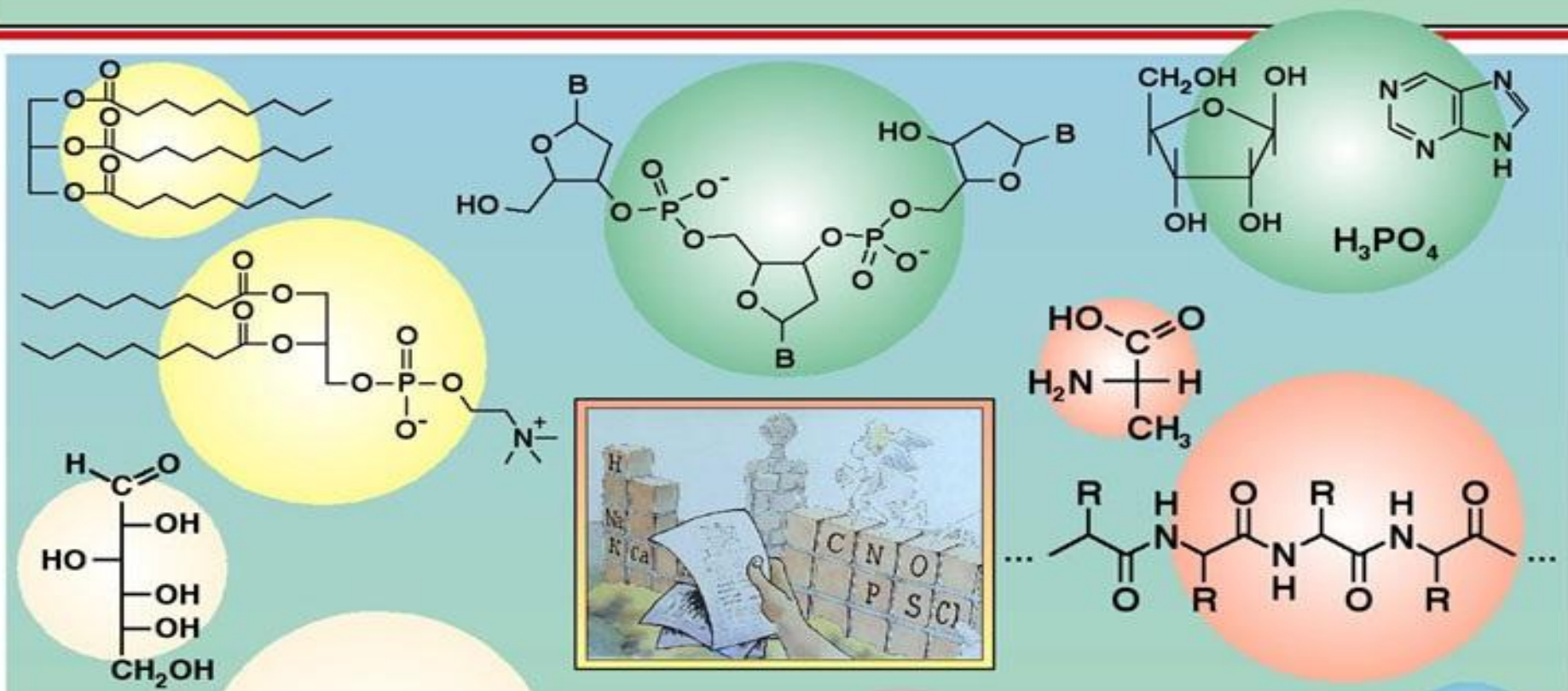


Лабораторная оценка липидных показателей



Гильманов Александр Жанович

Кафедра лабораторной диагностики ИПО БГМУ

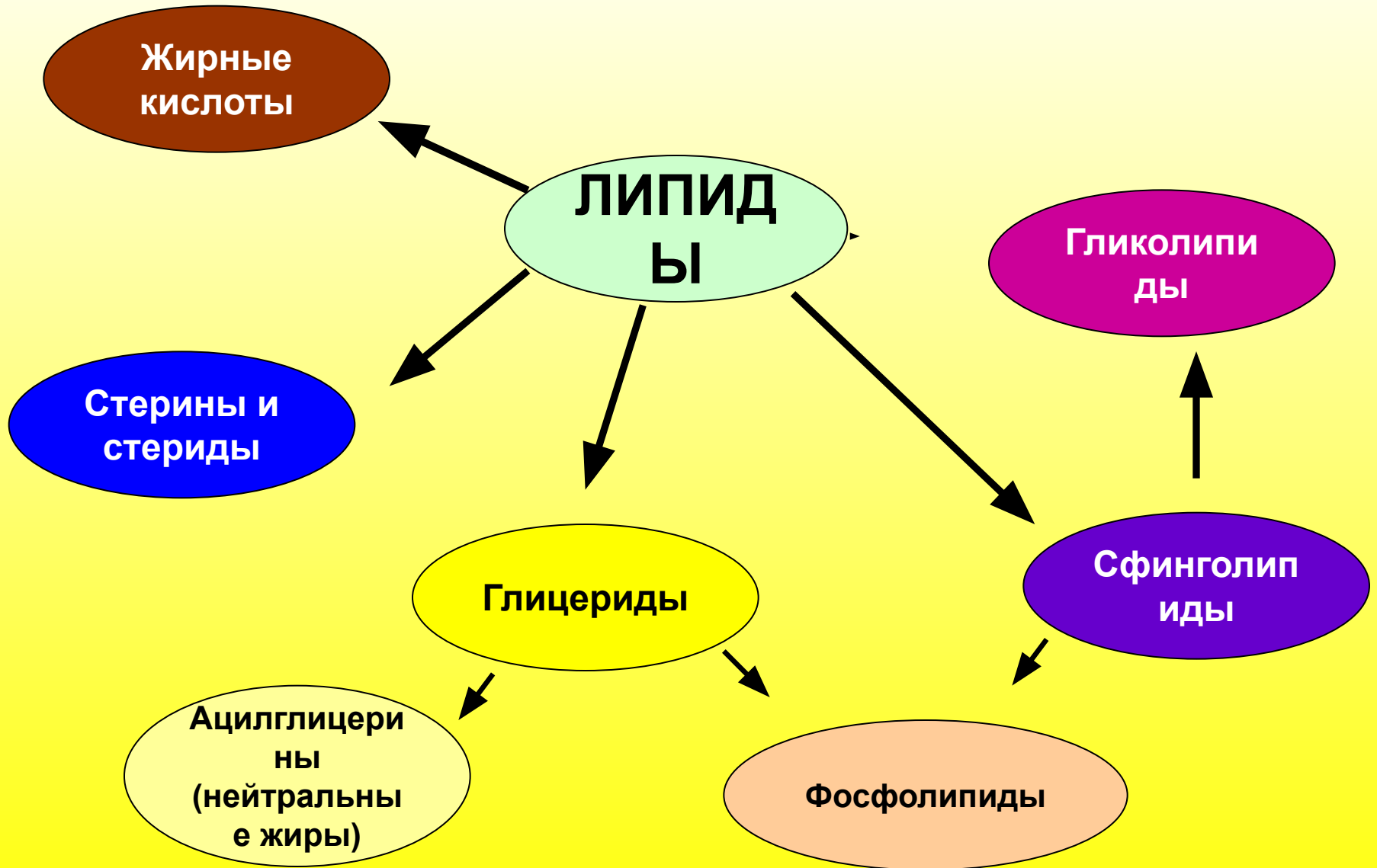
Липиды

органические соединения различной структуры

- содержат остатки **спиртов** и **жирных кислот**, связанные сложноэфирной связью,
- **нерастворимы в воде** и **хорошо растворимы в органических растворителях** (эфир, бензин, бензол, четыреххлористый углерод и др.)

Небольшая часть липидов в воде растворима (желчные кислоты, короткоцепочечные жирные кислоты...)

Классификация



Жирные кислоты

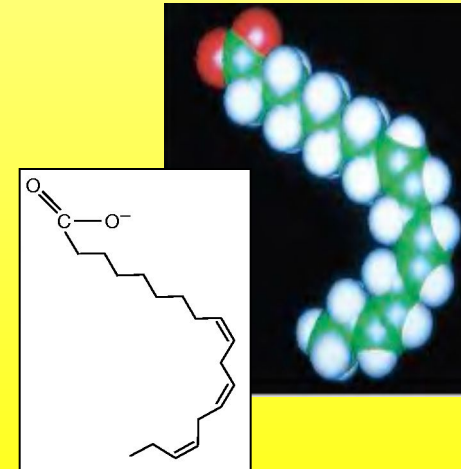
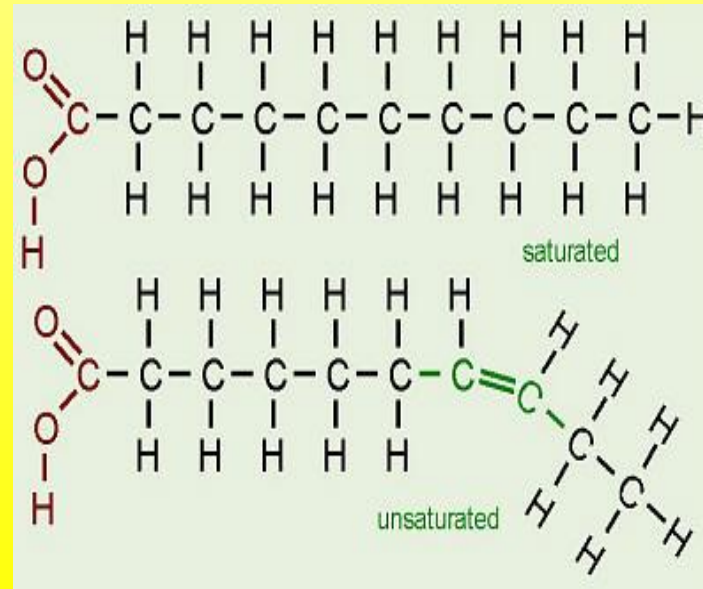
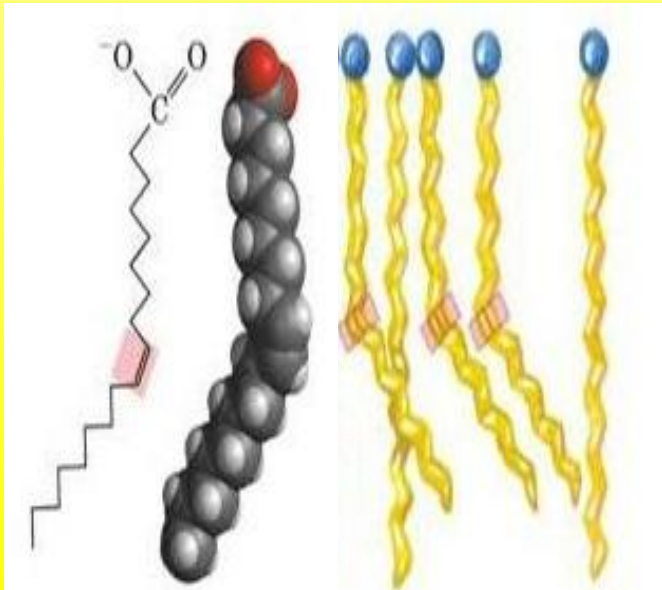
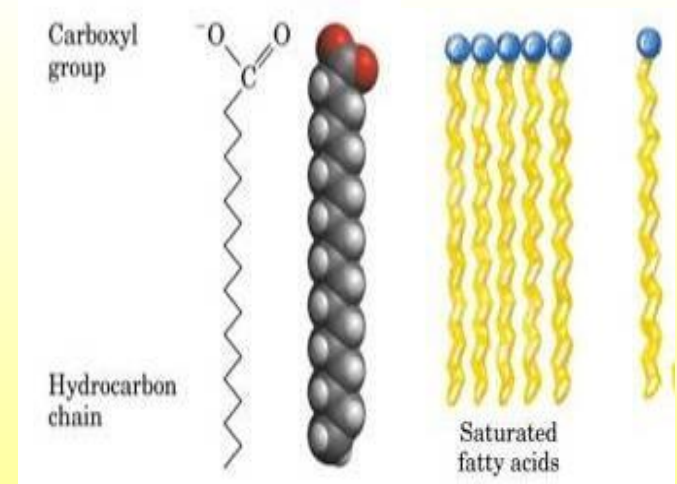
◆ Насыщенные (предельные) ЖК

нет связей C=C.

◆ Непредельные ЖК:

□ **мононенасыщенные** - моноеновые ЖК (одна связь C=C).

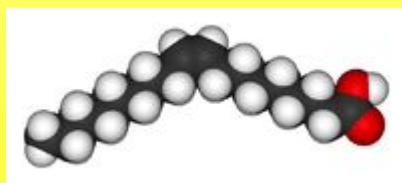
□ **полиненасыщенные** - полиеновые ЖК (две и более связи C=C).



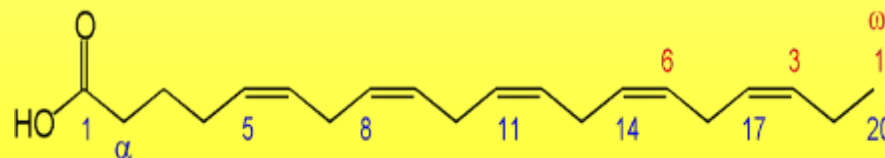
ЖК в организме человека

Группы	Название	Длина цепи	Источник
Насыщенные	пальмитиновая	C 16 : 0	животный жир
	стеариновая	C 18 : 0	животный жир
Мононенасыщенные	пальмитоолеиновая	C 16 : 1 ω7	растительное масло
	олеиновая *	C 18 : 1 ω9	
Полиненасыщенные	линолевая	C 18 : 2 ω6	растительное масло
	арахидоновая	C 20 : 4 ω6	
	линоленовая (АЛК) **	C 18 : 3 ω3	рыбий жир, льняное масло
	эйкозапентаеновая (ЭПК)	C 20 : 5 ω3	
докозагексаеновая (ДГК)	C 22 : 6 ω3		

*



**



Часть ПНЖК (незаменимые ЖК, витамин F = ω3-ЖК + ω6-ЖК) не синтезируется в организме человека в достаточном количестве, и должна поступать с пищей.

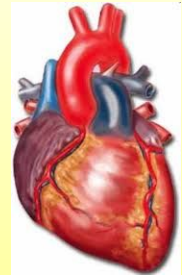
Рекомендации МЗ РФ: вит. F - 6-8 г/сут, ω3-ЖК > 1 г/сут.

Биологическая роль ЖК

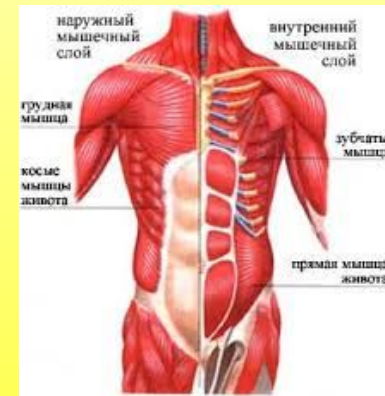
- **Структурная:** ЖК - компоненты триглицеридов, фосфолипидов, эфиров холестерина...
 - **Энергетическая - основная роль насыщенных ЖК.** Окисление стеариновой кислоты => **147 молекул АТФ.**
-
- В крови ЖК транспортируются в связи с альбумином. **Концентрация свободных ЖК в плазме крови – 0,4-0,8 ммоль/л (в покое).**
 - **Каждую минуту утилизируется 20-40% свободных ЖК сыворотки крови,** столько же выходит в кровь из жировых депо.

Энергетическая роль ЖК

В покое ЖК - основной источник энергии для печени и миокарда.



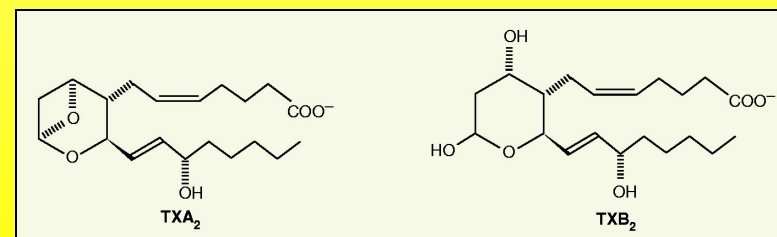
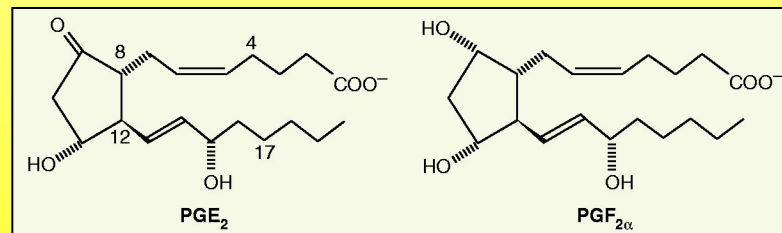
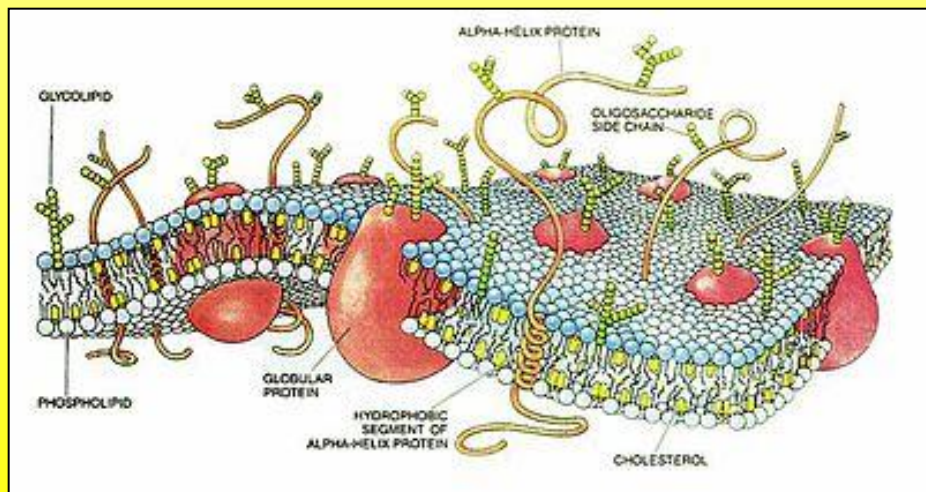
При физической нагрузке ЖК становятся источником энергии для скелетных мышц, при длительном голодании – и для нервной ткани (головного мозга).



В митохондриях клеток - β -окисление ЖК: в каждом цикле от молекулы ЖК отщепляется молекула ацетил-КоА (2 атома С) ---> в цикл трикарбоновых кислот.

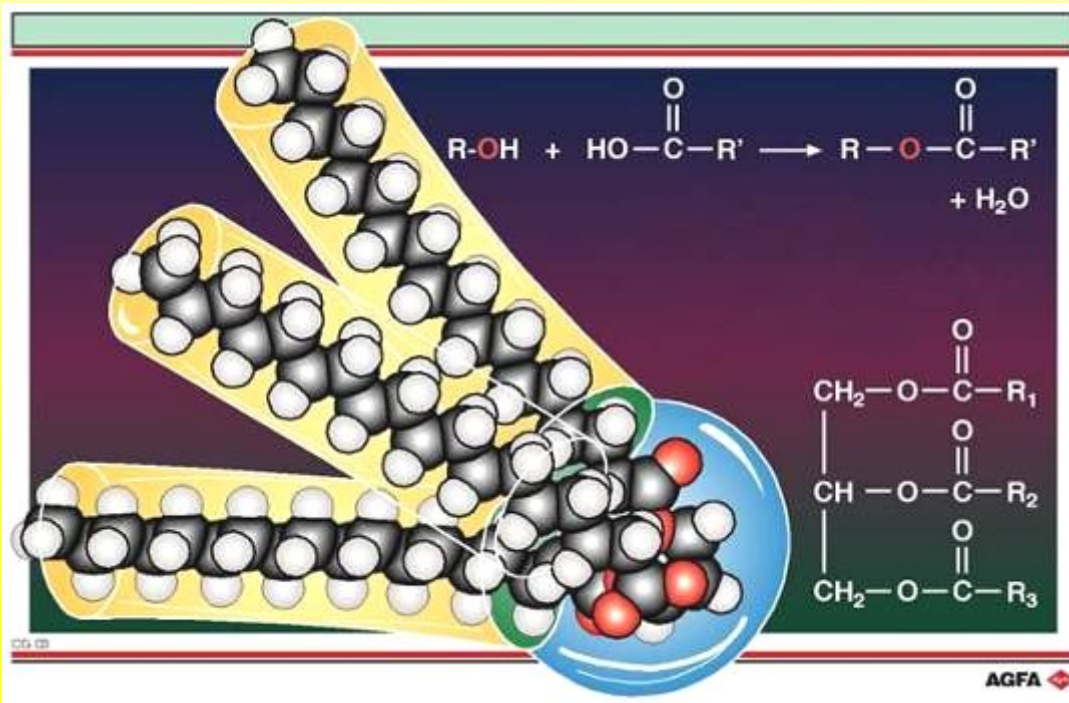
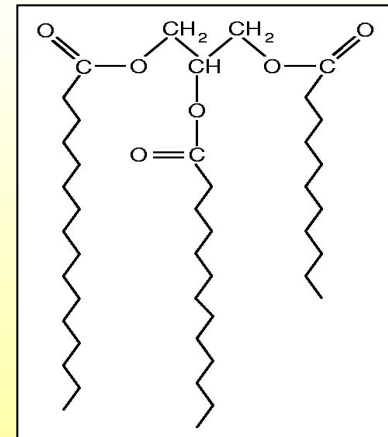
Биологическая роль ненасыщенных ЖК

- **Пластическая** - НЖК в составе ФЛ и эфиров ХС участвуют в построении клеточных мембран.
- **Синтез биологически активных веществ** из НЖК :
 - простагландины, тромбоксаны и лейкотриены - иммунно-воспалительные регуляторы;
 - резолвины, докозатриены и нейпротектины - метаболиты ЭПК и ДГК с противовоспалительными и защитными свойствами.



Триглицериды

Триглицериды (ТГ), триацилглицерины, нейтральные жиры - сложные эфиры глицерина и трех молекул ЖК



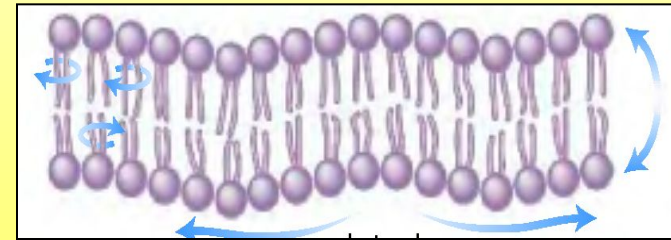
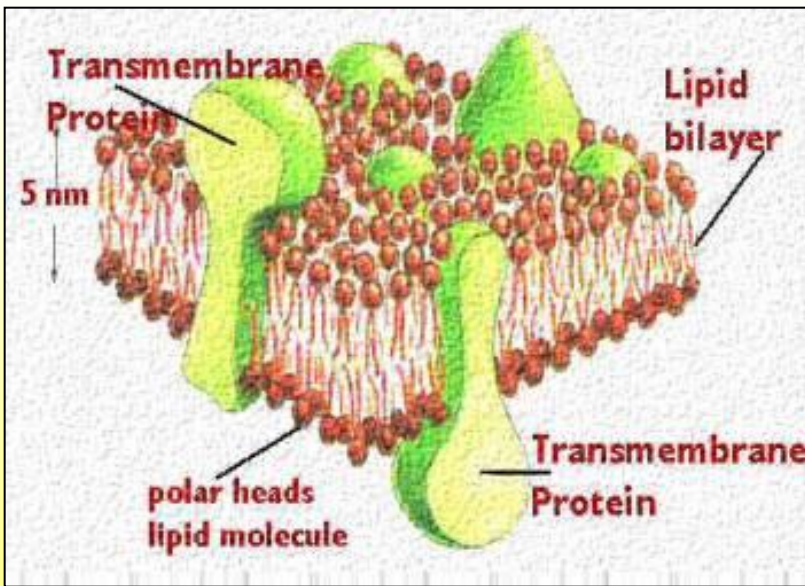
РОЛЬ ТРИГЛИЦЕРИДОВ:

- ❖ Основной **долговременный резерв энергетических веществ** в организме
- ❖ Защита от теплопотери (подкожный жир)
- ❖ Защита внутренних органов от механических повреждений (капсула почки) и воспаления (сальник)

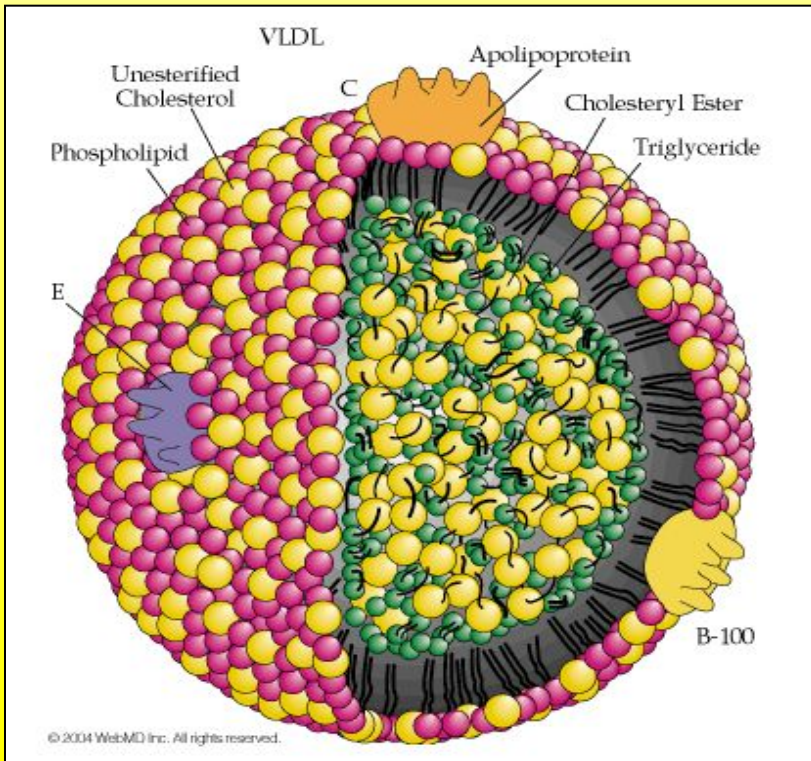
Синтез ТГ - в основном **в жировой ткани и в печени.**

Биологическая роль фосфолипидов

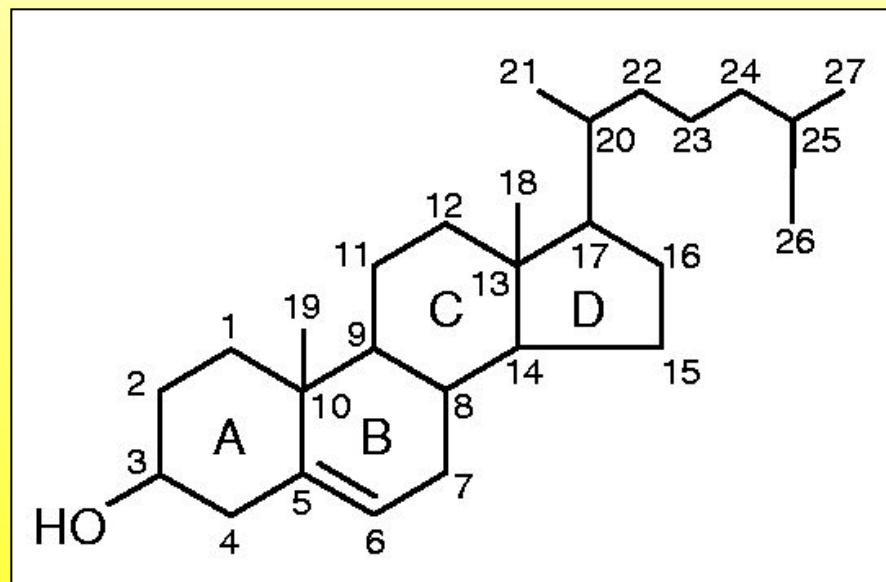
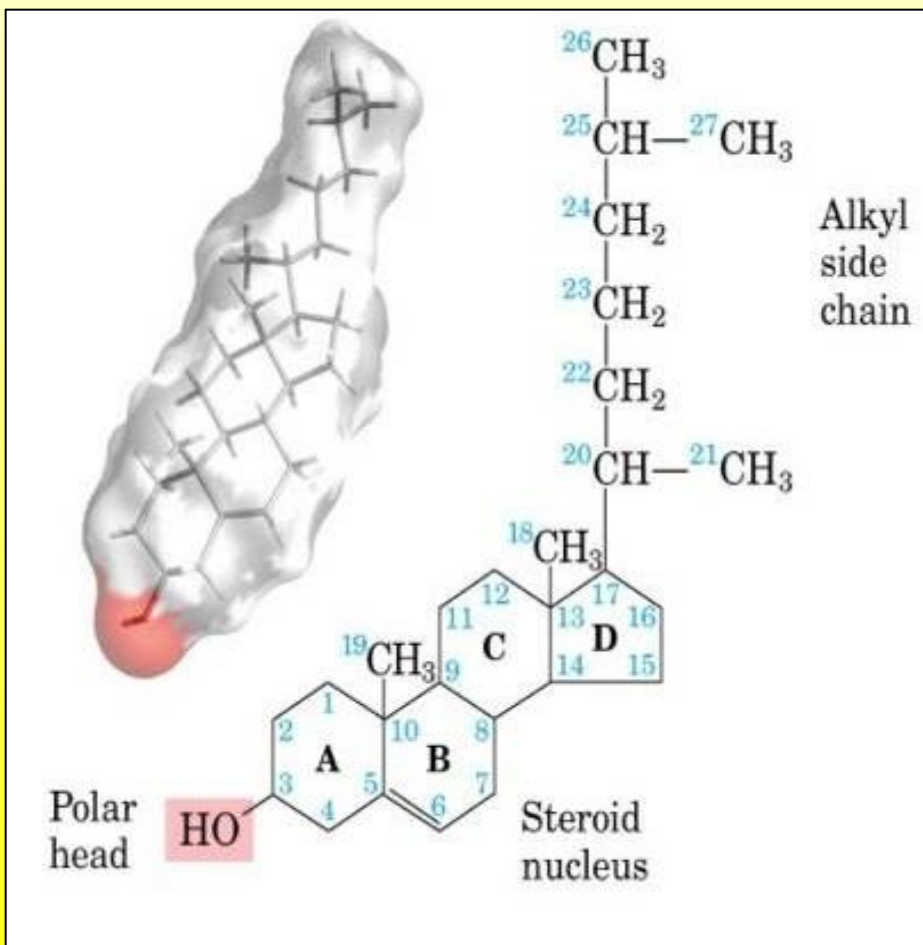
1. **Основа клеточных мембран.**
В составе ФЛ много ПНЖК, в том числе $\omega 3$ - и $\omega 6$ -ЖК.



2. **Основа липопротеиновых комплексов** - транспортных форм липидов в крови.



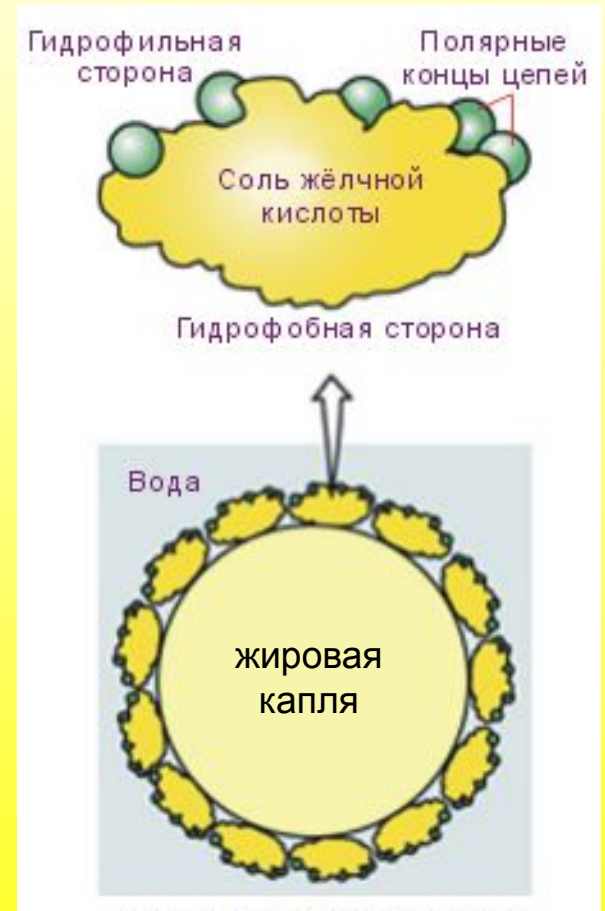
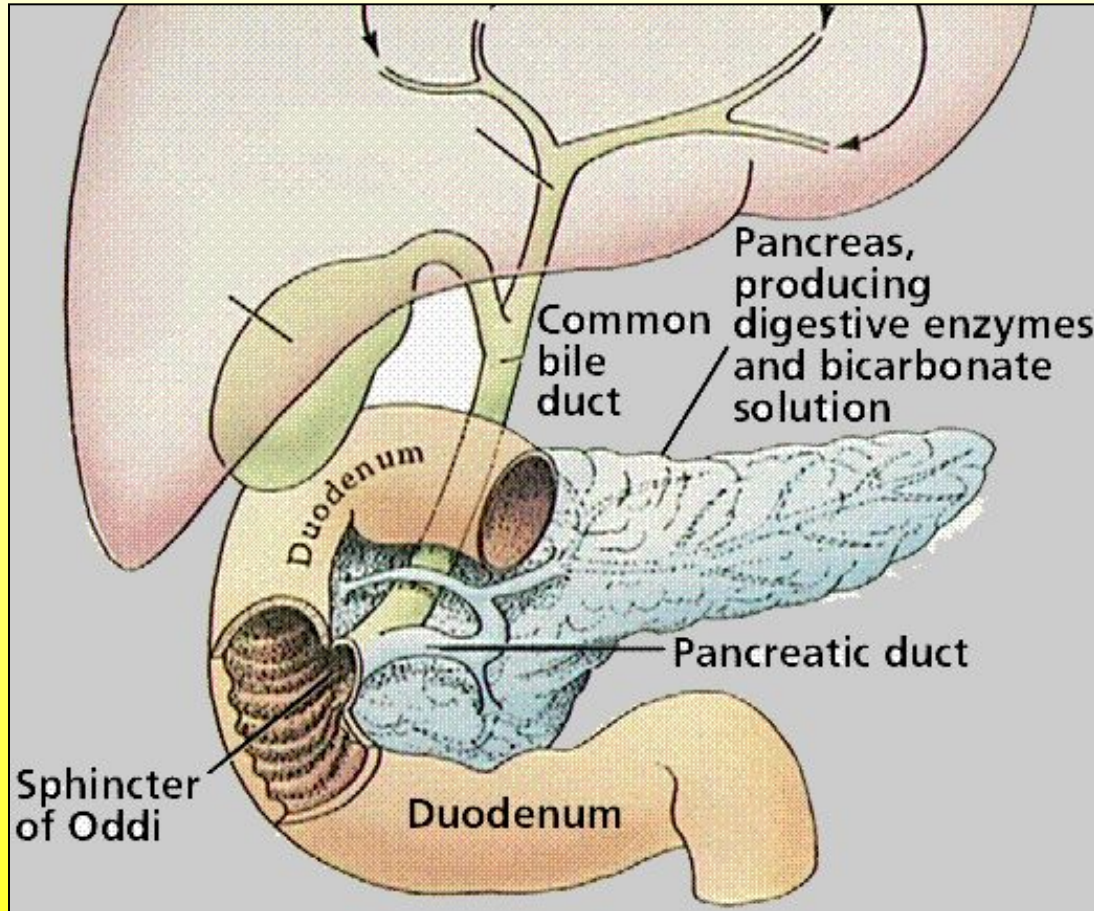
Стерины и стериды. Холестерин.



Биологическая роль холестерина



Переваривание липидов в ЖКТ



Расщепление липидов начинается с их **эмульгирования** в 12-перстной кишке, продолжается в тонком кишечнике.

Переваривание и всасывание липидов в ЖКТ

ЛИПИДЫ
пищи
ТГ
Хс + Хс
эф
ФЛ

ПЕЧЕНЬ
↓
желчные к-ты

ПОДЖЕЛУДОЧНАЯ ЖЕЛЕЗА
Фосфолипазы А, А2, С, D Триглицерид-липаза Холестерол-эстераза

Полость рта,
Желудок
переваривания
нет

↓ желчные пути
12-ПК
эмульгирование

↓ желчные кислоты ← колипаза ↓
ТГ → ДГ → МГ → (глицерол) + ЖК
ХС эфиры → ЖК + ХС
ФЛ → ЖК + глицерол + N-спирты + ФК

в кровь

в лимфу

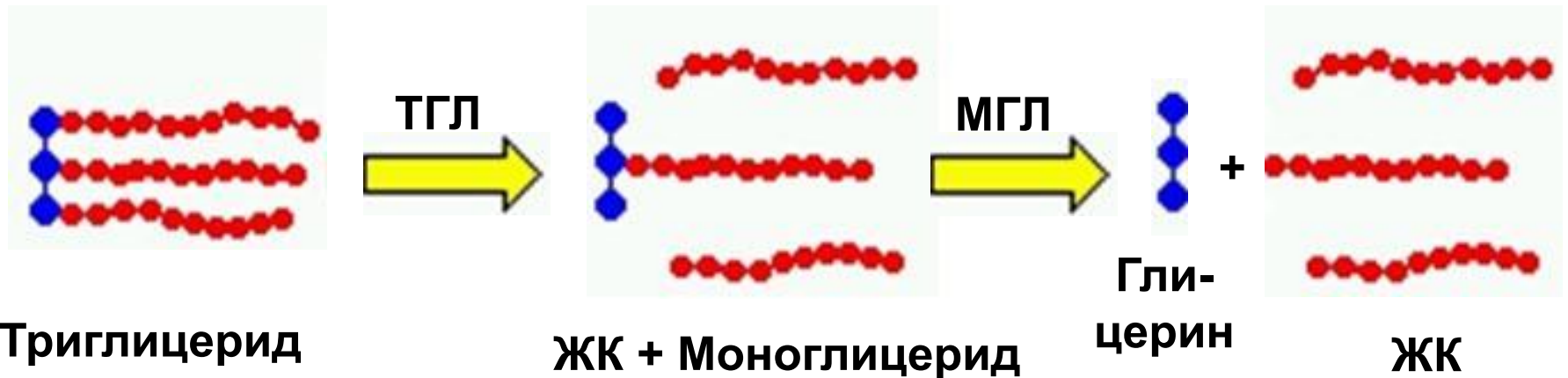
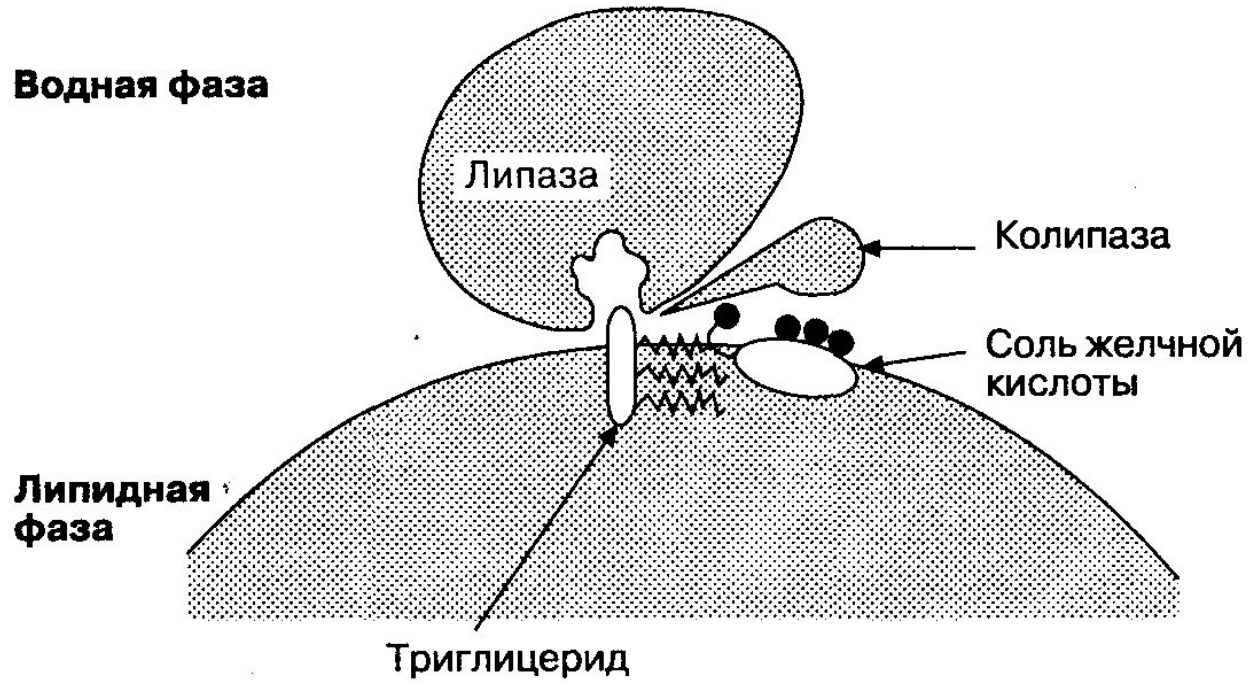
Эпителий тонкого кишечника
ресинтез ТГ, ФЛ, ХС эф, апобелков
↓
ЛП комплексы (хиломикроны)

Тонкий кишечник
смешанные мицеллы МГ+ЖК+(ТГ+ДГ)+ХС+желчные к-ты,
их всасывание (пиноцитоз)

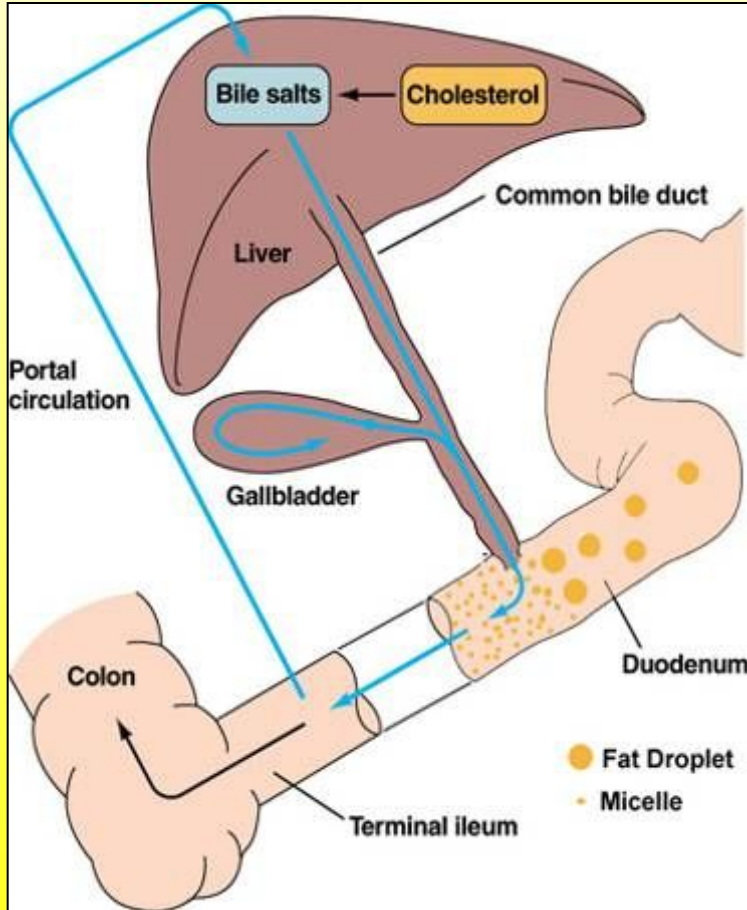
Тонкий кишечник
водорастворимые вещества (КЖК, ФК, глицерол, N-спирты)

всасывание → в кровь

Действие липазы



Желчные кислоты



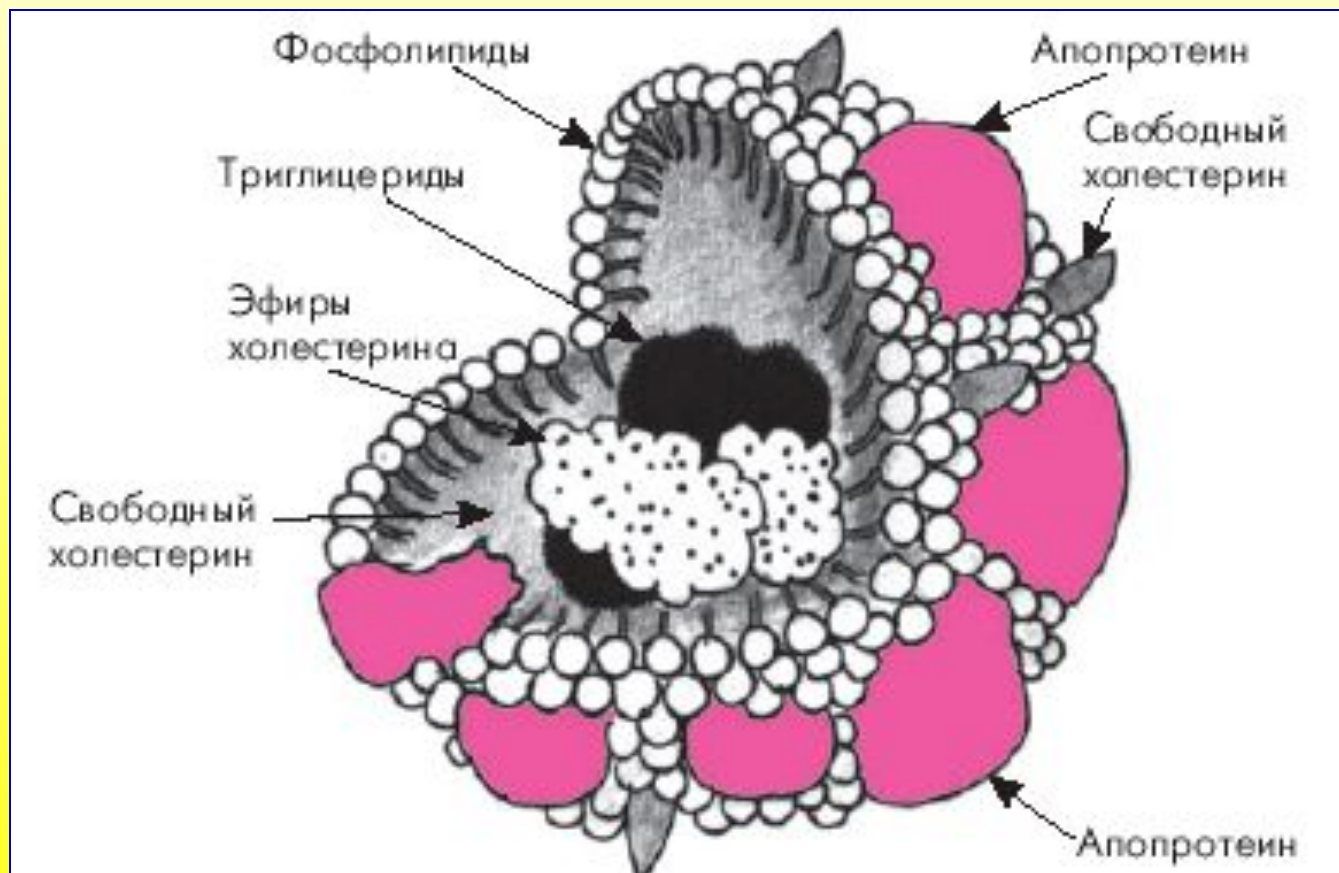
Окружают капли жира, снижают поверхностное натяжение --> облегчается дробление капель --> идет **эмульгирование жира**.

+ активируют панкреатическую липазу.

Желчные кислоты из кишечника всасываются в кровь --> в печень --> снова выводятся с желчью в кишечник (гепатоэнтеральная циркуляция, 6-8 раз).

Нарушение желчеобразования или поступления желчи в кишечник --> нарушение расщепления жиров --> выделение капель жира с калом (**стеаторрея**).

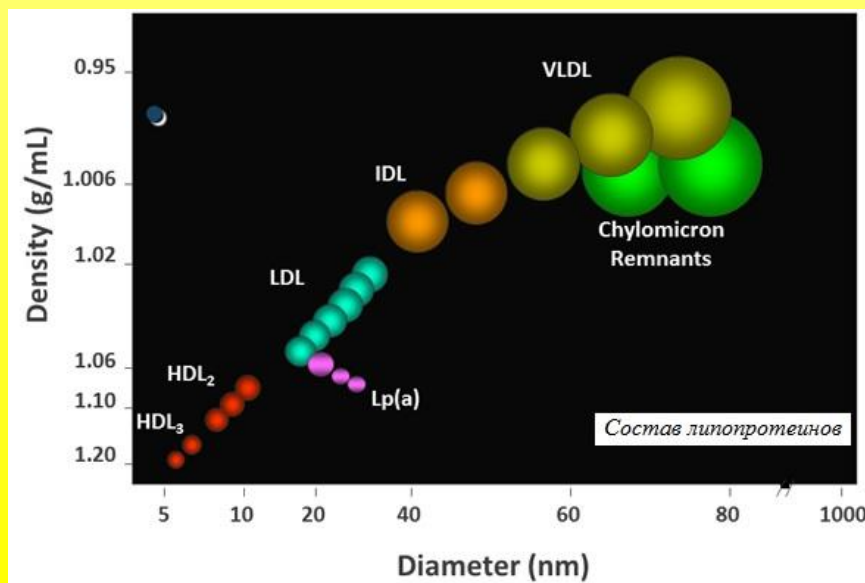
Транспорт липидов в крови



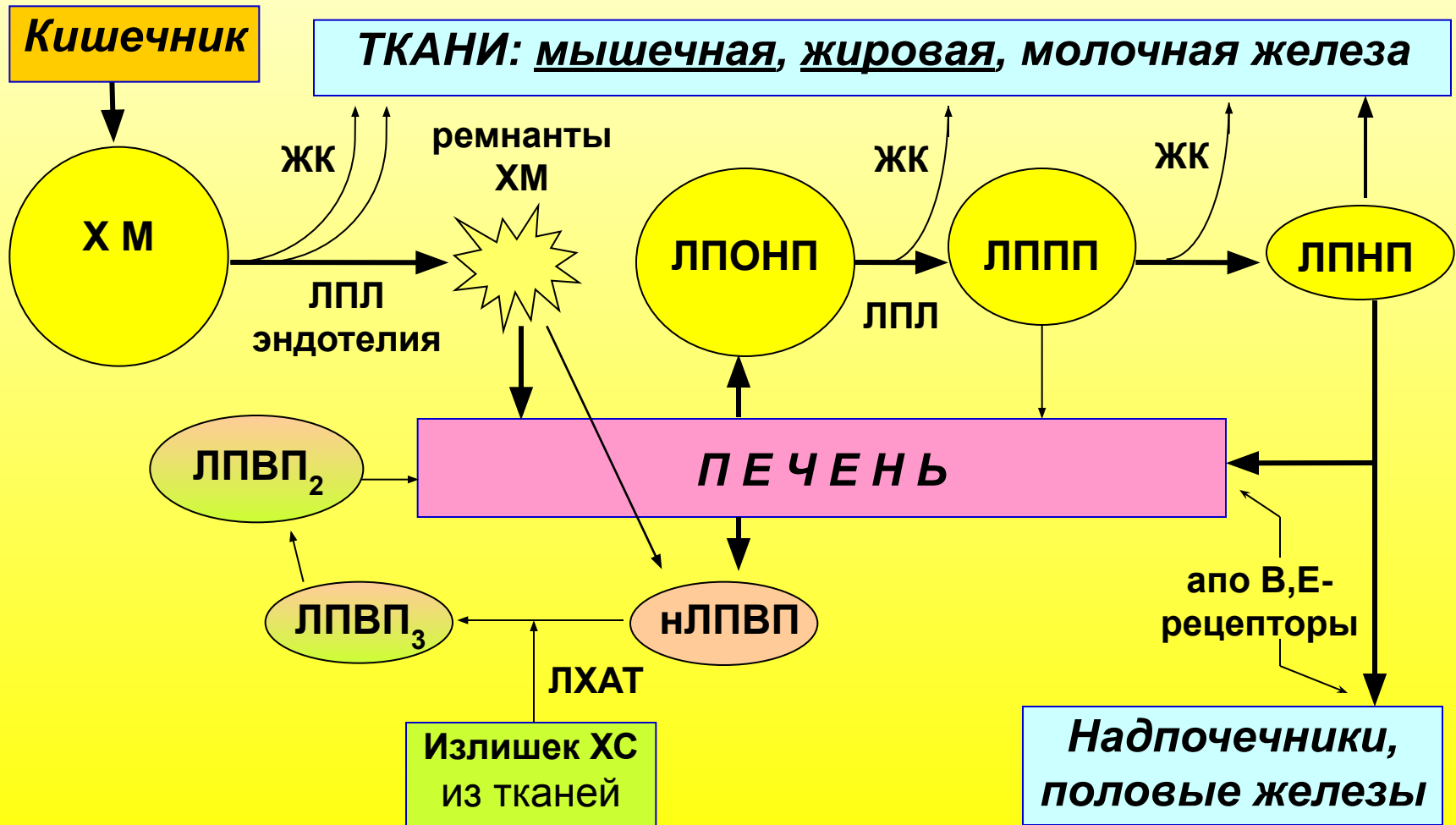
Строение липопротеидной частицы

Липопротеиды плазмы крови

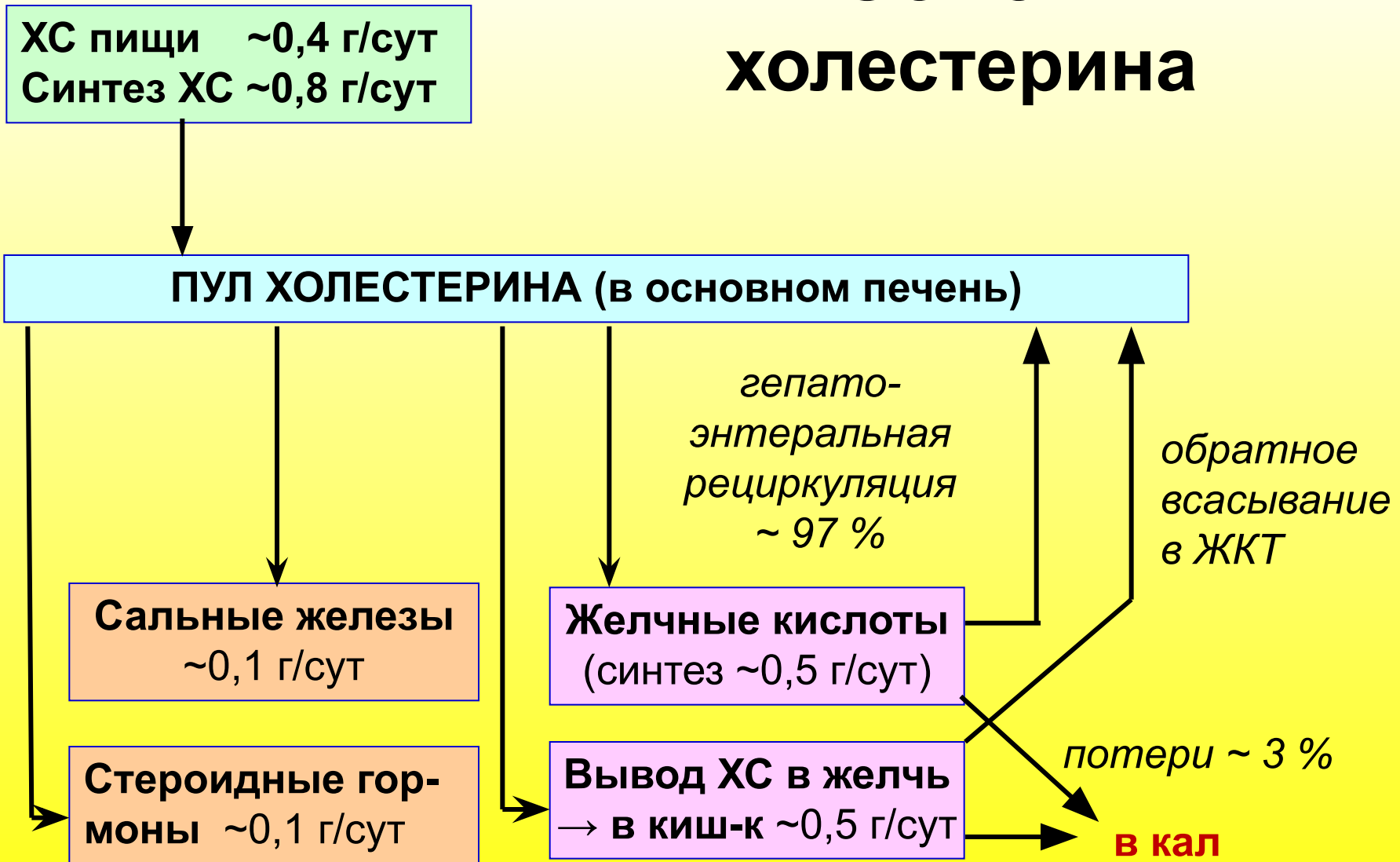
<i>Класс ЛП</i>	<i>ХМ</i>	<i>ЛПОНП</i>	<i>ЛПНП</i>	<i>ЛПВП</i>
Основной компонент	ТГ	ТГ	ХС	ФЛ, белки
Образуются в	кишечнике	печени	крови	печени
Переносят	ТГ кишечник → печень, ткани	ТГ + ХС печень → ткани	ХС печень → ткани	ХС ткани → печень (возврат)



Транспорт и превращения липопротеидов плазмы



Обмен холестерина



Исследование липидного обмена

Показатели липидов меняются с возрастом, при беременности и лактации, при тяжелых заболеваниях... => **исследование базовых параметров целесообразно проводить не ранее чем через 2-3 мес после родов или инфаркта миокарда.**

Подготовка пациента

- ✓ Взятие крови – натощак (12-14 часов голодания), исключить алкоголь (↑ ТГ), учесть прием лекарств.
- ✓ Венозный стаз < 1 мин.



Взятие и обработка крови при исследовании липидного обмена

- ✓ Предпочтительна сыворотка.
- ✓ Если плазма, то только с ЭДТА (не гепариновая!)
- ✓ Сгусток / осадок отделить центрифугированием не позднее, чем через 2 ч после взятия крови. При хранении цельной крови в плазме / сыворотке **возрастает уровень ХС** (выход из мембран эритроцитов).

- ✓ **Сыворотку / плазму можно хранить:**
 - при +4 – +24°C - в течение 7 дней,
 - при -20°C - в течение 3 мес.

Повторное оттаивание и замораживание не допускается.

Определение триглицеридов

1. ХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД

- а) экстракция липидов из сыворотки (метанол, этанол, изопропанол, хлороформ)
- б) щелочной гидролиз: $\text{TГ} \rightarrow \text{ЖК} + \text{глицерин} (t^{\circ})$
- в) окисление KJO_4 : глицерин \rightarrow формальдегид
- г) цветная реакция с ацетил-ацетоном

2. ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ МЕТОДЫ

- а) разрушение ЛП (детергенты, протеазы)
- б) гидролиз липазой: $\text{TГ} \rightarrow \text{ЖК} + \text{МГ}$; $\text{МГ} \rightarrow \text{ЖК} + \text{глицерин}$
- в) глицеролкиназная реакция: глицерин + АТФ \rightarrow
 \rightarrow глицеролфосфат + АДФ
- г) окисление ГФО: $\text{глиц-3-Ф} + \text{O}_2 \rightarrow \text{ДОАФ} + \text{H}_2\text{O}_2$
- д) пероксидазная реакция: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{хромоген} \rightarrow \text{цвет}$

Определение холестерина

1. ХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД (Либерманна - Бурхарда)

- с реактивом Ильяка (уксусный ангидрид, уксусная и серная кислоты) → **зеленая окраска**. ЭХС реагирует медленнее, но дает более интенсивный цвет.

2. ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ МЕТОДЫ

а) гидролиз ХС-эстеразой: $\text{ЭХС} \rightarrow \text{ЖК} + \text{ХС}$

б) окисление ХС-оксидазой: $\text{ХС} + \text{O}_2 \rightarrow \text{холестенон} + \text{H}_2\text{O}_2$

в) пероксидазная реакция: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{хромоген} \rightarrow \text{окраска}$

(**p-аминоантипирин / p-аминофеназон – PAP-метод**)

Определение ЛП разных классов

напрямую – невозможно.

Косвенные методы:

А. По холестерину в составе основных классов ЛП

Общий ХС = ХС ЛПОНП + ХС ЛПНП + ХС ЛПВП (*натошак*)

Б. Электрофорез липопротеидов на геле или АЦ-пленке с окраской суданом черным

В. По количеству апопротеинов А1 и В.

Определение ХС ЛПВП

1. **В надосадочной жидкости после осаждения** апо-В-содержащих ЛП (гепарин + Mg; гепарин + Ca; гепарин + Mn; фосфорно-вольфрамовая к-та + Mn) и центрифугирования.

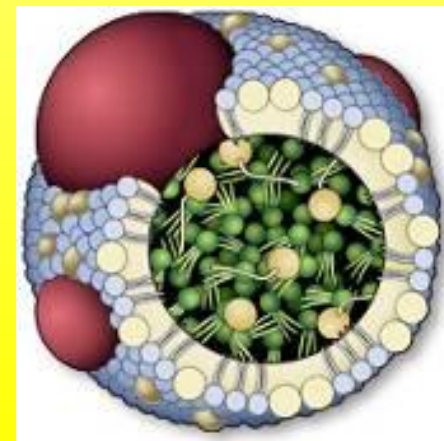
Метод сложен, недостаточно специфичен, трудновыполним на автоанализаторах.

2. **"Прямое" определение ХС ЛПВП – 2 этапа:**

а) **блокирование и преципитация ЛПНП, ЛПОНП и ХМ** специфическими антителами и полианионами

б) **разрушение ЛПВП слабыми детергентами и ферментативное определение ХС** в растворе

Метод хорошо автоматизируется, центрифугирование не требуется



Определение ХС ЛПНП

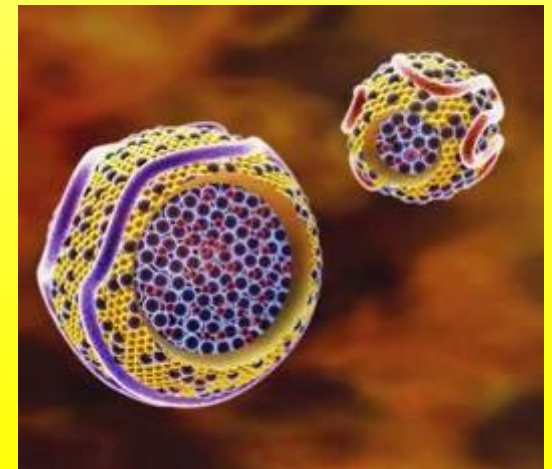
1. Прямой метод:

- стабилизация ЛПНП в сыворотке антителами,
- разрушение ЛПВП и ЛПОНП детергентами, окисление выделившегося холестерина ХС-эстеразой и каталазой,
- добавление деблокирующего реагента, освобождение ХС из состава ЛПНП, определение концентрации ХС в растворе.

2. Расчет по формуле Фридвальда:

$$\text{ХС ЛПНП} = \text{Общий ХС} - \text{ХС ЛПВП} - \text{ТГ} / 2,2$$

Ограничения: ТГ < 4,5 ммоль/л; нет ГЛП-III.



Апопротеины = белки в составе ЛП

Апо-А1 – компонент ЛПВП, связывает избыток ХС в тканях ----> в ПЧ.
Антиатерогенен. Более информативен, чем ХС ЛПВП.
1,0-2,2 г/л ; > 1,15 г/л

Апо-В – компонент ЛПНП, ЛПОНП, ЛППП; участвует в переносе ХС из печени в ткани. **Атерогенен.** Более информативен, чем ХС ЛПНП.

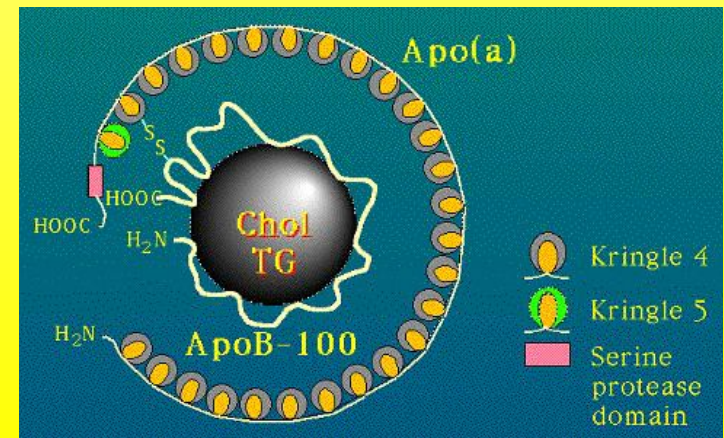
0,5-1,8 г/л ; < 1,0 г/л

Коэффициент Апо-В / Апо-А1 – информативный показатель, имеет прогностическое значение.

< 0,9

ЛП (a) – аналог ЛПНП, дополнительно содержит *апо(a)* – неактивный аналог плазминогена. Тромбогенен, **очень атерогенен.**

< 0,3 г/л



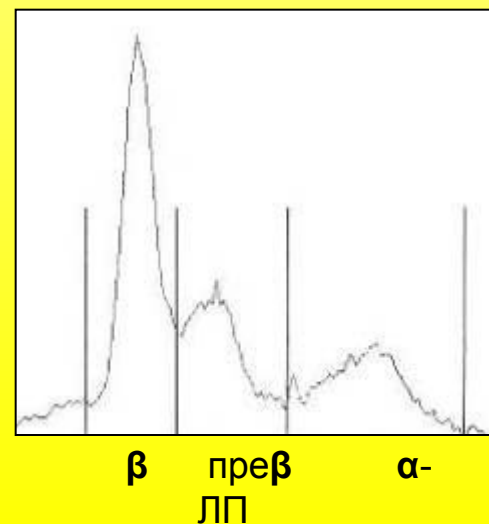
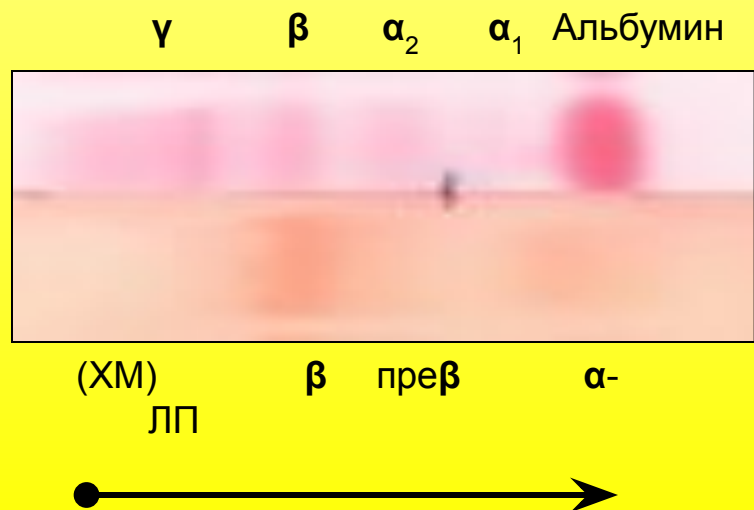
Электрофорез липопротеидов

- **ОСНОВА ФЕНОТИПИРОВАНИЯ ГЛП** по Фредериксену (с учетом количества ХС, ТГ и ХС ЛПНП).

Методом электрофореза выявляется только **относительное распределение фракций**.

Не рекомендуется количественная оценка отдельных ЛП !

Фракции ЛП в сравнении с белками сыворотки:





**СПАСИБО
ЗА ВНИМАНИЕ!**

Атеросклероз

очаговая липидная инфильтрация стенок артерий, разрастание соединительной ткани и образование фиброзных бляшек
=> сужение просвета сосуда, расстройства кровообращения.

Проявления атеросклероза:

- **ИШЕМИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ СЕРДЦА:**
 - острая (стенокардия, острый инфаркт миокарда, внезапная «коронарная» смерть)
 - хроническая (атеросклеротический кардиосклероз)
- **ИШЕМИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ МОЗГА** (инсульты, ишемическая энцефалопатия)
- **ИШЕМИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ КОНЕЧНОСТЕЙ** (облитерирующий атеросклероз, гангрена, синдром Лериша)
- **ИШЕМИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ КИШЕЧНИКА** (атония, инфаркты)
- **ИШЕМИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ ПОЧЕК** (гипертония, первично сморщенная почка, ХПН)

Факторы риска ускоренного прогрессирования атеросклероза

1. НЕМОДИФИЦИРУЕМЫЕ:

возраст (♂ > 45 лет, ♀ > 55 лет), мужской пол, отягощенная наследственность

2. МОДИФИЦИРУЕМЫЕ:

атерогенные дислипидемии, артериальная гипертензия, гипергликемия и сахарный диабет, курение, избыточный вес, гиподинамия, нерациональное питание, хронические стрессы, ↑ гомоцистеина, воспаление и инфекции, гиперинсулинемия, нарушение толерантности к глюкозе ...

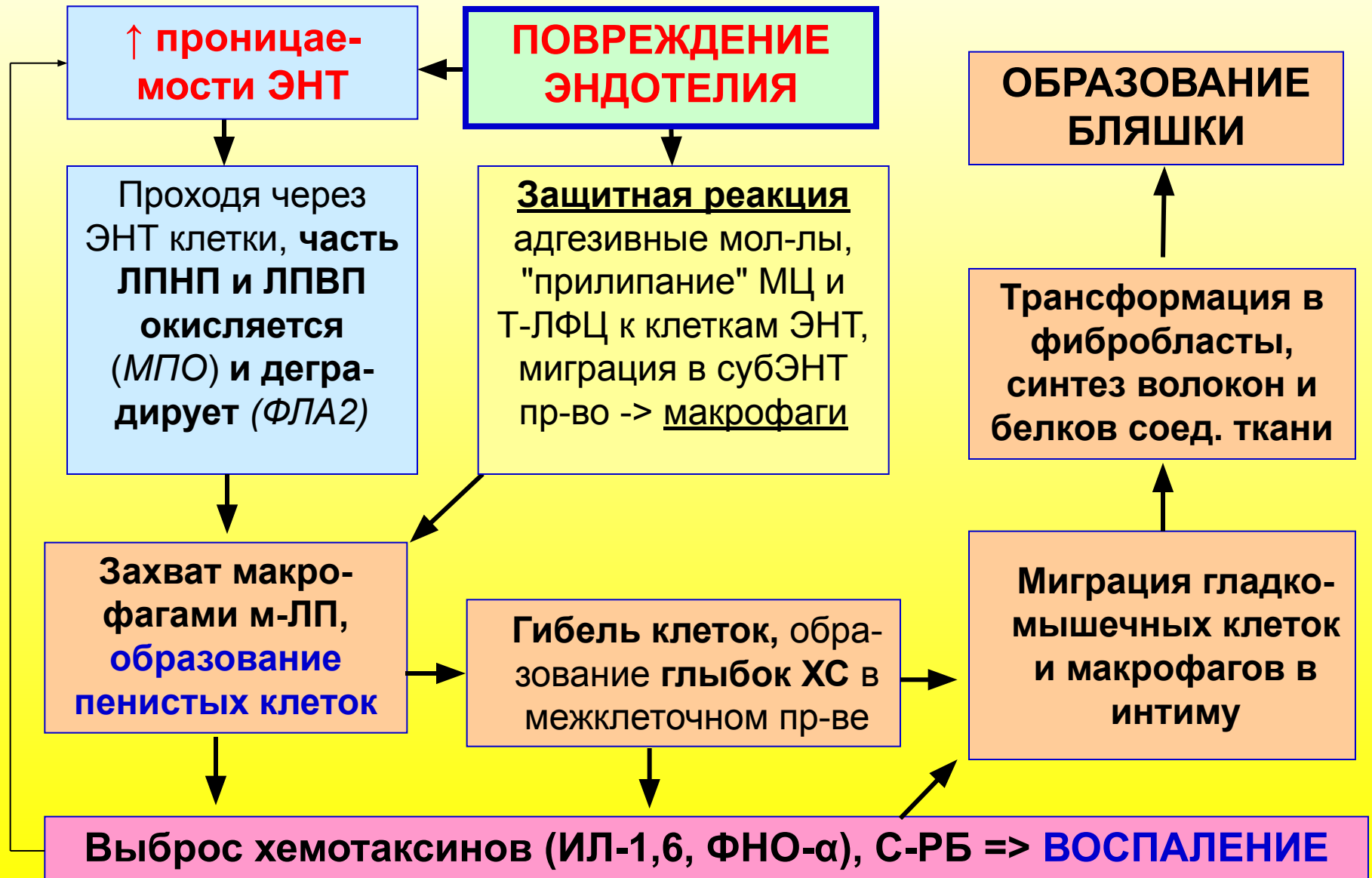
Факторы риска развития острого инфаркта миокарда

Факторы	Отн. риск
↑ АпоВ / АпоА-1	3,25
Курение	2,87
Психологические факторы	2,67
Сахарный диабет 2 типа	2,37
Артериальная гипертензия	1,91
Абдоминальное ожирение	1,12
Потребление овощей / фруктов	0,70
Физическая активность	0,86
Алкоголь	0,91

Повышенное отношение АпоВ / АпоА1 и курение - самые важные ФР:
их вклад в популяционный риск >2/3.

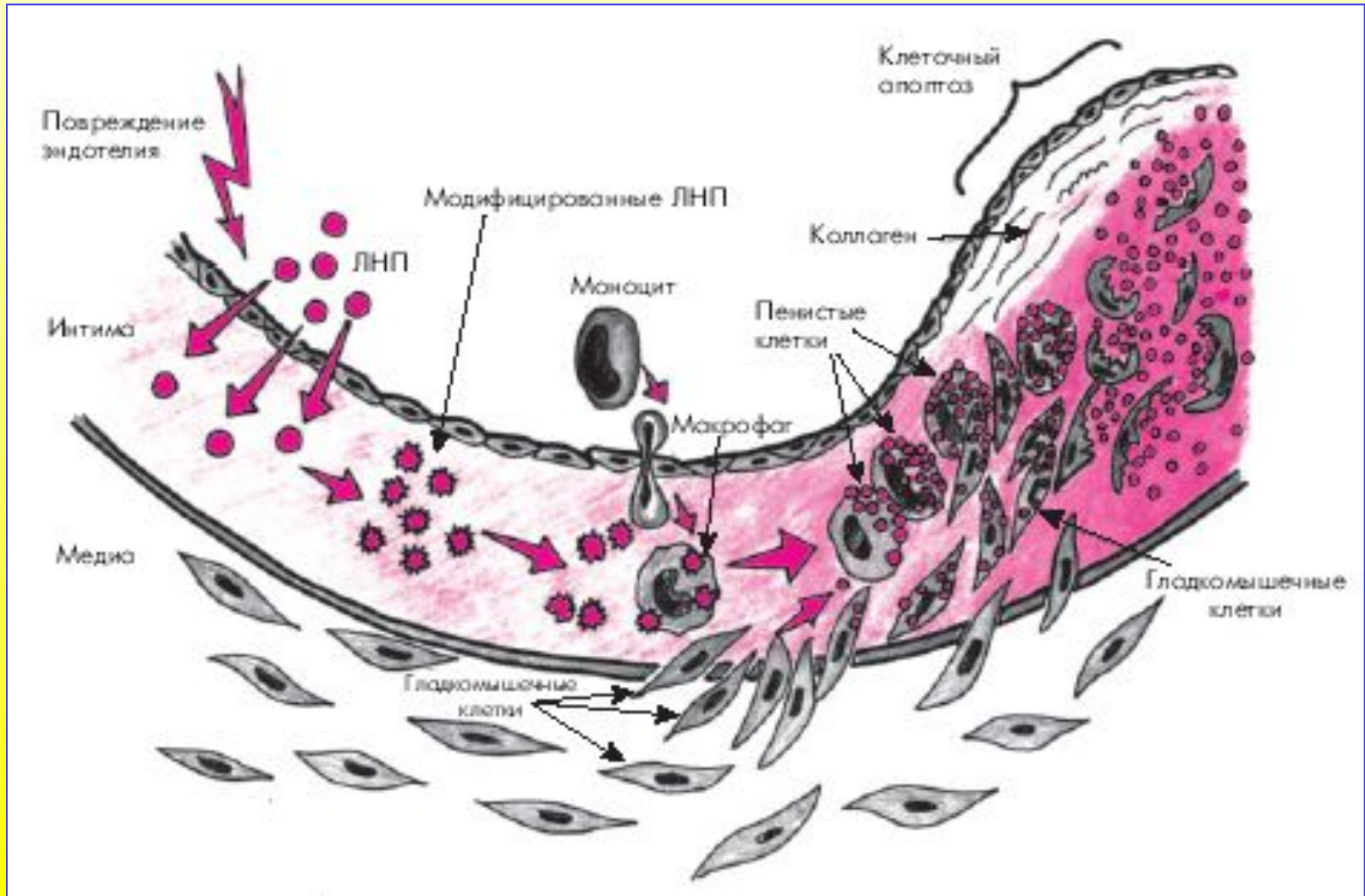
Все 9 ФР объясняют >90% популяционного риска (независимо от пола, возраста, расы, региона).

Патогенез атеросклероза



Образование АС бляшки

Повреждение ЭНТ -> Липидные пятна и полосы -> Бляшки -> -> Атерокальциноз

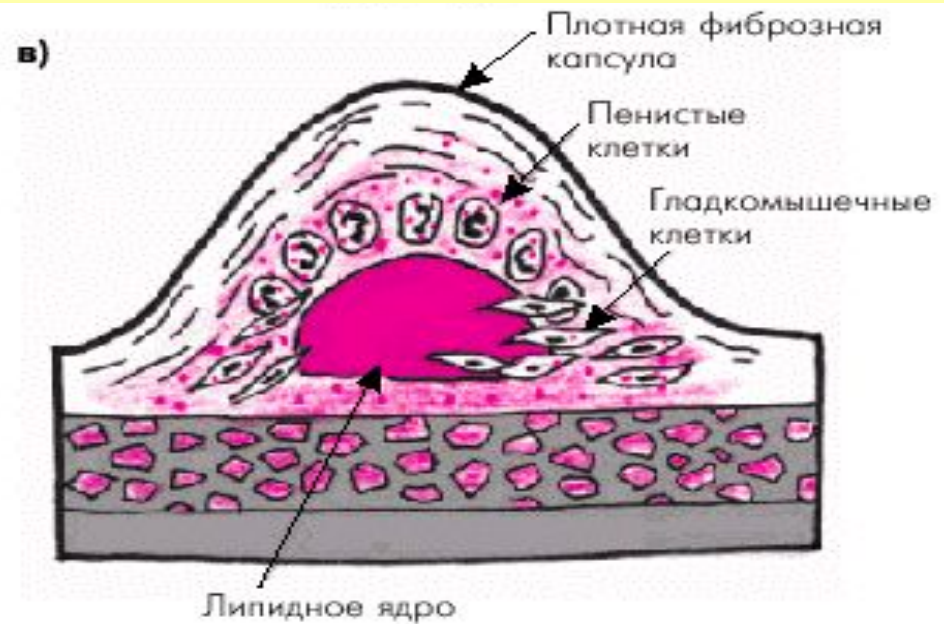
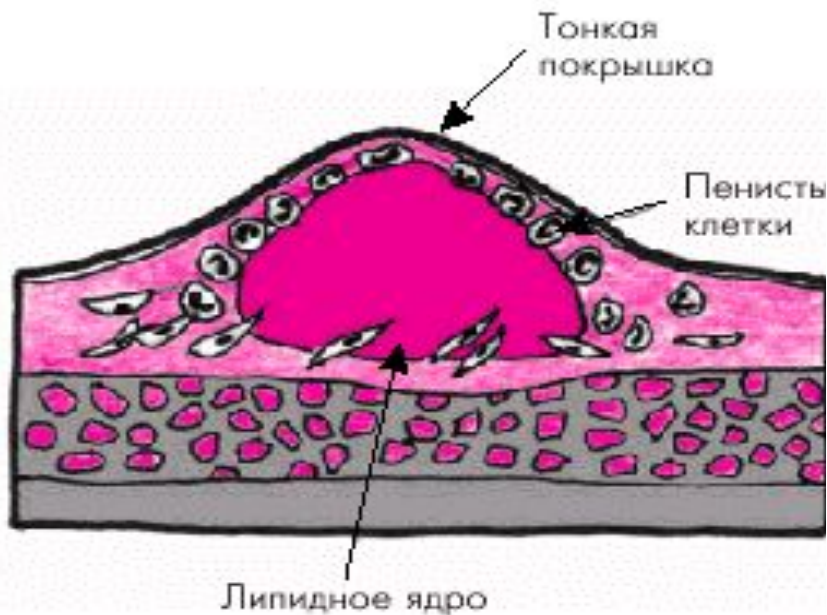


Атеросклеротические бляшки

МОЛОДЫЕ (желтые,
нестабильные)

—————→
десятилетия

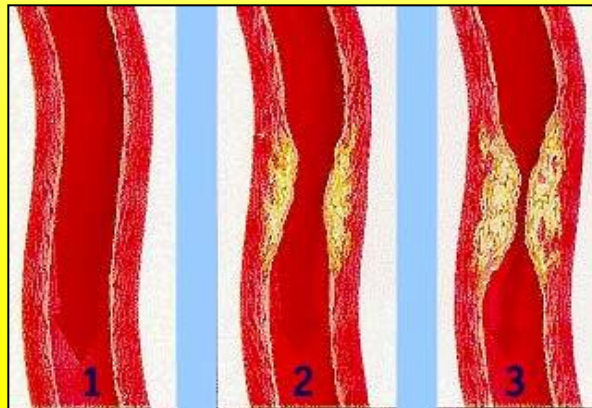
ЗРЕЛЫЕ (белые,
стабильные)



↓
Более опасны

(возможен разрыв бляшки,
спазм сосуда и тромбоз).

**Прямых лабораторных методов
диагностики атеросклероза нет,**
но есть корреляция между
атеросклеротическими изменениями
в сосудах и сдвигами параметров
липидного обмена



Липидный профиль

1. СТАНДАРТНАЯ ПРОГРАММА ОЦЕНКИ:

общий ХС, ТГ, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП (лучше «прямые» методы)

= не выявляется около 50% ДЛП...

Расчетные параметры:

ХС ЛПНП = общ. ХС – ХС ЛПВП – ТГ/2,2 (ф. Фридвальда)

ХС не-ЛПВП = общ. ХС – ХС ЛПВП

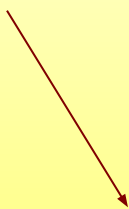
Индекс атерогенности = (общ. ХС – ХС ЛПВП) / ХС ЛПВП

2. РАСШИРЕННАЯ ПРОГРАММА ОЦЕНКИ:

+ Апопротеины (апо-А1, апо-В), ЛП(а), электрофорез ЛП, генетический анализ, hsCRP, гомоцистеин, глюкоза...

Гиперлипидемии (классы по Фредриксону, 1967)

атерогенные



Тип ГЛП	ХМ	ЛПОНП	ЛПНП	[ХС]	[ТГ]
I	↑	N	N	N	↑↑
IIa	-	N	↑↑	↑↑	N
IIb	-	↑	↑	↑	↑
III	-	<u>Флотирующие ЛП</u>		↑	↑
IV	-	↑	N	N↑	↑
V	↑	↑	N	N↑	↑↑

Интерпретация анализа липидов

Концентрация в плазме	Оптимальная	Пограничная	Патологическая
Общий ХС	< 5,0 ммоль/л	5,1 – 6,5 (мягкая)	6,5–7,8 (умерен.) > 7,8 (выражен.)
ХС ЛПВП (α-ХС)	♂ >1,1 ммоль/л ♀ >1,3 ммоль/л	0,9 – 1,1	< 0,9
ХС ЛПНП (β-ХС)	< 3,4 ммоль/л	3,4 – 4,1	> 4,1
Триглицериды	< 1,7 ммоль/л	1,7 – 2,2	> 2,2
Индекс атерогенности	< 3	3 - 4	> 4

В РФ «нормальные» значения общего ХС = 3,2 – 6,2 ммоль/л
(по данным эпидемиологических исследований)



**СПАСИБО
ЗА ВНИМАНИЕ!**