

УДК 616.153.112-94
©Коллектив авторов

ПЕРЕНОСЧИКИ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В КРОВИ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Г.В.РОДОМАН¹, Т.И.ШАЛАЕВА¹, Г.Е.ДОБРЕЦОВ²

¹Российский государственный медицинский университет минздрава РФ, Москва

²НИИ физико-химической медицины минздрава РФ, Москва
Москва, ул. Велозаводская, 1, ГКБ № 13, тел-факс (095)274-4488.

Исследована связь между формой и степенью тяжести острого панкреатита и концентрациями переносчиков неэстерифицированных жирных кислот (альбумин) и эстерифицированных жирных кислот (липопротеины) в крови. Для некротической формы панкреатита характерно коррелированное (совместное) снижение уровня альбумина и липопротеинов крови; при отечной форме подобной корреляции между альбумином и липопротеинами нет. При сохранении достаточно высокого уровня альбумина (не ниже 32 г/л) и липопротеинов (сумма холестерина+триглицериды не ниже 260 мг/дл) исход панкреатита благоприятный в 100% случаев, но, если уровень обоих показателей ниже этих границ, то форма заболевания тяжелее и прогноз хуже. Поэтому данные показатели можно рассматривать как прогностические.

Как альбумин, так и липопротеины выходили в перитонеальный экссудат, их концентрация в экссудате в среднем составляла соответственно 73% и 53% от концентрации в сыворотке. При некротическом панкреатите соотношение концентраций выпот/сыворотка для альбумина коррелировало с аналогичным соотношением для липопротеинов ($r = 0,7$). Рост доли липопротеинов и альбумина в выпоте по отношению к крови происходит одновременно со снижением уровня липопротеинов и альбумина в крови (коэффициент корреляции $r = -0,47$ для липопротеинов и $-0,57$ для альбумина); это позволяет предполагать, что одной из главных причин снижения уровня белков в крови является их выход в выпот.

Ключевые слова: панкреатит, альбумин, жирные кислоты, триглицериды, экссудат

ВВЕДЕНИЕ. Острый панкреатит является опасным и довольно частым заболеванием, патогенез которого пока не до конца ясен [1]. Давно обсуждается роль жирных кислот в возникновении и развитии панкреатита, но данные весьма противоречивы и какая-либо приемлемая концепция все еще не появилась. Более 30 лет известно, что при очень высоком уровне триглицеридов (ТГ), превышающем норму в 10 и более раз, возникает угроза острого панкреатита [2-8]. В этих случаях предполагается, что липазы поджелудочной железы гидролизуют ТГ и образовавшиеся неэстерифицированные жирные кислоты (НЭЖК) повреждают мембраны ацинарных клеток [2,9-12]. Однако в большинстве случаев острого панкреатита не приходится говорить о столь высоком уровне ТГ. В этой обычной ситуации связь между уровнем ТГ, уровнем НЭЖК в крови и развитием панкреатита в разных публикациях весьма противоречива, а некоторые авторы вообще ее не усматривают [13,14].

Мы попытались изучить динамику двух разных транспортных форм жирных кислот при остром панкреатите, а также о связи между ними. Как известно, жирные кислоты, необходимые для энергетики, доставляются в клетки кровью в двух основных транспортных формах: неэстерифицированные жирные кислоты переносятся альбумином, а эстерифицированные в виде эфиров холестерина или глицерина переносятся в основном липопротеинами низкой и очень низкой плотности [15,16]. В биохимическом анализе крови эстерифицированные жирные кислоты присутствуют частично в виде триглицеридов, а частично – в виде показателя «холестерин», поскольку основная часть холестерина сыворотки крови ацилирована ими. Однако эти показатели являются лишь косвенными. Загрузка же альбумина жирными кислотами вообще не контролируется.

Для того чтобы проследить одновременно за обеими транспортными формами жирных кислот, мы использовали два флуоресцентных экспресс-микрометода, предложенных в последние годы в НИИ физико-химической медицины. Оба основаны на применении флуоресцентных зондов, добавляемых в разбавленную сыворотку крови. Первый из них позволяет измерить объем неполярной фазы липопротеинов в основном низкой и очень низкой плотности, которая формируется эфирами жирных кислот с холестерином и глицерином (триглицеридами) [17,18]; при этом основная часть флуоресцентного сигнала обусловлена эстерифицированными жирными кислотами. Второй метод позволяет определить концентрацию альбумина, а также состояние его связывающих центров, которые изменяются при связывании альбумином неэстерифицированной жирной кислоты [19,20]. Полученные нами недавно данные показали, что при ряде заболеваний (в том числе при остром панкреатите) контроль за связывающими центрами альбумина в крови может дать новую важную информацию о форме, степени тяжести и прогнозе развития заболевания, которой не было в рутинном анализе крови [20-22].

Оба метода доступны клиническим лабораториям, что немаловажно с точки зрения перспектив данного исследования.

Эти показатели были измерены в сыворотке крови, а также в перитонеальном экссудате больных острым панкреатитом; сравнение крови с экссудатом позволяет проследить за характером фильтрации белков – альбумина и липопротеинов – через стенки сосудов брюшной полости [23].

Оказалось, что между обеими транспортными формами жирных кислот при панкреатите существует связь.

МЕТОДИКА. Обследовано 49 пациентов с острым панкреатитом, поступивших в клинику общей хирургии РГМУ в 1999 – 2000 гг.: 23 больных с острой отечной и 26 больных с некротической формой острого панкреатита, из последних 7 случаев с летальным исходом. При наблюдении за больными в динамике было получено 214 образцов сыворотки крови.

Концентрацию липопротеинов низкой и очень низкой плотности в сыворотке и в поте определяли флуоресцентным методом [17] с наборами реактивов «Холестерин и триглицериды» производства НИМВЦ ЗОНД (г.Москва) на анализаторе концентрации липидов АКЛ-01 (Завод им.Дегтярева, г.Ковров). Согласно стандартной методике, результаты выражают в виде суммы холестерина и триглицеридов (ХС+ТГ), причем результат анализа определяется в основном не свободным, а эстерифицированным холестерином плюс триглицериды.

Для характеристики альбумина использовали альбуминовый флуоресцентный тест [19,24] с наборами реактивов «Альбумин» НИМВЦ ЗОНД на том же анализаторе АКЛ-01 по стандартной методике. Метод позволяет измерить 2 показателя: общую концентрацию альбумина (ОКА) и так называемую «эффективную» концентрацию альбумина (ЭКА). Этот показатель зависит от загрузки альбумина жирными кислотами: в молекуле альбумина есть несколько центров связывания НЭЖК и в норме примерно одна молекула неэстерифицированной жирной кислоты связана с молекулой альбумина. При этом показатель ЭКА приближается к ОКА, то есть в норме отношение ЭКА/ОКА близко к 1; если же альбумин обеднен жирными кислотами, то ЭКА снижается и отношение ЭКА/ОКА становится существенно ниже 1 [24]. Отношение ЭКА/ОКА уже не зависит от концентрации самого альбумина (от ОКА) и характеризует только состояние связывающих центров в его молекуле [20]. На основе двух показателей рассчитывали индекс токсичности ИТ = (ОКА/ЭКА)-1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ: Среди 214 исследованных образцов крови есть образцы с высоким уровнем липидов: самая высокая величина ХС+ТГ составила 696 мг/дл. Однако значения выше 400 мг/дл, особенно при некротической форме, встречались редко. (То есть гиперлипидемия не типична для острого панкреатита). Напротив, снижение уровня ХС+ТГ наблюдалось часто, достигая иногда 140 мг/дл и даже меньше (что практически не встречается в норме). Как показали наши исследования, именно низкий уровень липидов свидетельствует о неблагоприятном прогнозе (см.ниже).

Существует ли связь между измеренными показателями, формой и тяжестью заболевания? Как показано в табл., при переходе от отечной формы панкреатита к некротической с неблагоприятным исходом снижается средняя концентрация и альбумина (ОКА), и липопротеинов (ХС+ТГ). Эффективная концентрация альбумина (ЭКА) снижена во всех случаях, но так, что индекс токсичности (ИТ) оказался одинаково повышенным во всех группах примерно в 3 раза по сравнению со средней нормой.

Если перейти от средних величин к индивидуальным (не разделяя пациентов на группы), то выявляются показатели, которые имеют прогностическое значение. Особенно информативны наихудшие показатели за весь период наблюдения, а именно: наименьшая ОКА, наименьшая ЭКА (это отмечалось в предыдущей работе [25]), а также наименьший уровень ХС+ТГ (как выяснилось теперь). У пациентов с минимальной ОКА (ниже 32 г/л) летальность составила 37%, а выше - 0%. У пациентов с наихудшей ЭКА (< 20 г/л) летальность составила 47%, а выше 20 – 0%. Оказалось, что и уровень ХС+ТГ

тоже несет информацию о прогнозе: если наихудшее значение ХС+ТГ ниже 260 мг/дл, то летальность высока (около 27%), а, если выше 260, то летальные исходы не были зарегистрированы.

Таким образом, высокие значения ОКА, ЭКА и ХС+ТГ – признак благоприятного прогноза развития панкреатита, а низкие – неблагоприятного. Особенно информативен показатель ЭКА, отражающий загрузку альбумина жирными кислотами. При этом важно, что наихудшие значения появляются не обязательно в конце периода наблюдения, а часто – в середине и даже в начале (когда иные показатели крови еще не позволяют судить о тяжести состояния); их появление может значительно предшествовать клиническому ухудшению состояния. Более того, временное падение ОКА, ЭКА и ХС+ТГ ниже критических значений может наблюдаться даже в периоды кажущегося улучшения состояния.

Общее снижение показателей по группам пациентов еще не свидетельствует о какой-либо связи между ними. Существует ли корреляция между индивидуальными значениями альбуминовых и липидных показателей при панкреатите? Оказалось, что при отечной форме панкреатита корреляции нет (у большинства больных просто не происходит заметного снижения ОКА и ХС+ТГ), но она появляется при некротической форме (рис.1). Коэффициент линейной корреляции между ОКА и ХС+ТГ довольно высок и равен $r = 0,55 \pm 0,07$. Следовательно, при некротической форме снижение концентрации альбумина сопровождается снижением уровня липопротеинов.

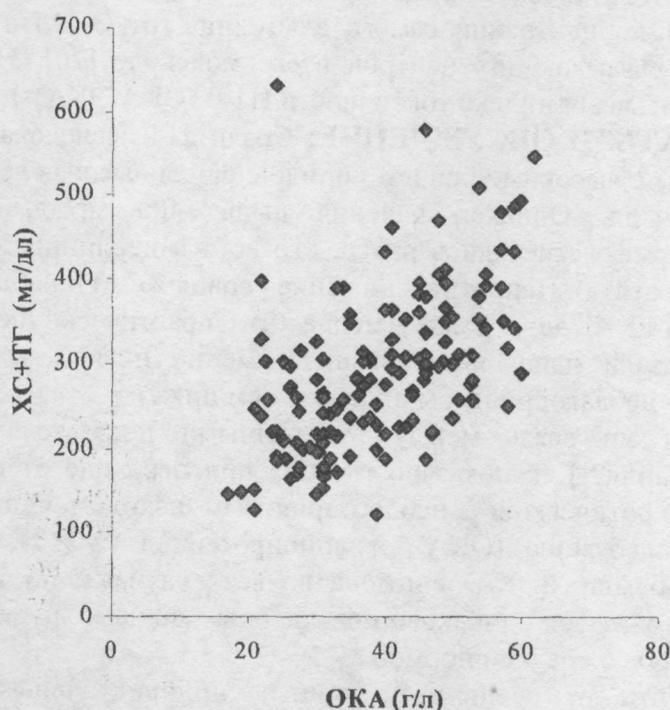


Рисунок 1.
Связь между величинами ОКА и ХС+ТГ сыворотки при остром некротическом панкреатите.

Индекс ИТ отражает степень загрузки альбумина жирными кислотами (см. выше). Поскольку он не зависит от формы заболевания (табл.), то можно думать,

что при некротическом панкреатите концентрация переносимых альбумином неэстерифицированных жирных кислот снижается пропорционально концентрации самого альбумина. Одновременно снижается и уровень эстерифицированных жирных кислот (показатель ХС+ТГ). Получается, что обе формы транспортируемых кровью жирных кислот изменяются коррелированно, и, чем ниже их уровень, тем хуже прогноз заболевания.

Интересно, что у большинства больных с острым отечным панкреатитом обнаруживается отрицательная корреляционная связь средней силы между изменениями ИТ и ЛП в ближайшие дни обследования (коэффициент корреляции $-0,4 \pm 0,15$), то есть тенденция такова, что, если в следующем обследовании ИТ возрос, то ЛП снизились. При некротическом панкреатите подобная связь отсутствует.

Таблица. Средние значения флуоресцентных показателей при остром панкреатите.

Формы панкреатита	ОКА	ЭКА	ИТ	ХС+ТГ
Отечный	$49,5 \pm 1$	$35,2 \pm 0,9$	$0,44 \pm 0,03$	363 ± 12
Некротический с благоприятным исходом	$40,4 \pm 1,1$	$29,6 \pm 0,9$	$0,42 \pm 0,02$	304 ± 9
Некротический с неблагоприятным исходом	$35,3 \pm 1,8$	$25,5 \pm 1,7$	$0,45 \pm 0,05$	247 ± 12

При развитии панкреатита альбумин крови начинает выходить в перитонеальный экссудат (выпот). Подобное наблюдалось и при перитонитах не панкреатического происхождения [23]. В среднем концентрация альбумина в выпоте составляет примерно 73% от его концентрации в сыворотке крови (хотя диапазон вариаций велик: 20 - 120%).

Одновременно в выпот выходят и липопротеины, так что в среднем их концентрация в выпоте составляет около 53% от концентрации в сыворотке (колебания от 0 до 100%). Причем оказалось, что между выходом альбумина и выходом липопротеинов есть корреляция. Однако концентрации этих компонентов в выпоте зависят от их концентраций в крови. Поэтому корреляцию между выходом альбумина и липопротеинов можно выявить только после введения соответствующей коррекции на их уровень в крови. Это можно сделать следующим образом.

Как было показано ранее [21,23], концентрация альбумина в выпоте тем выше, чем выше концентрация альбумина в крови. Подобная тенденция обнаружилась теперь и в случае липопротеинов при некротическом панкреатите. Поэтому можно ввести соотношение концентраций альбумина в выпоте и в сыворотке - $ОКАв/ОКАс$ и аналогично для липопротеинов - $(ХС+ТГ)в/(ХС+ТГ)с$. Оказалось, что между этими показателями существует довольно сильная корреляция (рис.2): $r = 0,7 \pm 0,1$, то есть выход липопротеинов в выпот коррелирует с выходом альбумина. Правда, наклон прямой на рис.2 меньше единицы, то есть доля липопротеинов, выходящая в выпот, ниже, чем доля выходящего туда альбумина. По-видимому, при панкреатите даже такие крупные частицы как липопротеины (диаметр более 12 нм) проходят через тканевые барьеры в выпот, хотя более мелкие молекулы альбумина (средний размер около 6 нм) выходят лучше. Вероятно, эта корреляция концентрационных индексов альбумина и липопротеинов кровь/выпот может служить показателем фильтрующей способности воспаленных тканей брюшной полости, через которые выходит экссудат.

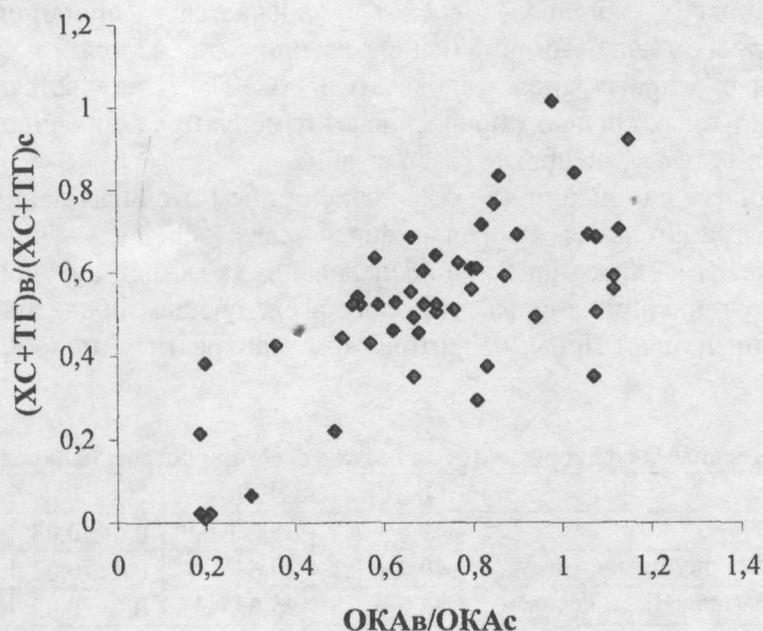


Рисунок 2.
Корреляция между альбуминовым индексом ОКАв/ОКАс и липопротеиновым индексом $(\text{ХС+ТГ})\text{в}/(\text{ХС+ТГ})\text{с}$ при остром панкреатите.

Таким образом, при панкреатите наблюдаются 2 процесса: (1) снижение концентраций альбумина и липопротеинов в крови и (2) увеличение их выхода в выпот, то есть рост индексов ОКАв/ОКАс и $(\text{ХС+ТГ})\text{в}/(\text{ХС+ТГ})\text{с}$. Обе эти тенденции наблюдаются не только в среднем по группам, но и индивидуально. Поэтому возникает заметная отрицательная корреляция между индивидуальными значениями показателей ОКАс и ОКАв/ОКАс и аналогично для ХС+ТГ (рис.3). При его построении из массива 53 точек были исключены 5, у которых индексы ЭКА/ОКА в выпоте были резко снижены (более, чем на 0,3) по сравнению с сывороткой, что свидетельствует о деградации альбумина в выпоте ферментами поджелудочной железы при разгерметизации сальниковой сумки [21].

Разумеется, корреляция ($r = -0,57$ для альбумина и $-0,47$ для липопротеинов) несколько размыта из-за индивидуальных различий между пациентами. Если же рассчитать корреляцию при повторных взятиях крови и выпота у одного пациента, то она оказывается более высокой. Подобные данные были получены у 8 пациентов и по показателю ХС+ТГ дали следующие индивидуальные коэффициенты корреляции: $-0,96$; $-0,96$; $-0,95$; $-0,85$; $-0,79$; $-0,72$; $-0,67$ и $-0,33$ (в среднем по 8 пациентам $r = -0,78$).

Полученные результаты показывают, что в группе исследованных пациентов типичными были случаи гиполипидемии. Оба переносчика жирных кислот – альбумин и липопротеины (в основном низкой и очень низкой плотности) – тесно связаны с развитием панкреатита, при некротической форме которого они коррелировано изменяются. Типичные события при некрозе – это снижение уровня альбумина и липопротеинов в сыворотке и их выход в перитонеальный экссудат. Если концентрация каждого из них в крови остается

выше критического уровня, то прогноз развития заболевания благоприятный, а при снижении ниже критического уровня прогноз ухудшается.

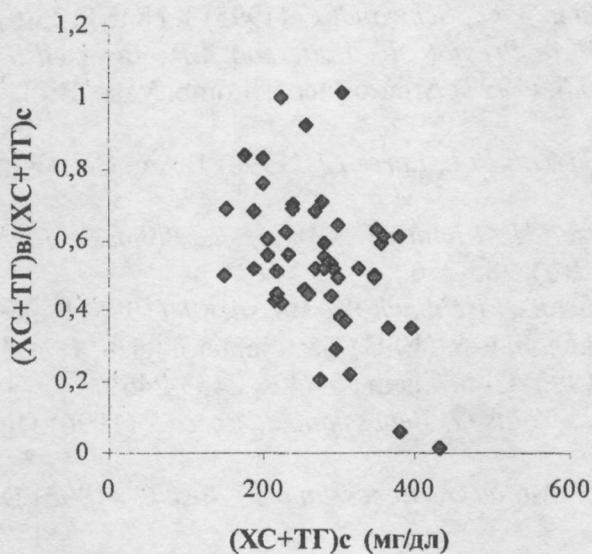
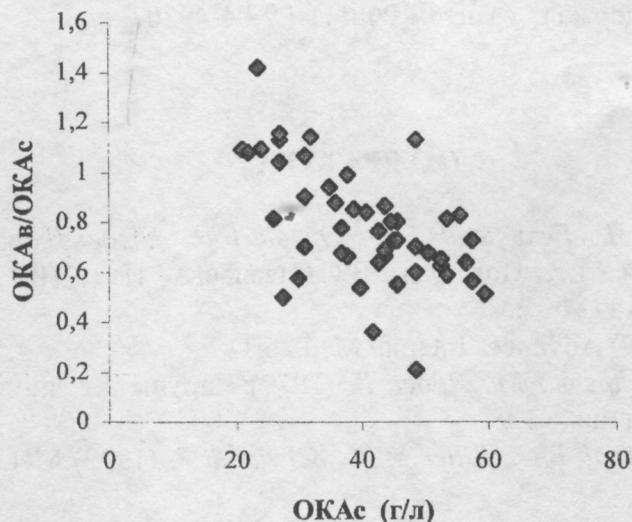


Рисунок 3.

Корреляция между индексом ОКАв/ОКАс и концентрацией альбумина в сыворотке (верхний рисунок) и между индексом $(\text{ХС+ТГ})\text{в}/(\text{ХС+ТГ})\text{с}$ и концентрацией ХС+ТГ в сыворотке (нижний рисунок) при остром панкреатите.

Куда уходят эти белки из крови? Результаты работы показывают, что часть попадает в выпот, но существует также мнение, что белок может исчезать в результате процессов катаболизма. Катаболизм, вероятно, затронул бы альбумин и липопротеины в разной степени. Между тем данные показывают, что их концентрации изменяются коррелированно. Более того, появление этих белков в экссудате происходит коррелированно с их исчезновением из крови. Поэтому представляется вполне вероятным, что выход альбумина и липопротеинов в

перитонеальный экссудат – одна из главных причин снижения их уровня в крови при некротическом панкреатите. Это предположение предстоит проверить в дальнейшем.

Авторы благодарны Е.Д.Сыромятниковой за проведение лабораторных анализов. Работа поддержана грантом РФФИ 99-04-49302.

ЛИТЕРАТУРА

1. Филимонов М.И., Гельфанд Б.Р., Орлов Б.Б., Цыденжапов Е.Ц. (2000) Острый панкреатит. Под ред. В.С.Савельева. Изд. ИЦССХ им. А.Н. Бакулева, Москва, 60 с.
2. Havel R.J. (1969) *Advances Internal Med.*, p.117.
3. Галлер Г., Ганефельд М., Яросс В. (1979) Нарушения липидного обмена. Москва, Медицина, с.138.
4. Richter W.O., Jacob B.G., Ritter M.M., Schwandt P. (1992) *Metabolism*, **41**(10), 1100-1105.
5. Glueck C.J., Lang J., Hamer T., Tracy T. (1994) *J. Lab. Clin. Med.*, **123**(1), 59-64.
6. Pschierer V., Richter W.O., Schwandt P. (1995) *J. Nutr.*, **125**(6), 1490-1494.
7. Rouis M., Dugi K.A., Previato L., Patterson A.P., Brunzell J.D., Brewer H.B., Santamarina-Fojo S. (1997) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **17**(7), 1400-1406.
8. Jabbar M.A., Zuhri-Yafi M.I., Larrea J. (1998) *J. Am. Coll. Nutr.*, **17**(5), 458-461.
9. Mossner J., Bodeker H., Kimura W., Meyer F., Bohm S., Fischbach W. (1992) *Int J Pancreatol*, **12**(3), 285-296.
10. Kimura W., Secknus R., Fischbach W., Mossner J. (1993) *Pancreas*, **8**(1), 70-79.
11. Agarwal N., Pitchumoni C.S. (1993) *Gastroenterologist.*, **1**(2), 115-128.
12. Nevalainen T.J. (1993) *Clin. Chem.*, **39**(12), 2453-2459.
13. Paye F; Chariot J; Molas G; Benessiano J; Roze C. (1996) *Dig Dis Sci*, **41**(10), 1959-1965.
14. Paye F., Chariot J., Molas G., Benessiano J., Roze C. (1995) *Dig Dis Sci*, **40**(3), 540-545.
15. Тимов В.Н. (1998) *Кардиология*, № 1, 43-49.
16. Тимов В.Н. (1999) *Успехи физиологических наук*, **30**, № 3, 22-35.
17. Лапшин Е.Н., Добрецов Г.Е., Красовицкий Б.М., Рухтин А.Н., Скрипкина В.Т., Курек Н.К. (1992) *Клиническая лабораторная диагностика*, № 5-6, 40-43.
18. Дворкин В.И., Маграчева Е.Я., Олферьев А.М., Лапшин Е.Н., Рухтин А.Н., Климов А.Н. (1992) *Клиническая лабораторная диагностика*, № 5-6, 43-46.
19. Грызунов Ю.А., Лукичева Т.И. (1994) *Клиническая лабораторная диагностика*, № 5, 25-27.
20. Лопухин Ю.М., Добрецов Г.Е., Грызунов Ю.А. (2000) *Бюлл. экспер. биол. и мед.*, **130**, № 7, 4-8.
21. Родоман Г.В., Шалаева Т.И., Добрецов Г.Е., Коротаев А.Л. (1999) *Бюлл. экспер. биол. и мед.*, **128**, № 12, 660-662.

22. *Родоман Г.В., Шалаева Т.И., Добрецов Г.Е., Коротаев А.Л.* (1999) Вестник хирургии им. И.И.Грекова (С.-Петербург), **158**, № 3, 42-45.
23. *Родоман Г.В., Шалаева Т.И., Добрецов Г.Е., Коротаев А.Л.* (1999) Вопр. мед. хим., **45**, 407-415.
24. *Грызунов Ю.А., Иванов А.И., Белова Е.С.* (1994) В кн.: Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. Под ред. Ю.А.Грызунова и Г.Е.Добрецова. Москва: Ириус, 91-105.
25. *Родоман Г.В., Добрецов Г.Е., Шалаева Т.И.* (2000) Вестник РГМУ, №5(15), 41-46.

Поступила 17.04.01

BLOOD FATTY ACID TRANSPORTERS IN ACUTE PANCREATITIS

RODOMAN G.V., SHALAEVA T.I., DOBRETSOV G.E.*

Russia State Medical University, Moscow
Research Institute for Physical Chemical Medicine, Moscow 199828
Pankreatitis, albumin, fatty acids, exsudate.

A relationship between of acute pancreatitis severity and concentrations of blood transporters of nonesterified fatty acids (albumin) and esterified fatty acids (lipoproteins) was studied. In necrotizing pancreatitis, there was a positive correlation between decrease of albumin and lipoprotein concentrations in serum, but no correlation was in edematous pancreatitis. High levels of serum albumin (> 32 g/L) and lipoproteins (cholesterol+triglycerides, CH+TG, > 260 mg/dL) had good prognostic value in terms of favourable development of this disease, whereas lower concentrations indicated unfavourable prognosis.

Both albumin and lipoproteins appeared in the peritoneal exsudate where they represented 73 and 53% of the serum concentrations, respectively. Albumin efflux from blood to the exsudate correlated with lipoprotein efflux ($r = 0.7$) in necrotizing pancreatitis. The latter suggests that proteins penetrated together the tissue barrier blood/peritoneal space. The less albumin and lipoprotein concentrations in serum, the more they are in the exsudate ($r = -0.57$ and -0.47 , respectively); probably, their concentration decrease in blood is due to their efflux into the exsudate.

Key words: panereatitis, albumin, fatty acids, triglycerides, exsudate.