

Особенности жирнокислотного спектра и функциональной активности липопротеинов высокой плотности мужчин и женщин первого периода зрелого возраста, при развитии острого аппендицита осложненного местным перитонитом

Витебский государственный медицинский университет, ЦНИЛ и кафедра общей и клинической биохимии РБ, г. Витебск

Обнаружили, что при развитии аппендицита у мужчин и женщин первого периода зрелого возраста возникает, развивающаяся различными механизмами гиперальфахолестеролемиа, а так же отмечены изменения жирнокислотного спектра ЛПВП женщин, способные ограничить перекисное окисление липидов. Ключевые слова: перитонит, ЛПВП, холестерол, жирные кислоты.

S.S. Asachuk, N.Yu.Konevalova

The changes of function and fatty acid composition of the high-density lipoproteins in a men and women with appendicitis.

The high concentration of HDL cholesterol was found in men and women with appendicitis. This fact was realized by different mechanisms in men and women. Free cholesterol was increased in women's HDL and ether cholesterol is increases in men's HDL. The high activity of LCAT was determined in men and low activity in women. The concentration of polyunsaturated fatty acid is decreased in women's HDL. Maybe this fact can to promote decrease of oxidation of lipids.

Key words: peritonitis, HDL, cholesterol, fatty acids

В практике абдоминальной хирургии возникновение перитонита и смертность от этого грозного осложнения наблюдается чаще у мужчин, чем у женщин. Такая картина отслеживается до менопаузы, после этого заболеваемость и летальность у женщин уравнивается с мужчинами [3]. Одной из наиболее часто встречающихся причин, приводящих к развитию перитонита, является аппендицит [3]. В патогенезе воспалительного процесса в последнее время значительная роль отводится липопротеинам высокой плотности (ЛПВП) [6, 8]. В нашей предыдущей работе были исследованы отличия функциональной активности и жирнокислотного спектра ЛПВП у здоровых и больных аппендицитом мужчин первого и второго периодов зрелого возраста [6]. В настоящей работе сравнивали изменения функциональной активности ЛПВП и их жирнокислотного состава больных аппендицитом мужчин и женщин первого периода зрелого возраста.

Материалы и методы

Для обследования отбирались здоровые и больные мужчины в возрасте 22-35 лет и женщины в возрасте 21-35 лет, что, согласно рекомендациям, выработанным на симпозиуме по возрастной физиологии, соответствует первому периоду зрелого возраста [1]. Было обследовано 7 мужчин и 6 женщин больных острым флегмонозным и гангренозным аппендицитом, находившихся на стационарном лечении в хирургических отделениях Витебских областной и 3 городской клинических больниц. В качестве контроля были использованы 12 здоровых

мужчины и 8 здоровых женщин. Кровь забиралась в цитратные пробирки при поступлении больных в стационар до операционного вмешательства и у доноров в утренние часы через 12 часов после последнего приема пищи. Из плазмы крови выделяли ЛПВПЗ с использованием полиэтиленгликоля 20000 [5]. Суммарные ЛПВП выделяли методом химической преципитации апо-В-содержащих липопротеинов под действием гепарина в присутствии ионов марганца Mn^{2+} . Липидную фракцию ЛПВП экстрагировали смесью хлороформ: метанол (2:1). Спектр жирных кислот определяли на газовом хроматографе «ЦВЕТ 500М» согласно методике, описанной в работе [6]. Общий холестерол (ХС) ЛПВП и ЛПВПЗ определяли наборами, предоставленными коммерческой фирмой Анализ-Х (Белорусский государственный университет). Активность лецитин:холестерол-ацилтрансферазы (ЛХАТ) определяли наборами Immunotech (Чехия). Активность эфиры холестерина переносающего белка (ЭХПБ) определяли по изменению количества эфиров холестерина (ЭХС) в составе ЛПВП после инкубации цельной сыворотки при 37°C в присутствии ингибитора ЛХАТ ДТНБ [10]. Концентрация свободного холестерина (СХС) оценивалась в тесте с дигитонином [2]. Полученные результаты обрабатывались статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

У здоровых женщин, в сравнении со здоровыми мужчинами обнаружена достоверно более высокая концентрация ХС ЛПВП ($p=0,02$) (таблица 2). Высокий уровень ХС ЛПВП сочетается с высокой функциональной активностью этого класса ЛП: определяется более высокая, чем у мужчин активность ЛХАТ ($p=0,008$) и, как следствие, увеличение концентрации ЭХС ($p=0,008$), а также более высокая активность ЭХПБ ($p=0,03$). Таким образом, у здоровых женщин I возрастного периода, в сравнении с мужчинами того же возраста отмечается значительно более высокая функциональная активность ЛПВП.

ЖК	ЛПВП				ЛПВП ₃			
	Доноры		Аппендицит		Доноры		Аппендицит	
	Мужчины n=12	Женщины n=8	Мужчины n=7	Женщины n=5	Мужчины n=8	Женщины n=8	Мужчины n=7	Женщины n=5
14:0	1,53±0,18	3,05±1,02 [**]	2,05±0,49	1,8±0,3	2,39±0,2	3,0±0,46	0,51±0,11 **	2,1±0,13 [**]
15:0	0,56±0,08	0,45±0,1	0,63±0,13	0,25±0,12	0,11±0,07	0,13±0,1	Следы	0,26±0,1 [**]
15:1	0,52±0,05	0,42±0,02	1,13±0,46	0,15±0,12 *	0,15±0,06	0,13±0,08	0,02±0,02	Следы
16:0	29,31±2,69	34,25±6,42	34,79±3,7	30,4±2,25	26,14±1,38	30,46±2,86	30,12±2,1	39,76±1,07 **[**]
17:0	1,39±0,59	0,47±0,1	0,63±0,13	0,77±0,45	0,4±0,08	0,62±0,16	0,21±0,04 *	0,73±0,77
17:1	0,24±0,04	5,09±2,7 [*]	2,37±0,74 **	0,03±0,03 [**]	0,16±0,04	0,09±0,03	0,16±0,05	0,22±0,13
18:0	Следы	2,6±0,22	Следы	Следы	Следы	Следы	Следы	Следы
18:1	32,55±2,5	22,8±5,49 [*]	33,46±0,72	32,98 ±2,23	35,09±0,85	39,9±1,75 [**]	33,57±2,8	45,1±2,99 [**]
18:2	22,93±3,33	18,6±5,4	17,55±3,6	22,07±3,2	24,54±0,86	15,36±3,78 [**]	27,28±1,07 *	3,29±0,48 **[**]
18:3	5,85±0,91	5,3±1,29	1,46±0,56 **	1,91±0,55 **	3,2±0,47	2,85±0,55	2,5±0,59	1,0±0,15 **[*]
20:0	6,4±1,38	5,9±1,77	3,38±0,67	3,68±0,82	3,68±0,51	3,08±0,42	4,27±0,47	3,05±0,36 [*]
20:4	2,57±0,25	8,8±4,4	1,69±0,2 **	3,27±0,73 [**]	2,02±0,47	1,59±0,36	2,5±0,45	0,07±0,007 **[**]
20:5	3,91±1,48	8,8±4,4	3,48±1,55	2,51±1,15	3,75±0,9	2,75±0,8	4,0±0,7	4,4±1,8
Σ НЖК	37,8±2,41	42,8±5,85	40,83±3,3	37,01±1,8	32,74±1,1	37,32±2,7	36,1±1,9	45,91±0,7 **[**]
Σ МЖК	32,91±2,5	20,8±4,15 [**]	34,96±0,7	33,2±2,2 **	35,41±0,8	34,42±5,85	32,9±3,2	45,37±2,9 [**]
Σ ПЖК	29,07±3,8	34,54±3,1	24,19±3,3	29,78±2,67	31,8±1,48	19,35±4,15 [**]	30,57±4,6	8,71±2,1 *[**]
исх/пжк	1,82±0,43	1,38±0,29	2,06±0,4	1,3±0,18	1,05±0,08	2,64±0,6 [**]	1,69±0,68	7,5±2,2 **[**]

Исследование жирнокислотного спектра ЛПВП₃ (таблица 1) продемонстрировало увеличение отношения насыщенных к полиненасыщенным жирным кислотам (НЖК/ПНЖК) (p=0,02), которое, в свою очередь, за счет снижения содержания линолевой кислоты (18:2) (p=0,02), было обусловлено достоверно меньшей суммой ПНЖК (p=0,01). Вероятно, более низкий уровень ПНЖК может являться одним из факторов ограничивающих перекисное окисление липидов (ПОЛ) и перекисную модификацию ЛП. В составе ЛПВП₃ также отмечено увеличение содержания олеиновой (18:1) кислоты (p=0,02). Известно, что ЛПВП могут формироваться из нескольких источников: 1) продуцироваться энтероцитами; 2) гепатоцитами и 3) образовываться из ЛПОНП в результате липолиза [6]. Во всех случаях жирнокислотный спектр ЛПВП₃ может, в какой то степени, отражать процессы их синтеза в печени или кишечнике. Увеличение содержания олеиновой кислоты может

свидетельствовать, либо о более высокой активности микросомальной ω -десатуразной системы, либо о снижении активности продукции жирных кислот ω -ряда [4]. Учитывая то, что содержание линолевой кислоты (18:2) было неизменным, вероятнее всего, увеличение содержания олеиновой кислоты (18:1) было обусловлено более высокой активностью микросомальной ω -десатуразной системы. Жирнокислотный спектр суммарных ЛПВП отражает сумму всех процессов происходящих с ЛПВП в ходе их метаболических преобразований. Исследование жирнокислотного спектра суммарных ЛПВП продемонстрировало увеличение содержания миристиновой кислоты (14:0) ($p=0,045$), вероятно, транспортирующейся в печень с энергетической целью. Тенденция к увеличению содержания гептадеценовой кислоты (17:1) ($p=0,06$) может быть связана с более низкой, чем у мужчин активностью окисления жирных кислот с нечетным количеством углеродных атомов в периферических тканях и большей ролью печени в окислении этих жирных кислот. Учитывая увеличение содержания стеариновой кислоты и тенденцию к снижению олеиновой кислоты (18:1) ($p=0,07$), а также увеличенное содержание олеиновой кислоты в составе ЛПВП3 можно предположить, что ЛПВП доставляют в печень из периферических тканей стеариновую кислоту с целью ее последующей десатурации в микросомальной печеночной ω -десатуразной системе.

Таким образом, исследование функциональной активности ЛПВП и их жирнокислотного спектра показало, что у здоровых женщин I периода зрелого возраста в сравнении с мужчинами той же возрастной группы отмечается:

- более высокая функциональная активность ЛПВП;
- большая устойчивость ЛПВП3 к ПОЛ за счет снижения количества ПНЖК;
- возможно более высокая активность микросомальной ω -десатуразной системы печени и систем ω -окисления и окисления жирных кислот с нечетным количеством углеродных атомов.

Обследование больных аппендицитом женщин продемонстрировало увеличение содержания ХС ЛПВП ($p=0,0003$) (таблица 2), обусловленное возрастанием концентрации СХС ($p=0,02$). Увеличение содержания СХС может быть обусловлено замещением apo-AI на острофазный белок сывороточный амилоид А (САА), который способен акцептировать СХС и негативно коррелирует с активностью ЛХАТ [11]. Такая точка зрения подтверждается снижением активности ЛХАТ ($p=0,007$). Учитывая то, что активность ЭХПБ также снижается ($p=0,004$), можно предположить, что при активации воспалительного процесса снижается интенсивность сопряженного с ЭХПБ транспорта ПНЖК [8]. Исследование жирнокислотного спектра ЛПВП3 продемонстрировало тенденцию к снижению суммы ПНЖК ($p=0,07$) и увеличение отношения НЖК/ПНЖК ($p=0,03$) которые были обусловлены уменьшением содержания линолевой (18:2), линоленовой (18:3) и арахидоновой (20:4) кислот ($p=0,02$, $0,02$ и $0,005$ соответственно). Также отмечено увеличение количества пальмитиновой кислоты (16:0) ($p=0,02$). Снижение содержания

ПНЖК, может быть результатом ПОЛ, расходования с энергетической целью или снижения продукции эндогенных ПНЖК. Однако, учитывая большую устойчивость женщин к воспалительному процессу, можно предположить, что снижение количества ПНЖК является адаптивной реакцией, призванной уменьшить доставку в ткани ПНЖК. Дефицит ПНЖК в тканях способен снизить

предрасположенность к ПОЛ и продукции провоспалительных простагландинов второго ряда, обладающих значительно большей провоспалительной активностью, чем простагландины синтезирующиеся из дигомо-?-линоленовой кислоты (?6) или эйкозапентаеновых кислот(?3) [9]. Увеличение же количества пальмитиновой кислоты, вероятно, отражает увеличение их продукции в печени с энергетической целью. Исследование жирнокислотного спектра суммарных ЛПВП продемонстрировало лишь снижение количества линоленовой кислоты (18:3) ($p=0,035$) и увеличение суммы мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) (таблица 1). Такая картина, может быть обусловлена тканевым дефицитом ПНЖК и увеличением окисления ЖК с нечетным количеством атомов углерода в печени.

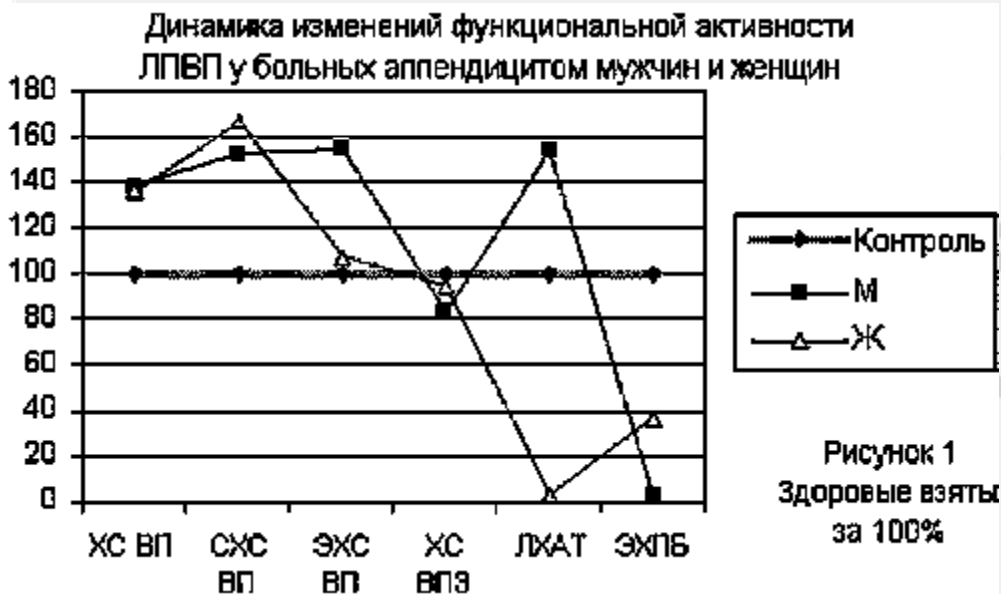
Таким образом, у женщин первого возрастного периода при активации воспалительного процесса происходят следующие изменения:

- вероятно, модифицируется структура ЛПВП и как следствие активируется сопряженный с ЛПВП транспорт СХС;
- активируется синтез насыщенных жирных кислот в печени и снижается интенсивность поставки ПНЖК в ткани.

Показатель	Доноры		Аппендицит	
	Мужчины n=14	Женщины n=6	Мужчины n=7	Женщины n=6
Хс ЛПВП мм/л	1,17±0,06	1,47±0,08 [**]	1,62±0,1 **	2,0±0,03 **[**]
СХс ЛПВП мм/л	0,34±0,04	0,47±0,1	0,52±0,03 **	0,78±0,03 **[**]
ЭХс ЛПВП мм/л	0,812±0,05	1,14±0,1 [**]	1,26±0,06 **	1,22±0,03
Хс ЛПВП ₂ мм/л	0,17±0,009	0,19±0,02	0,14±0,01 **	0,18±0,006 [**]
ЛХАТ мм/л/г ¹	10,13±2,0	41,76±11,2 [**]	15,57±0,8 **	1,4±0,18 **[**]
ЭЖПБ мкм/ч/л	5,62±1,03	11,4±1,59 [**]	0,17±0,05 **	4,2±0,15 **[**]

Сравнение изменений функциональной активности ЛПВП и их жирнокислотного спектра у больных аппендицитом женщин и мужчин, продемонстрировало как сходства, так и значительные отличия в реакции исследуемых показателей на активацию воспалительного процесса (таблица 2, рисунок 1). У мужчин и у женщин отмечено увеличение концентрации ХС ЛПВП, однако уровень ХС ЛПВП у женщин был достоверно выше, чем у мужчин ($p=0,019$). В обоих случаях увеличение ХС ЛПВП было обусловлено возрастанием концентрации СХС, однако у женщин этот показатель был выше, чем у мужчин ($p=0,0003$). У мужчин отмечено увеличение содержания ЭХС ЛПВП за счет увеличения активности ЛХАТ реакции, в то время как у женщин концентрация ЭХС оставалась неизменной, а активность ЛХАТ достоверно уменьшалась и была значительно ниже, чем у мужчин ($p<0,0001$). Концентрация ХС ЛПВП₃ у мужчин уменьшалась, а у женщин оставалась неизменной и была выше, чем у

мужчин ($p=0,016$). Учитывая значительные отличия в активности ЛХАТ, можно предположить, что у женщин в большей степени, чем у мужчин модифицируется белковый состав ЛПВП, что, возможно, способствует большей выживаемости женщин при перитоните в этом возрастном периоде.



Исследование изменений жирнокислотного спектра показало, что в составе ЛПВПЗ отношение НЖК/ПНЖК значительно выше у женщин ($p=0,02$) за счет меньшего содержания ПНЖК (18:2; 18:3; 20:4 $p<0,0001$; $p=0,06$ и $0,0001$ соответственно), в тоже время сумма МНЖК у женщин была выше чем у мужчин ($p=0,02$) за счет увеличения содержания олеиновой кислоты (18:1) ($p=0,02$). Вероятно, у женщин при активации воспалительного процесса активирована микросомальная печеночная ω -десатуразная система и увеличена поставка эндогенных мононенасыщенных жирных кислот в ткани через посредство ЛПВП. Помимо этого в составе ЛПВПЗ увеличено содержание миристиновой (14:0), пальмитиновой (16:0) кислот ($p<0,0001$ и $p=0,005$ соответственно), что, вероятно, обеспечивает большую, чем у мужчин устойчивость к ПОЛ. Исследование жирнокислотного спектра суммарных ЛПВП подтверждает предположение об ограничении воспалительного процесса посредством регуляции содержания ПНЖК в тканях. В составе суммарных ЛПВП увеличено содержание арахидоновой кислоты в сравнении с мужчинами ($p=0,036$). Учитывая, что в составе ЛПВПЗ содержание этой жирной кислоты было снижено, можно предположить, что ее увеличение в составе суммарных ЛПВП обусловлено поступлением из периферических тканей.

Таким образом, при развитии воспалительного процесса у женщин в отличие от мужчин:

- гиперальфахолестеролемиа реализуется через изменение холестерол акцепторных свойств ЛПВП за счет увеличения содержания лишь СХС;
- ограничивается транспорт ПНЖК и увеличивается перенос НЖК, что может способствовать меньшей восприимчивости к ПОЛ и, вероятно, может ограничивать продукцию простаноидов второго ряда.

Выводы

1. Здоровые женщины обладают более высокой функциональной активностью ЛПВП и, возможно, большей устойчивостью этого класса ЛП к ПОЛ за счет меньшего, чем у мужчин содержания ПНЖК;
2. У обследованных больных аппендицитом женщин гиперальфахолестеролемиа реализуется через изменение холестерол акцепторных свойств ЛПВП за счет увеличения содержания СХС, кроме того, в большей, чем у мужчин степени ограничивается транспорт ПНЖК и увеличивается перенос НЖК, что может способствовать ограничению ПОЛ.

Литература

1. Бунак В.В. Выделение этапов онтогенеза и хронологические границы возрастных периодов // Советская педагогика. -1965. №11. -С.105-119.
2. Биохимические методы исследования в клинике./Под редакцией А.А.Покровского. Москва. «Медицина» 1969. С.307-308.
3. Косинец А.Н. Осочук С.С., Асланов М.Э. Некоторые аспекты участия липидного обмена и половых гормонов в патогенезе перитонита //Фундаментальные, клинические и фармацевтические проблемы патологии человека. Сборник научных трудов ВГМУ 2002.С.323-325.
4. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэл В. Биохимия человека. - М., –1993
5. Никитин С.В., Волкова Е.И., Творогова М.Г., Титов В.Н. Сопоставление методов выделения липопротеинов высокой плотности //Клин. и лаб. диагност. – 1992. №1-2 . – С.7-9.
6. Осочук С.С. Сравнительная характеристика изменений спектра жирных кислот липопротеинов высокой плотности больных аппендицитом мужчин разного возраста.//Клин. Лаб. Диагностика №8 2003. Стр.22-33.
7. Современные методы исследования липопротеинов высокой плотности (методические рекомендации) /Под ред. Н.В.Перовой -М.: 1983. -175с.
8. Титов В.Н. Филогенез и становление транспорта в клетки жирных кислот //Клин. Лаб. Диагностика – 1999. №3. –С.3-7
9. Li Zhou and Eke Nilsson Sources of eicosanoid precursor fatty acid pools in tissues // Journal of Lipid Research, 2001 Vol. 42, 1521-1542.
10. Phoebe E. Fielding, Christopher J. Fielding, Richard J. Havel, et al. Cholesterol net transport, esterification, and transfer in human hiperlipidemic plasma // J.Clin.Invest. Vol.71. March -1983. – P. 449-460.
11. Steinmenz A., Hocke G., Saile , et al. Influence of serum amyloid A on cholesterol esterification on human plasma //Biochim. Biophys. Acta 1989. V1006, P.173-178.