

## ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ И ИХ АЛЬДЕГИДЫ КАК УЧАСТНИКИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

А.Н. Осипенко

УО "Могилевский государственный университет им. А.А. Кулешова", Республика Беларусь  
E-mail: alosipenko@yandex.ru

## FATTY ACIDS AND FATTY ALDEHYDES AS CONTRIBUTORS TO ATHEROGENESIS

A.N. Osipenko

Mogilev State University n.a. A.A. Kuleshov, Belarus

В статье представлены результаты исследования жирных кислот и их альдегидов в составе липидов крови пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) и атеросклерозом. Выявлено значительное относительное снижение содержания линолевой жирной кислоты при увеличении уровня насыщенных жирных кислот и альдегидов жирных кислот плазмы крови. Установлено повышение уровня пальмитиновой кислоты, альдегидов жирных кислот и оксигенированных фосфолипидных радикалов, снижение линолевой кислоты эритроцитов.

**Ключевые слова:** жирные кислоты, альдегиды жирных кислот, плазмалогенные фосфолипиды, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца.

The present paper shows the results of the study of fatty acids and fatty aldehydes in blood lipid profiles in patients with ischemic heart disease and atherosclerosis. A significant relative decrease of the linoleic fatty acid content was found together with an increase in the levels of saturated fatty acids and fatty aldehydes of blood plasma in diseased patients. Data also showed an increase in the levels of palmitic acid, fatty aldehydes, and oxidized phospholipid radicals as well as a decrease in the linoleic acid level in erythrocytes.

**Key words:** fatty acids, fatty aldehydes, plasmalogens, atherosclerosis, ischemic heart disease.

### Введение

В настоящее время все более актуальными становятся исследования, направленные на поиск способов восстановления метаболизма и оптимальной перфузии тканей. Для достижения этой цели необходим детальный

анализ биохимической природы сосудистой дисфункции. Показано, что при ишемии наблюдается сочетанное нарушение обмена липидов, липопротеинов (ЛП), углеводов, развитие системного воспаления и окислительного стресса [3]. При этом роль жирных кислот (ЖК) и альде-

гидов жирных кислот (ЖКА) в плазме и эритроцитах крови обусловлена их участием в обменных процессах, формировании клеточных мембран и тем, что они являются субстратом в процессах оксигенации липидов и предшественниками в синтезе простагландинов [7, 10, 11]. В соединениях с холестерином и глицерином ЖКА определяют свойства ЛП. Нарушения же в системе ЛП и дисфункция эндотелия, вызванные изменениями в продукции различных вазоактивных соединений, считаются одним из наиболее вероятных механизмов развития сосудистой дисфункции при атерогенезе [3, 5].

Цель работы: исследовать баланс жирных кислот и относительный уровень их альдегидов в эритроцитах и плазме крови при ИБС и атеросклерозе.

## Материал и методы

Работа выполнена на базе УО “Могилевский государственный университет им. А.А. Кулешова”, УЗ “Могилевская областная больница”. Объектом исследования явились 16 человек ( $57,1 \pm 1,4$  лет) с диагнозом: ИБС: атеросклероз коронарных артерий, стенокардия напряжения II–III функционального класса, артериальная гипертензия. Контролем служила кровь 16 практически здоровых добровольцев в возрасте  $37,7 \pm 3,2$  лет. Забор крови у людей опытной и контрольной групп проводился из локтевой вены в утренние часы с предварительной паузой в употреблении пищи 10–12 ч.

В отдельных сериях эксперимента изучен баланс ЖК и уровень ЖКА в эритроцитах и плазме крови 20 крыс (животных, у которых не удается получить адекватную модель атеросклероза, включая в их рацион избыток холестерина).

Преаналитический этап состоял в разделении клеточного компонента и плазмы крови путем центрифугирования (5 мин при 5000 об./мин). Далее эритроциты дважды отмывались в рН сбалансированном изотоническом растворе. Затем из фиксированных объемов плазмы крови и эритроцитарной массы путем кислотного этанолиза с последующей экстракцией гексаном готовили растворы производных альдегидов жирных кислот и жирных кислот. Далее проводился анализ состава различных жирных кислот и их альдегидов в плазме и эритроцитах крови, которые присутствовали в гексановом экстракте в виде соответствующих диэтилацеталей и этиловых эфиров [4].

Для идентификации окисленных активными формами кислорода фосфолипидных радикалов использовался метод вычитания, когда пики на хроматограмме, соответствующие кето-, эпокси- и гидропероксипроизводным радикалов фосфолипидов, исчезали. Для этого к некоторым из полученных экстрактов добавляли с избытком борогидрид натрия. Окончательная идентификация анализируемых соедине-

ний осуществлялась с помощью хромато-масс-спектрометра Finnigan DSQ II (США).

Количественная оценка анализируемых соединений, полученных из эфиров высокомолекулярных спиртов (холестерина и глицерина) с различными радикалами, производилась в процентном отношении к сумме полученных в ходе пробоподготовки этиловых эфиров жирных кислот. Оценка содержания отдельных жирных кислот производилась в процентном отношении к их общей сумме. Измерения проводились на газовых хроматографах ГХ-1000, ЦВЕТ-800 (РФ) с пламенно-ионизационными детекторами, с использованием капиллярной хроматографической колонки с фазой SE-30 (газ-носитель – азот).

Полученные данные представлены в виде значений средних арифметических ( $\bar{X}$ ) показателей сравниваемых групп и соответствующих значений доверительного интервала ( $\Delta x$ ). Нормальность распределения значений переменных в анализируемых выборках была подтверждена с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. Статистическая взаимосвязь оценивалась как линейная зависимость двух переменных (коэффициент корреляции Пирсона). Оценка статистической значимости различий между выборками осуществлялась с использованием U-критерия Манна–Уитни. Изменения считались статистически значимыми при  $p < 0,05$  [6].

## Результаты и обсуждение

В опытной группе по сравнению со здоровыми людьми в составе липидов плазмы крови наблюдается повышенное относительное содержание насыщенных жирных кислот (НЖК), причем содержание миристиновой кислоты увеличивается в два раза в сравнении с контролем, а содержание пальмитиновой и стеариновой ЖК – на 18,33 и 20,71% ( $p < 0,001$ ) соответственно (рис. 1).

У пациентов опытной группы также отмечается увеличение эндогенной полиненасыщенной дигомо- $\gamma$ -линоленовой кислоты (табл. 1), синтез которой активируется в условиях алиментарного дефицита полиненасыщенных

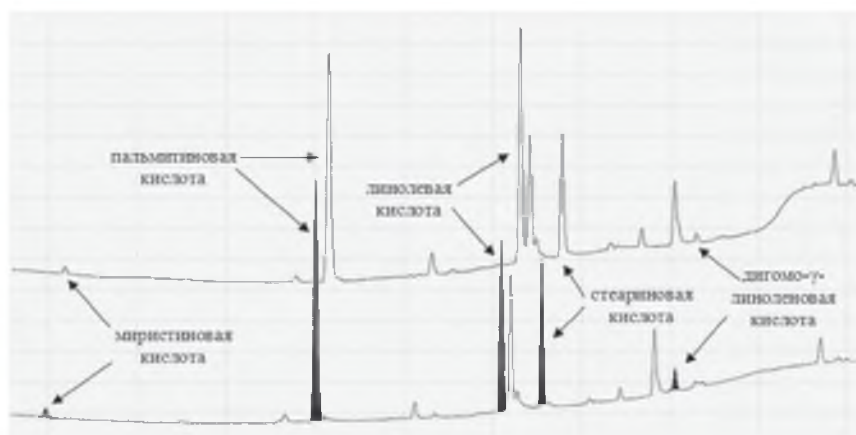


Рис. 1. Спектр жирных кислот плазмы крови здорового человека (вверху), спектр жирных кислот плазмы крови пациента с ИБС и атеросклерозом (внизу). Черным отмечены пики жирных кислот, относительный уровень которых достоверно изменяется в сравнении с контролем

Таблица 1

**Состав жирных кислот липопротеинов плазмы крови при ИБС, ассоциированной с атеросклерозом,  $\bar{X} \pm \Delta x$  ( $p=0,05$ )**

| Жирные кислоты       | Контроль, % | Опыт, %     |
|----------------------|-------------|-------------|
| Миристиновая         | 0,67±0,12   | 1,29±0,31*  |
| Пальмитолеиновая     | 1,62±0,31   | 1,52±0,39   |
| Пальмитиновая        | 26,81±1,64  | 31,72±1,05* |
| Линолевая            | 30,38±2,35  | 20,65±2,26* |
| Олеиновая            | 16,73±1,28  | 16,61±1,09  |
| Стеариновая          | 12,02±0,70  | 14,51±0,75* |
| Арахидоновая         | 6,04±0,59   | 6,80±0,51   |
| Дигомо-γ-линоленовая | 1,20±0,18   | 1,91±0,26*  |
| Докозагексаеновая    | 2,10±0,38   | 2,55±0,28   |

Примечание: статистическая значимость различий - \* -  $p < 0,001$ .

жирных кислот (ПНЖК). В целом же содержание ПНЖК, наоборот, оказалось снижено за счет линолевой кислоты. Уровень этой ЖК в образцах плазмы крови опытной группы был ниже на 32% ( $p < 0,001$ ), чем в контроле.

При исследовании взаимосвязей между уровнем отдельных жирных кислот нами установлена тесная отрицательная корреляция между относительным содержанием пальмитиновой кислоты липопротеинов плазмы крови и линолевой 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 и стеариновой ЖК ( $r = -0,59$ ;  $p < 0,05$  и  $r = -0,53$ ;  $p < 0,05$ ). Таким образом, можно предположить, что в здоровом и в больном организмах пальмитиновая кислота находится в конкурентных взаимосвязях с линолевой ЖК, а стеариновая – с олеиновой кислотой.

В больном организме наблюдается более сложная картина корреляционных взаимосвязей между отдельными жирными кислотами ЛП. Так, в плазме крови больных ИБС наблюдается положительная корреляция между стеариновой и линолевой кислотами ( $r = 0,45$ ;  $p < 0,1$ ), а также сильная положительная корреляция ( $r = 0,90$ ;  $p < 0,001$ ) между пальмитиновой и олеиновой ЖК. Корреляционная связь между пальмитиновой и стеариновой кислотами носит отрицательный характер ( $r = -0,62$ ;  $p < 0,05$ ), несмотря на тот факт, что уровень обеих этих насыщенных жирных кислот значительно возрастает. Между уровнем линолевой и олеиновой кислоты нами также выявлена тесная отрицательная корреляция ( $r = -0,92$ ;  $p < 0,001$ ).

Принимая во внимание установленные корреляционные связи и то, что пальмитиновая, стеариновая, олеиновая и линолевая кислоты являются основными ЖК триглицеридов человека [10], можно предположить, что при атеросклерозе в организме в основном образуются два типа триглицеридов: содержащие в структуре молекулы пальмитиновой и олеиновой кислоты, содержащие стеариновую и линолевую ЖК. При этом, по-видимому, при дефиците линолевой кислоты ее место может занимать стеариновая ЖК.

Важным для объяснения, с нашей точки зрения, является феномен значительного снижения относительного уровня линолевой ЖК в плазме крови без статистически значимого изменения уровня других эссенциальных

Таблица 2

**Состав жирных кислот эритроцитов при ИБС, ассоциированной с атеросклерозом,  $\bar{X} \pm \Delta x$  ( $p=0,05$ )**

| Жирные кислоты       | Контроль, % | Опыт, %     |
|----------------------|-------------|-------------|
| Миристиновая         | 0,28±0,06   | 0,39±0,07   |
| Пальмитолеиновая     | 0,18±0,13   | 0,23±0,09   |
| Пальмитиновая        | 26,03±0,80  | 27,24±0,77* |
| Линолевая            | 13,48±1,01  | 11,79±0,75* |
| Олеиновая            | 14,56±0,95  | 14,63±0,58  |
| Стеариновая          | 23,50±0,88  | 23,51±0,57  |
| Арахидоновая         | 14,52±0,50  | 14,94±0,48  |
| Дигомо-γ-линоленовая | 1,38±0,15   | 1,45±0,19   |
| Докозагексаеновая    | 4,54±0,46   | 4,43±0,31   |

Примечание: статистическая значимость различий - \* -  $p < 0,05$ .

ПНЖК. По нашему мнению, данный факт поддается логическому объяснению, если допустить, что при поглощении свободных ЖК и моноглицеридов, образовавшихся после воздействия панкреатической липазы, в больном организме в клетках слизистой тонкого кишечника усиленно поглощаются свободные ЖК (в основном, являющиеся насыщенными [10]). В меньшей степени, чем в здоровом организме, поглощаются моноглицериды, содержащие значительные количества линолевой кислоты. В результате, при синтезе новых молекул триглицеридов более активно, чем у здоровых людей, в sn-2 положении молекулы глицерина включается олеиновая кислота и менее активно – линолевая. Скорость поглощения других ПНЖК, входящих в состав фосфолипидов и эфиров холестерина, при этом не изменяется, и, как следствие, уровень этих кислот в ЛП плазмы крови практически не отклоняется от нормы.

Нарушения в балансе ЖК при ИБС отмечались и по результатам анализа эритроцитов (табл. 2). Среди жирных кислот эритроцитов изменения связаны с увеличением уровня насыщенной пальмитиновой ЖК (4,67%;  $p < 0,05$ ) и снижением уровня линолевой ПНЖК на 12,55% ( $p < 0,05$ ). При этом изменения их содержания в эритроцитах, в отличие от группы контроля, характеризовались сильной ( $r = -0,87$ ;  $p < 0,001$ ) корреляционной связью. У пациентов с ИБС также отмечалась отрицательная корреляция между уровнем пальмитиновой кислоты эритроцитов и относительным уровнем ПНЖК плазмы крови ( $r = -0,62$ ;  $p < 0,01$ ).

Следует отметить, что у крыс (животных, устойчивых к развитию атеросклероза [10]) и в плазме крови, и в эритроцитах наблюдается высокий в сравнении со здоровыми людьми относительный уровень арахидоновой ПНЖК (11,55±1,01% в плазме крови и 22,24±0,57% в эритроцитах;  $p < 0,001$ ), что должно способствовать высокой активности процессов арахидонового каскада.

Известно, что мононенасыщенные жирные кислоты в клетках синтезируются из насыщенных при помощи ферментов десатураз. При этом одним из факторов активации десатураз является недостаточное количество в пище ненасыщенных ЖК [1, 7]. Эти ферменты играют важную роль в гомеостазе путем поддержания жидкости и функциональности клеточных мембран [1]. Ранее нами было показано [9], что значительные изменения в

балансе ЖК клеток брюшной аорты человека при атеросклерозе касаются мононенасыщенных кислот. Так, фрагменты аорты с сильным атеросклеротическим поражением (наличие крупных атеросклеротических бляшек и атерокальциноза), в сравнении с таковыми без серьезных дефектов, вызванных атеросклерозом, отличались более высокими уровнями мононенасыщенных миристиолеиновой ( $0,46 \pm 0,07$  против  $0,19 \pm 0,07\%$ ;  $p < 0,05$ ) и пальмитолеиновой ( $9,40 \pm 2,57$  против  $5,34 \pm 1,25\%$ ;  $p < 0,05$ ) кислот. Уровни этих ЖК в аутоптатах общих сонных артерий без признаков атеросклероза, но полученных из тел людей с признаками выраженного атеросклеротического поражения брюшной аорты, в сравнении с аутоптатами сонных артерий без признаков атеросклероза и без выраженного атеросклероза аорты, также оказались выше, составив  $0,33 \pm 0,06$  против  $0,19 \pm 0,05\%$  ( $p < 0,05$ ) – в случае миристиолеиновой, и  $7,92 \pm 0,81$  против  $5,75 \pm 1,36\%$  ( $p < 0,05$ ) – в случае пальмитолеиновой кислот. Следует также отметить, что относительный уровень мононенасыщенной олеиновой кислоты в брюшной аорте крыс составлял всего  $32,90 \pm 1,81$  против  $40,55 \pm 5,04\%$  ( $p < 0,05$ ) у человека.

По нашему мнению, более низкий в сравнении с человеком уровень мононенасыщенной олеиновой кислоты может быть следствием высокого содержания арахидоновой ПНЖК в плазме крови крыс. Таким образом, выраженный дефицит линолевой ПНЖК в плазме крови при атеросклерозе может служить одним из факторов, который стимулирует экспрессию десатураз в миоцитах артерий, что, в конечном итоге, способствует их пролиферации.

При анализе эритроцитарной массы пациентов с ИБС нами было обнаружено увеличение уровня альдегидов жирных кислот, что отражает повышение содержания плазмалогенных фосфолипидов в составе эритроцитарных мембран в сравнении с контролем. Так, уровень диэтилацеталей ЖКА по отношению к этиловым эфирам ЖК увеличился с  $15,95 \pm 2,60$  до  $24,99 \pm 2,31\%$  ( $p < 0,001$ ).

В литературе имеются данные, что молекулы плазмалогенных фосфолипидов легко могут быть окислены активными формами кислорода. Склонность к реакциям окисления этих соединений определяется тем, что первичная -ОН группа глицерола замещена не радикалом жирной кислоты, а радикалом альдегида жирной кислоты (в енольной форме) [11]. При этом наши эксперименты показали [8], что обработка смеси этиловых эфиров различных ЖК и диэтилацеталей альдегидов жирных кислот 30–35% перекисью водорода приводит, главным образом, к резкому сокращению содержания последних и образованию значительного количества органических соединений, содержащих активный кислород (кето-, эпокси- и гидропероксипроизводных), и, следовательно, способных оказывать повреждающее действие на клетки.

Кроме того, у пациентов с ИБС в составе эритроцитарных фосфолипидов, помимо увеличения уровня ЖКА, также было повышено содержание оксигенированных фосфолипидных радикалов (с  $0,72 \pm 0,14$  до  $0,90 \pm 0,06\%$ ;  $p < 0,05$ ).

Известно, что насыщенные ЖК увеличивают вязкость

мембран [2]. Следовательно, наряду с увеличением содержания насыщенной пальмитиновой кислоты в составе мембран эритроцитов, увеличение уровня ЖКА также должно приводить к уплотнению клеточных мембран, так как по структуре углеводородной цепи они более чем на 90% являются насыщенными и на 10% – мононенасыщенными. Кроме того, существуют сведения, что эфирная связь (наличие атома кислорода у двойной углерод-углеродной связи и отсутствие карбонильного кислорода) в sn-1 положении плазмалогенных фосфолипидов способствует увеличению энергии водородных связей между полярными “головками” фосфолипидов, вследствие чего они становятся более липофильными, что в свою очередь также приводит к увеличению вязкости мембран. Кроме того, несмотря на наличие радикала ПНЖК у второго атома углерода остатка глицерола, плазмалогенные липиды имеют свойство накапливаться в рафтах плазматических мембран [12].

Полученные нами данные об увеличении уровня оксигенированных фосфолипидных радикалов в мембранах эритроцитов свидетельствуют о снижении гидрофобности мембран и увеличении их проницаемости для ионов, что требует интенсификации работы ионных насосов. Однако в силу ограничения молекулярной подвижности фосфолипидов, содержащих пальмитиновую кислоту и альдегиды жирных кислот, должны затрудняться конформационные изменения мембранных ферментов, что снижает их каталитическую активность, усугубляя патологию. В целом это вызывает нарушение электрического потенциала клеточной мембраны и смещает водно-электролитный баланс [2].

Следует отметить, что в эритроцитарной массе крыс уровень ЖКА выше, чем в эритроцитах здорового человека (уровень диэтилацеталей ЖКА составлял  $22,82 \pm 1,13\%$ ;  $p < 0,001$ ), однако уровень оксигенированных фосфолипидных радикалов – ниже ( $0,58 \pm 0,09\%$ ;  $p < 0,05$ ). При этом почти двукратно повышенный в сравнении со здоровыми людьми уровень арахидоновой ПНЖК должен приводить к более значительной текучести клеточных мембран, несмотря на увеличенное содержание ЖКА.

Повышение уровня плазмалогенных фосфолипидов отмечено нами и по результатам измерения уровня диэтилацеталей ЖКА в плазме крови пациентов с ИБС. Так, в группе контроля относительный уровень диэтилацеталей альдегидов жирных кислот составлял  $2,13 \pm 0,42\%$ , в то время как в плазме крови лиц с ИБС этот показатель был равен  $2,89 \pm 0,40\%$  ( $p < 0,05$ ). У крыс содержание ЖКА в составе ЛП крайне незначительно (уровень диэтилацеталей ЖКА составлял всего  $0,50 \pm 0,07\%$ ;  $p < 0,001$ ).

В ряде работ [3, 5] показано увеличение содержания окисленных ЛП в плазме крови больных ИБС. Следовательно, учитывая, что ЖКА могут быть причиной образования метаболитов, содержащих активный кислород, кажется вероятным, что повышенная восприимчивость липопротеинов низкой плотности к окислительной модификации при ишемии миокарда и атеросклерозе является, в том числе, следствием более высокого по сравнению с контролем содержания в плазме крови плазмалогенных фосфолипидов.

## Заключение

Проведенное исследование баланса жирных кислот и уровня их альдегидов в крови показало:

1. Плазма крови при атеросклерозе и ишемии миокарда характеризуется увеличением относительного уровня насыщенных жирных кислот и снижением уровня полиненасыщенной линолевой кислоты. Это может обуславливать увеличение уровня мононенасыщенных жирных кислот в артериальных сосудах путем активации клеточных десатураз.
2. Атеросклеротическое поражение сосудов характеризуется повышением уровня насыщенной пальмитиновой кислоты, альдегидов жирных кислот, оксигенированных фосфолипидных радикалов и снижением линолевой кислоты эритроцитов, что отражает нарушения постоянства состава клеточных мембран и должно приводить к увеличению их вязкости и снижению гидрофобности.
3. При атеросклерозе и ишемии миокарда также выявляется увеличение уровня альдегидов жирных кислот липопротеинов плазмы крови, что может способствовать окислительной модификации последних.

## Литература

1. Акимов М.Г., Безуглов В.В., Бобров М.Ю. и др. Липиды и рак. Очерки липидологии онкологического процесса / под ред. В.В. Безуглова, С.С. Коновалова. – СПб. : Прайм-Еврознак, 2009. – 352 с.
2. Болдырев А.А., Кяйвяряйнен Е.И., Илюха В.А. Биомембранология : учебное пособие. – Петрозаводск : Изд-во Кар НЦ РАН, 2006. – 226 с.
3. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы общей патологии. – СПб. : Элби, 2000. – Ч. 2. Основы патохимии. – 688 с.
4. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов. – М. : Мир, 1975. – 322 с.

5. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. – СПб. : Питер Пресс, 1995. – 304 с.
6. Медик В.А., Токмачев М.С., Фишман Б.Б. Статистика в медицине и биологии : руководство : в 2 т. / под ред. Ю.М. Комарова. – М. : Медицина, 2000. – Т. 1. Теоретическая статистика. – 455 с.
7. Назаров П.Е., Мягкова Г.П., Гроза Н.В. Полиненасыщенные жирные кислоты как универсальные эндогенные биорегуляторы // Вестник МИТХТ. – 2009. – Т. 4, № 5. – С. 3–19.
8. Осипенко А.Н. Жирные кислоты и жирные альдегиды в условиях моделирования гипоксии и при сосудистой патологии // Вестник Могилевского государственного университета им. А.А. Кулешова. – 2009. – № 4 (34). – С. 191–199.
9. Осипенко А.Н., Акулич Н.В., Бирюков А.Е. и др. Особенности баланса жирных кислот крови и сосудистых миоцитов при атеросклерозе // Кардиология в Беларуси. – Минск, 2011. – № 6 (19). – С. 42–51.
10. Титов В.Н., Лисицын Д.М. Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина. – Тверь : Триада, 2006. – 672 с.
11. Khan M., Singh J., Singh I. Plasmalogen deficiency in cerebral adrenoleukodystrophy and its modulation by lovastatin // J. Neurochem. – 2008. – Vol. 106, No. 4. – P. 1766–1779.
12. Magnusson C.D., Haraldsson G.G. Ether lipids // Chem. Phys. Lipids. – 2011. – Vol. 164, No. 5. – P. 315–340.

Поступила 08.02.2012

## Сведения об авторе

**Осипенко Александр Николаевич**, специалист Регионального центра коллективного пользования приборами и исследовательским оборудованием (РЦКП), главный специалист Могилевской областной лаборатории аналитического контроля УО «Могилевский государственный университет им. А. А. Кулешова». Адрес: 212026, Республика Беларусь, г. Могилев, ул. Комонавтов, 1.  
E-mail: alosipenko@yandex.ru.