91 \pm 0,26\%$ ($p < 0,001$)). В целом же, содержание полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) снижено с $41,82 \pm 1,97\%$ до $33,96 \pm 2,21\%$ ($p < 0,001$) за счет линолевой ($C_{18:2}$) кислоты. Уровень этой ЖК в образцах плазмы крови опытной группы снижен с $30,38 \pm 2,35\%$ до $20,65 \pm 2,26\%$ ($p < 0,001$).

Показано [5, 8], что повышенное образование эфиров холестерина с насыщенными и мононенасыщенными ЖК увеличивает время их нахождения в кровотоке в составе липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), вследствие чего увеличивается количество окисленных форм ЛПНП и развивается гиперхолестеринемия. Кроме того, установлено, что постгепариновая липопротеинлипаза активнее гидролизует триглицериды (ТГ), у которых у второго атома углерода глицерина этерифицирована не мононенасыщенная олеиновая ($C_{18:1}$) ЖК, а линолевая ($C_{18:2}$) [2, 8], следовательно, недостаток линолевой ($C_{18:2}$) кислоты может приводить к снижению скорости катаболизма липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). Это может вызвать перегрузку ЛПОНП триглицеридами, сопровождающуюся конформационными изменениями апоЕ, потерей у них сродства с рецепторами гепатоцитов и появлением сродства со сквенджер-рецепторами макрофагов [2, 5]. Кроме того, линолевая ($C_{18:2}$) кислота стимулирует продукцию коллагеназы IV, а ее метаболиты ингибируют экспрессию циркулирующих молекул адгезии VCAM-1, ICAM-1 и E-селектина, индуцированную провоспалительными цитокинами в эндотелиальных клетках, что, в свою очередь, может

снижать скорость развития атеросклероза [6].

Полученные данные о роли линолевой ($C_{18:2}$) кислоты как маркера и участника процесса атерогенеза подтверждаются результатами анализа состава ЖК в постмортальных образцах плазмы крови. В случаях, при которых брюшные аорты имели серьезные дефекты из-за наличия крупных атеросклеротических бляшек и подверглись кальцификации, уровень линолевой ($C_{18:2}$) кислоты в плазме крови составил $15,87 \pm 1,92\%$. При невыраженном атеросклерозе брюшной аорты (наличие лишь небольших атером) содержание этой ЖК в плазме крови составило $21,92 \pm 2,75\%$ ($p < 0,05$).

При исследовании взаимосвязей между уровнем отдельных жирных кислот нами установлена тесная отрицательная корреляция между относительным содержанием пальмитиновой кислоты ($C_{16:0}$) липопротеинов плазмы крови и линолевой ($C_{18:2}$) кислоты ЛП при ИБС ($r = -0,87$, $p < 0,001$) и в контрольной группе ($r = -0,80$, $p < 0,001$). Кроме того, и в опытной, и в контрольной группах отмечаются средние отрицательные корреляции между олеиновой ($C_{18:1}$) и стеариновой ($C_{18:0}$) ЖК ($r = -0,59$, $p < 0,05$ и $r = -0,53$, $p < 0,05$). Таким образом, можно предположить, что в здоровом и в больном организме пальмитиновая ($C_{16:0}$) кислота находится в конкурентных взаимосвязях с линолевой ($C_{18:2}$) ЖК, а стеариновая ($C_{18:0}$) – с олеиновой ($C_{18:1}$) кислотой.

У пациентов с ИБС и атеросклерозом наблюдается еще более сложная картина корреляционных взаимосвязей между отдельными жирными кислотами ЛП. Так, в плазме крови больных ИБС наблюдается положительная корреляция между стеариновой ($C_{18:0}$) и линолевой ($C_{18:2}$) кислотами ($r = 0,45$, $p < 0,1$), а также сильная положительная корреляция ($r = 0,90$, $p < 0,001$) между пальмитиновой ($C_{16:0}$) и олеиновой ($C_{18:1}$) ЖК. Корреляционная связь между пальмитиновой ($C_{16:0}$) и стеариновой ($C_{18:0}$) кислотами носит отрицательный характер ($r = -0,62$, $p < 0,05$), несмотря на тот факт, что уровень обоих этих насыщенных жирных кислот значительно возрастает. Между уровнем линолевой ($C_{18:2}$) и олеиновой ($C_{18:1}$) кислоты нами также выявлена тесная отрицательная корреляция ($r = -0,92$, $p < 0,001$).

Учитывая установленные корреляционные связи и то, что пальмитиновая ($C_{16:0}$), стеариновая ($C_{18:0}$), олеиновая ($C_{18:1}$) и линолевая ($C_{18:2}$) кислоты являются основными ЖК триглицеридов человека [1, 8], можно предположить, что при атеросклерозе в организме в основном образуются два типа ТГ – содержащие в структуре молекулы пальмитиновую ($C_{16:0}$) и олеиновую ($C_{18:1}$) кислоты, и содержащие стеариновую ($C_{18:0}$) и линолевою ($C_{18:2}$) ЖК. При этом, по-видимому, при дефиците линолевой кислоты ($C_{18:2}$) ее место может занимать стеариновая ЖК ($C_{18:0}$).

Значительное снижение в плазме крови относительного уровня линолевой ($C_{18:2}$) кислоты без

достоверного изменения уровня других эссенциальных ПНЖК у пациентов с ИБС и атеросклерозом, по нашему мнению, можно объяснить. Для этого необходимо допустить, что при поглощении свободных ЖК и моноглицеридов, образовавшихся после воздействия панкреатической липазы, клетками слизистой тонкого кишечника усиленно поглощаются свободные ЖК (в основном являющиеся насыщенными [8]). При этом в меньшей степени, чем в здоровом организме, поглощаются моноглицериды, содержащие значительные количества линолевой ($C_{18:2}$) кислоты. В результате при синтезе новых молекул триглицеридов более активно, чем у здоровых людей, в sn-2 положение молекулы глицерина включается олеиновая ($C_{18:1}$) кислота, и менее активно – линолевая ($C_{18:2}$). Скорость поглощения других ПНЖК, входящих в состав фосфолипидов и эфиров холестерина, при этом не изменяется, и, как следствие, уровень этих кислот в ЛПД плазмы крови практически не отклоняется от нормы.

Принято считать, что энтероциты поглощают свободные ЖК и 2-моноацилглицериды путем пассивной диффузии [1, 8]. Тем не менее, в последнее время появились свидетельства в пользу того, что поглощение ЖК клетками слизистой оболочки тощей кишки зависит от активности липид-переносящего белка, локализованного в мембране щеточной каемки энтероцитов. Кроме того, отмечается, что поглощение энтероцитами ЖК может происходить и путем активированной диффузии при действии специфических белков [8].

Нарушения в балансе ЖК у пациентов опытной группы отмечаются и по результатам анализа эритроцитов, и обусловлены увеличением уровня насыщенной пальмитиновой ($C_{16:0}$) ЖК (4,67%, $p < 0,05$) и снижением уровня полиненасыщенной линолевой ($C_{18:2}$) кислоты на 12,55% ($p < 0,05$). При этом изменения их содержания в эритроцитах характеризуются сильной ($r = -0,87$, $p < 0,001$) корреляционной связью. У пациентов опытной группы также отмечалась корреляция между уровнем пальмитиновой ЖК эритроцитов и относительным уровнем ПНЖК плазмы крови ($r = -0,62$, $p < 0,01$).

Увеличение уровня пальмитиновой ЖК в эритроцитах опытной группы может иметь принципиальное значение, учитывая способность насыщенных жирных кислот увеличивать вязкость липидного бислоя клеточных мембран и тем самым существенно ограничивать активность мембраносвязанных рецепторов. Кроме того, показано, что пальмитиновая кислота может

конкурировать с ПНЖК в процессах ацилирования мембранных ферментов, приводя к их ассоциации с липидными рафтами клеточных мембран и изменяя каталитическую активность [10].

ВЫВОДЫ

Выявлены особенности в спектре жирных кислот плазмы и эритроцитов крови и изменения взаимосвязей между отдельными жирными кислотами при атеросклерозе и ишемии миокарда, которые могут служить для разработки критериев оценки атеросклеротического процесса и связанных с ним патологических состояний, а также уточнить представления о причинах возникновения дислипидемий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биологическая химия: учебник / В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Э.И. Олецкий, А.Д. Таганович.; под ред. А.Д. Тагановича. – Минск: Асар, М.: Издательство БИНОМ, 2008. – 688 с.
2. Братусь, В.В. Воспаление и проатерогенные нарушения обмена липопротеинов: взаимосвязь и причинно-следственная зависимость / В.В. Братусь, Т.В. Талаева // Украинский ревматологический журнал. – 2002. – № 1 (7). – С. 13-22.
3. Зайчик, А.Ш. Основы общей патологии. Часть 2. Основы патохимии / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. – СПб., ЭЛБИ, 2000. – 688 с.
4. Кейтс, М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов. – М.: «Мир», 1975. – 322 с.
5. Климов, А.Н. Липиды, липопротеиды и атеросклероз / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева. – СПб: Питер Пресс, 1995. – 304 с.
6. Липиды и рак. Очерки липидологии онкологического процесса / М.Г. Акимов [и др.]; под ред. В.В. Безуглова и С.С. Коновалова. – СПб.: Прайм-ЕВРОЗНАК, 2009. – 352 с.
7. Медик, В.А. Статистика в медицине и биологии: руководство: в 2 т. / В.А. Медик, М.С. Токмачев, Б.Б. Фишман; под ред. Ю.М. Комарова. – М.: Медицина, 2000. – Т. 1: Теоретическая статистика / М.С. Токмачев, Б.Б. Фишман. – 2000. – 455 с.
8. Титов, В.Н. Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина / В.Н. Титов, Д.М. Лисицын. – М. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2006. – 672 с.
9. Abnormal fatty acid composition and human atherosclerosis / K.J. Kingsbury [et al] // Postgrad Med J. – 1974. – Vol. 50. – P. 425 – 440.
10. Simons, K. Lipid rafts and signal transduction / K. Simons, D. Toomre // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2000. – Vol. 1. – P. 31 – 39.