

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012

УДК 616.1/8-008.64-07:616.153.295

А. Н. Осипенко¹, Н. В. Акулич¹, А. В. Марочков²**ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ И ЖИРНЫЕ АЛЬДЕГИДЫ КРОВИ КАК БИОХИМИЧЕСКИЙ КРИТЕРИЙ ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**¹УО Могилевский государственный университет им. А. А. Кулешова, ²УЗ Могилевская областная больница

Представлены результаты исследования жирных кислот и жирных альдегидов плазмы и эритроцитов крови пациентов с синдромом полиорганной недостаточности.

Показано увеличение относительного уровня мононенасыщенных жирных кислот и снижение полиненасыщенных жирных кислот и насыщенной стеариновой кислоты в плазме крови. В эритроцитах выявлены достоверные изменения в содержании насыщенной пальмитиновой и полиненасыщенной линолевой жирных кислот. У пациентов с полиорганной недостаточностью также обнаружено снижение уровня жирных альдегидов и холестерина в плазме крови.

Сделан вывод о важной роли мононенасыщенных жирных кислот в нарушении системной гемодинамики и оценке степени нарушения обмена липидов между клетками и липопротеинами плазмы крови. Приводятся аргументы, доказывающие наличие дисфункции пероксисом у пациентов с полиорганной недостаточностью.

Ключевые слова: жирные кислоты, жирные альдегиды, плазмалогенные фосфолипиды, холестерин, синдром полиорганной недостаточности

*A.N. Osypenko, N.V. Akulitch, A.V. Marotchkov***THE FATTY ACIDS AND FATTY ALDEHYDES OF BLOOD AS A BIOCHEMICAL OF MULTIPLE ORGAN FAILURE**

The article presents the results of analysis of fatty acids and fatty aldehydes of plasma and blood erythrocytes in patients with the syndrome of multiple organ failure. The increase of relative level of mono-unsaturated fatty acids and decrease of poly-saturated fatty acids and saturated stearic acid in blood plasma is demonstrated. The reliable alterations in erythrocytes concerning the content of saturated palmitic and poly-saturated linoleic fatty acids are detected. In patients with multiple organ failure the decrease of level of fatty aldehydes and cholesterol in blood plasma is established too. The conclusion is made about significant role of mono non-saturated fatty acids in disorders of systemic haemodynamics and evaluation of degree of disorder of lipid metabolism between cells and blood plasma lipoproteins.

Key words: fatty acids, fatty aldehyde, plasmalogenic phospholipid, cholesterol, multiple organ failure syndrome.

Ключевыми звеньями патогенеза синдрома полиорганной недостаточности (СПОН) являются существенное изменение клеточного метаболизма, выраженное расстройство микроциркуляции и генерализованное воспаление [2]. Это диктует необходимость исследований, направленных на поиск путей восстановления перфузии, оптимизацию способов коррекции метаболизма тканей и органов, определение надежных биохимических критериев оценки состояния пациентов при указанном синдроме [1]. При этом в аспекте исследования обмена липидов немаловажным является изучение спектра жирных радикалов (жирных кислот и жирных альдегидов), составляющих структурную основу большинства липидов и участвующих в обменных процессах, формировании клеточных мембран, процессах оксигенации липидов и синтезе простагландинов [3].

Цель работы – исследовать баланс жирных кислот и уровень жирных альдегидов эритроцитов и плазмы крови при полиорганной недостаточности различной этиологии.

Материал и методы. Работа выполнена на базе Регионального центра коллективного пользования УО Могилевский государственный университет им. А. А. Кулешова, УЗ Могилевская областная больница.

Объектом исследования были 18 человек с полиорганной недостаточностью ($35,6 \pm 8,7$ года).

Контролем служила кровь 16 практически здоровых добровольцев в возрасте $37,7 \pm 3,2$ года.

Кроме того, исследовали фрагменты брюшной аорты из 9 трупов мужчин (средний возраст на момент смерти составлял $50 \pm 6,7$ года). Для этого с поверхности каждой аорты при помощи предметного стекла делали соскоб люминальной поверхности сосуда (эндотелий и подэндотелиальный слой под контролем световой микроскопии), а в пластиковую пробирку с антикоагулянтом отбирали 3–4 см³ крови.

На преаналитическом этапе производили разделение клеточного компонента и плазмы крови путем центрифугирования (5 мин при 5000 об/мин). Эритроциты дважды отмывали в рН-сбалансированном изотоническом растворе. Затем из фиксированных объемов плазмы крови и эритроцитарной массы путем кислотного этанолиза с последующей экстракцией гексаном готовили растворы производных жирных альдегидов и жирных кислот. Далее проводили анализ состава и измерение содержания различных жирных альдегидов и жирных кислот плазмы и эритроцитов крови, которые присутствовали в гексановом экстракте в виде соответствующих диэтилацеталей и этиловых эфиров. Липиды соскобов эндотелия также подвергались этанолизу.

Для анализа состава жирных кислот и жирных альдегидов плазмы крови и эритроцитарной массы применяли метод капиллярной газо-жидкостной хроматографии [4] с использованием капиллярной хроматографической колонки с фазой SE-30. Измерения проводили на газовых хроматографах ГХ-1000, ЦВЕТ-800 (Россия) с пламенно-ионизационными детекторами. Окончательную идентификацию осуществляли с помощью метода хромато-масс-спектрометрии. Для этого использовали хромато-масс-спектрометр Finnigan DSQ II (США).

Содержание отдельных жирных кислот количественно оценивали в процентном отношении к их общей сумме, а содержание диэтилацеталей – в процентном отношении к

Для корреспонденции:

Осипенко Александр Николаевич, аспирант каф. биологии

Адрес: 212026, Могилев, ул. Сурганова, 3/45

Телефон: (8-1037529)131-46-71

E-mail: alosipenko@yandex.ru

Состав жирных кислот липопротеинов плазмы крови при полиорганной недостаточности, ($\bar{X} \pm \Delta x$) ($p = 0,05$)

Жирные кислоты	Контроль, %	Опыт, %
Миристиновая	0,67 ± 0,12	0,79 ± 0,22
Пальмитолеиновая	1,62 ± 0,31	2,56 ± 0,39**
Пальмитиновая	26,81 ± 1,64	27,82 ± 1,15
Линолевая	30,38 ± 2,35	24,04 ± 1,78***
Олеиновая	16,73 ± 1,28	25,06 ± 2,08***
Стеариновая	12,02 ± 0,70	10,61 ± 1,03*
Арахидоновая	6,04 ± 0,59	4,50 ± 0,76**
Дигомо-γ-линоленовая	1,20 ± 0,18	0,82 ± 0,20*
Докозагексаеновая	2,10 ± 0,38	1,54 ± 0,26*
Полиненасыщенные суммарно	39,72 ± 2,13	30,90 ± 2,13***
Мононенасыщенные суммарно	18,36 ± 1,48	27,62 ± 2,27***

Примечание. * Различия достоверны при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$.

сумме полученных в ходе пробоподготовки этиловых эфиров жирных кислот.

Статистический анализ проводили с использованием U-критерия Манна–Уитни. Изменения считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Из результатов, представленных в таблице, следует, что у пациентов с СПОН отмечаются значительные изменения в спектре жирных кислот.

В плазме крови наблюдается снижение относительного содержания полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Так, уровень линолевой кислоты снижен на 20,88% ($p < 0,001$), арахидоновой – на 25,38% ($p < 0,01$), дигомо-γ-линоленовой – на 31,61% ($p < 0,05$), докозагексаеновой – на 26,57% ($p < 0,05$). Кроме того, на 11,73% ($p < 0,05$) снижен относительный уровень насыщенной стеариновой жирной кислоты. При этом значительно возрастает относительное содержание мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК). Так, уровень олеиновой жирной кислоты липопротеинов плазмы крови

увеличивается на 49,78% ($p < 0,001$), а пальмитолеиновой – на 57,54% ($p < 0,01$).

Мы полагаем, что в основе механизма повышения относительного уровня олеиновой и пальмитолеиновой кислот в липопротеинах плазмы крови может лежать факт активации липолиза на фоне истощения при СПОН, когда в системный кровоток попадают жирные кислоты, освобождаемые адипоцитами, миоцитами и другими клеточными элементами, содержащими липиды с высоким содержанием МНЖК. При этом выброс цитокинов способствует снижению утилизации жирных кислот и триглицеридов за счет подавления активности липопротеинлипазы [2].

Вследствие этих процессов в клетках сосудистого эндотелия должен возникать дефицит ПНЖК и снижение ими синтеза липидных вазоактивных медиаторов. Таким образом, можно предположить, что высокое относительное содержание олеиновой и пальмитолеиновой кислот может быть маркером нарушения системной гемодинамики.

Следует отметить, что в постмортальных образцах плазмы крови, как и при полиорганной недостаточности, также значительно снижен уровень полиненасыщенных линолевой (на 57,95%; $p < 0,001$) и арахидоновой (на 21,28%; $p < 0,05$) кислот и насыщенной стеариновой кислоты (на 19,81%; $p < 0,05$), повышен уровень мононенасыщенных олеиновой (на 30,75%; $p < 0,01$) и пальмитолеиновой (на 55,19%; $p < 0,001$) кислот. Кроме того, состав жирных кислот плазмы крови при СПОН в целом становится подобен составу жирных кислот люминальной части стенки артерий, где отмечается высокий уровень МНЖК, низкий уровень ПНЖК и стеариновой жирной кислоты. Это, по-видимому, отражает утрату организмом способности регулировать межтканевой градиент (рис. 1). Следовательно, возникающие при критических состояниях декомпенсационные нарушения системы крови требуют своевременной метаболической коррекции, направленной на нормализацию (в том числе) липидного обмена.

Нарушения в метаболизме липидов при сосудистой патологии на фоне СПОН выявлены и по результатам анализа жирных кислот эритроцитов. Так, у пациентов опытной группы относительный уровень насыщенной пальмитиновой кислоты выше на 4,97% ($p < 0,05$), чем в контрольной группе. Повышенный относительный уровень этой жирной кислоты сочетается с пониженным уровнем линолевой кислоты (на 15,22%; $p < 0,001$) и с в 3 раза более высоким относительным уровнем пальмитолеиновой кислоты (рис. 2). Значительное увеличение содержания пальмитолеиновой кислоты в эритроцитах (с $0,18 \pm 0,13$ до $0,65 \pm 0,14\%$ ($p = 0,05$)) при ее высоком содержании в плазме крови можно объяснить в том случае, если допустить, что она может замещать пальмитиновую кислоту в эритроцитарных фосфолипидах. Следует заметить, что несмотря на высокое содержание олеиновой кислоты в плазме крови при полиорганной недостаточности, в эритроцитах ее относительный уровень не изменяется в сравнении с контролем. Кроме того, у некоторых пациентов

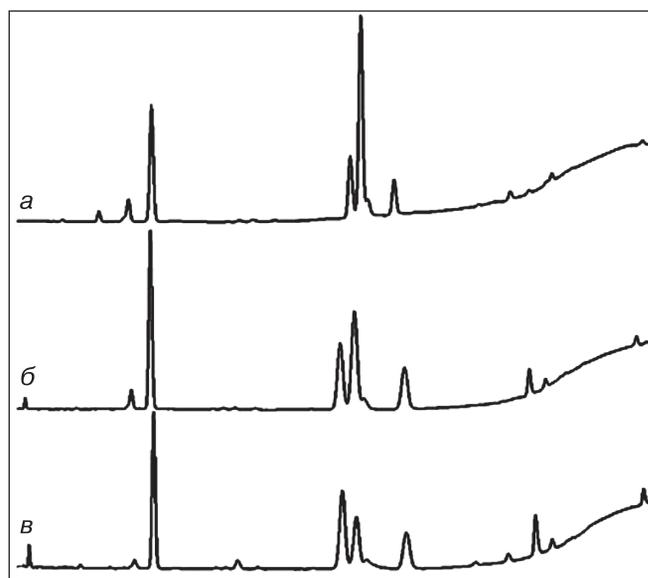


Рис. 1. Спектр жирных кислот: люминальной части стенок артерий (а), плазмы крови пациента с синдромом полиорганной недостаточности (б), плазмы крови здорового человека (в).

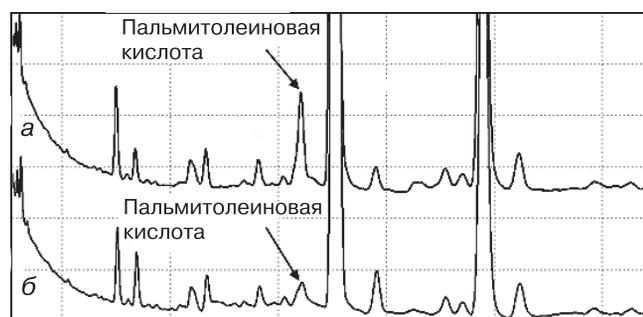


Рис. 2. Хроматограммы, иллюстрирующие уровень пальмитолеиновой кислоты эритроцитов при полиорганной недостаточности (а) и в норме (б).

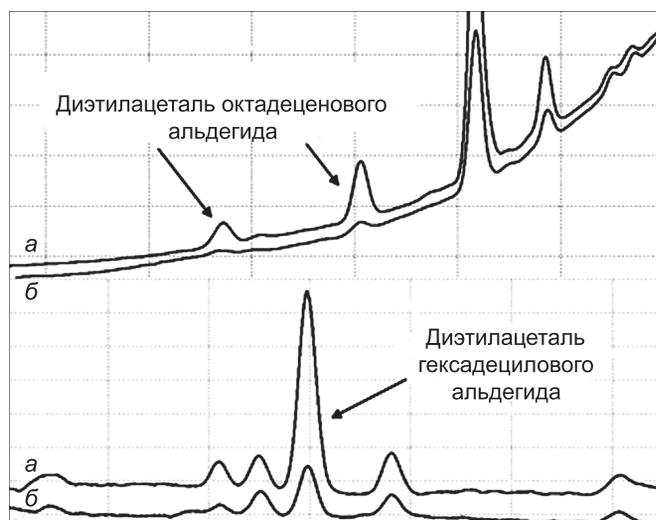


Рис. 3. Фрагменты хроматограмм, иллюстрирующие снижение уровня жирных альдегидов плазмы крови при полиорганной недостаточности, в контроле (а) и в опыте (б).

с СПОН в эритроцитах снижен относительный уровень арахионовой кислоты.

Таким образом, можно заключить, что спектр жирных кислот эритроцитов отражает нарушение постоянства липидного состава клеточных мембран при полиорганной недостаточности.

У пациентов с СПОН также обнаружено значительное снижение уровня жирных альдегидов в плазме крови (рис. 3), что однозначно указывает на снижение уровня плазмалогенных фосфолипидов у этих больных. Так, уровень диэтилацеталей по отношению к этиловым эфирам жирных кислот в опытной группе составляет всего $0,94 \pm 0,34\%$ против $2,13 \pm 0,42\%$ ($p = 0,05$) в группе контроля. В ряде случаев сниженный уровень жирных альдегидов в плазме крови наблюдался даже в тех случаях, когда спектр жирных кислот не претерпевал значительных изменений, что указывает на прогностическую значимость этого параметра.

В ряде исследований было показано, что дефицит плазмалогенных фосфолипидов представляет собой маркер дисфункции пероксисом, являющихся основным местом синтеза последних [4, 7]. Эти органеллы обязательны для всех эукариотических клеток (кроме эритроцитов), однако наибольшее их количество присутствует в клетках печени, что связано с первостепенной ролью пероксисом в процессах детоксикации. В пероксисомах продемонстрировано наличие оксидаз, продуцирующих перекись водорода для окисления таких субстратов, как фенол, муравьиная кислота, формальдегид, этанол и др., и каталаз, обеспечивающих защиту структурных компонентов клеток от воздействия образующейся перекиси [7]. Имеются сведения, что пероксисомные ферменты катализируют около 50 биохимических реакций, среди которых окисление жирных кислот с очень длинной цепью, детоксикация глиоксилата, катаболизм аминокислот [4, 7].

Пероксисомы связаны и с метаболизмом холестерина [5, 6], что подтверждается снижением его содержания в плазме крови и некоторых тканях при дефиците этих органелл. В проведенном нами исследовании у пациентов также отмечали низкий уровень общего холестерина плазмы крови ($3,22 \pm 0,74$ ммоль/л ($p = 0,05$)). Следовательно, этот факт с уче-

том вышесказанного может быть еще одним доказательством дисфункции пероксисом при СПОН.

В современных литературных источниках указано, что молекулы плазмалогенных фосфолипидов могут легко быть окислены активными формами кислорода. Принято считать, что окисление жирного альдегида в sn-1-положении остатка молекулы глицерола снижает вероятность окисления ПНЖК, находящейся в sn-2-положении глицерола. Показано, что снижение уровня плазмалогенных фосфолипидов в миелине, где их содержание особенно высоко, всегда связано с интенсификацией перекисного окисления ПНЖК в мембранах клеток нервной ткани и сопровождается различными неврологическими расстройствами [4].

Следует также отметить, что при наследственных заболеваниях, связанных с нарушением биогенеза пероксисом (НБП), таких как церебροгепаторенальный синдром Цельвегера и аденолейкодистрофия, как и при полиорганной недостаточности, наблюдается нарушение функции нескольких систем органов. В частности при НБП прежде всего возникают неврологические расстройства. Как и в случае СПОН, при НБП параллельно прогрессируют неврологической симптоматики развиваются и нарушения в работе других функциональных систем (нарушения в работе печени и почек), что в зависимости от выраженности дисфункции пероксисом в большинстве случаев приводит к гибели в течение первых месяцев или лет жизни [4, 7]. При НБП также снижается уровень общего холестерина плазмы крови [7].

Таким образом, низкий уровень плазмалогенных фосфолипидов и холестерина при СПОН указывает, с одной стороны, на наступление пероксисомальной дисфункции, сопровождающейся нарушением процессов детоксикации, а с другой – на уязвимость клеточных мембран (особенно мембран нервных клеток) к атакам активных форм кислорода.

Выводы. Проведенное исследование жирных кислот и жирных альдегидов крови при полиорганной недостаточности показало следующее.

1. Состав жирных кислот плазмы приближается к спектру жирных кислот люминальной части стенки артерий: значительно возрастает уровень мононенасыщенных жирных кислот и падает – стеариновой и полиненасыщенных жирных кислот.
2. В эритроцитах отмечается сниженный уровень линолевой кислоты и повышенный – пальмитиновой кислоты и особенно – пальмитолеиновой кислоты.
3. В плазме крови выявляется дефицит жирных альдегидов и холестерина, что указывает на дисфункцию пероксисом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Курашвили Л. В., Васильков В. Г. Липидный обмен при неотложных состояниях. – Пенза, 2003.
2. Неотложная медицинская помощь / Под ред. Дж. Э. Тинтиналли и др.; Пер. с англ. – М.: Медицина, 2001.
3. Титов В. Н., Лисицын Д. М. Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина. – М.; Тверь: Триада, 2006.
4. Khan M., Singh J., Singh I. // J. Neurochem. – 2008. – Vol. 106, N 4. – P. 1766–1779.
5. Kovacs W. J., Shackelford J. E., Tape K. N. et al. // J. Mol. Cell. Biol. – 2004. – Vol. 24, N 1. – P. 1–13.
6. Mandel H., Getsis M., Rosenblat M. et al. // J. Lipid Res. – 1995. – Vol. 36, N 6. – P. 1385–1391.
7. Schutgens R. B. H., Wanders R. J. A., Niyenhuis A. et al. // Enzyme. – 1987. – Vol. 38. – P. 161–176.

Поступила 01.12.11