

ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ ЛІПОПРОТЕЇНІВ І ГЕМОКОАГУЛЯЦІЇ У ПАТОГЕНЕЗІ АТЕРОТРОМБОЗУ

В.В. Соколів, В.С. Чурсіна, Г.Х. Божко

Інститут неврології, психіатрії і наркології АМН України, Харків

Ключові слова: атеротромбоз, ліпопротеїни, гепарин, ліпопротеїнази, лецитинхолестеринацилтрансфераза.

Атеротромбоз вважають одним із ускладнень атеросклерозу, оскільки ця патологія характеризується раптовим руйнуванням атеросклеротичної бляшки, що призводить до активізації тромбоцитів і формування тромбу [4]. Нині атеросклероз у цивілізованих країнах настільки поширений, що йдеться про епідемію або навіть пандемію цієї патології [6]. Люди бояться СНІДу, туберкульозу, раку, але наразі 30% населення земної кулі помирає від різноманітних виявів атеротромбозу, насамперед інсульту та інфаркту. Відомо, що хронічне порушення обміну ліпідів і ліпопротеїнів, патологічні зміни у системі гемостазу, гіпергомоцистеїнемія разом з такими незалежними чинниками ризику, як вік та генетична спадковість, спричинюють формування атеросклеротичного, а згодом і атеротромботичного стану організму [11].

Мета дослідження — вивчити порушення у ферментативній регуляції обміну ліпопротеїнів* (ЛП) та реактивності системи гемостазу у хворих на атеротромбоз.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження було залучено 34 особи. Основну групу становили 24 хворих на атеротромбоз чоловічої і жіночої статі, середнього віку (62 ± 7) років. До контрольної групи увійшли 10 здорових донорів репрезентативних за віком без атеросклерозу та порушень мозкового кровообігу.

У пацієнтів визначали показники коагулограми (вміст фібриногену, фібриногену В, час рекальцифікації плазми, фібринолітичну активність, протромбіновий індекс) та вимірювали вміст загального, вільного і внутрішньоклітинного резервного гепарину (ВРГ) стандартним методом з тромбіном [8].

Вміст загального холестерину визначали за допомогою вітчизняних наборів реактивів «Філісідіагностика». Для окремого вимірювання вільного

і етерифікованого холестерину користувались непрямим методом Златкіса — Зака з дигітоніном.

Величину вільної активності ліпопротеїнази (ЛПЛ) сироватки крові визначали за описаним методом [12]. Активність ЛПЛ, зв'язаної з ендотелієм капілярів, оцінювали після звільнення ферменту під час внутрішньовенного введення гепарину в дозі 50 ОД на 1 кг маси тіла з експозицією 15 хв. Величину зв'язаної ЛПЛ активності розраховували як різницю між активностями постгепаринової і вільної форми ферменту. Активність позапечінкової і печінкової ЛПЛ (пЛПЛ і пТГЛ) диференціювали в присутності хлористого натрію, що додавали в середовище для інкубації (10% альбумін, трис-НСІ, рН 8,2) до кінцевої концентрації 1 моль/л [12]. Холестеролетерифікувальну здатність сироватки крові, яку обумовлює каталітична активність лецитинхолестеринацилтрансфераза (ЛХАТ), визначали за методом Stokke і Norum [13].

Рівень ЛП визначали за описаним методом [8].

Електрофореграми сканували на денситометрі ERI-65m («Karl Zeiss», Німеччина). Отримані денситограми використовували для якісного аналізу фракцій ліпопротеїнів. Вводили цифровий матеріал у персональний комп'ютер. В основу програмного забезпечення входив алгоритм його оброблення, що включав підпрограми пошуку максимальних величин оптичної щільності окремих фракцій за другою похідною оригінальної кривої денситограми й обчислення площі піків у міліметрах квадратних, а також оптимізації і порівняння розрахункових величин з реальною інтегральною кривою.

Отримані дані опрацьовували статистично, вірогідність розбіжностей між групами оцінювали за t-критерієм Фішера — Стьюдента. Критичним рівнем значущості (P) під час перевірки статистичних гіпотез вважали 0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Дані, наведені у таблиці, свідчать про патологічні зміни у розподілі ліпопротеїназної активності між двома пулами ферментів: вільним і зв'язаним з ендотелієм судин. Слід зазначити, що післягепар-

* ХМ — хіломікрони; ЛДНЩ, ЛПЩ, ЛНЩ — ліпопротеїни гуже низької, проміжної і низької щільності відповідно; ЛВЩ_{2a}, ЛВЩ_{2b}, ЛВЩ₃ — фракції ліпопротеїнів високої щільності.

Таблиця. Етерифікувальна і ліполітична активності сироватки крові та вміст загального холестерину і його фракційний склад при атеротромбозі ($M \pm m$)

Показник	Рівень	Основна група	Здорові донори
ЛХАТ, нмоль / (с × л)	—	$5,5 \pm 0,2^*$	$10,2 \pm 0,3$
Загальна ліпопротеїніпазна активність, нмоль / (с × л)	фоновий	$7,6 \pm 0,3^*$	$3,8 \pm 0,2$
	зв'язаний	$8,3 \pm 0,9^*$	$13,9 \pm 2,1$
	післягепариновий	$16,0 \pm 2,0$	$17,7 \pm 2,4$
	фоновий	$3,2 \pm 0,2^*$	$1,0 \pm 0,2$
пТГЛ активність, нмоль / (с × л)	зв'язаний	$4,7 \pm 0,3$	$5,6 \pm 0,3$
	післягепариновий	$7,8 \pm 0,3$	$6,6 \pm 0,3$
	фоновий	$4,5 \pm 0,3^*$	$2,8 \pm 0,2$
пЛПЛ активність, нмоль / (с × л)	зв'язаний	$3,7 \pm 0,2^*$	$8,3 \pm 1,0$
	післягепариновий	$8,1 \pm 1,1$	$11,1 \pm 1,0$
	загальний	$4,1 \pm 0,2$	$3,8 \pm 0,2$
Холестерин, ммоль/л	вільний	$1,0 \pm 0,01^*$	$1,9 \pm 0,1$
	етерифікований	$3,1 \pm 0,2^*$	$1,9 \pm 0,2$

Примітка. * Зміни статистично вірогідні порівняно з групою здорових осіб ($P < 0,05$).

риновий рівень ліпопротеїніпадної активності істотно не змінюється для обох досліджених ферментів (пТГЛ і пЛПЛ) у хворих на атеротромбоз. Проте спостерігається збільшення удвічі фонового рівня загальної ліпопротеїніпадної активності при атеротромботичних ускладненнях, порівняно з показниками здорових добровольців (таблиця).

Що ж спричинює вивільнення ендотелій-зв'язаних ліпопротеїніпазних ензимів у судинне русло і активізацію у такий спосіб позаклітинного ліполізу? Відомо, що пТГЛ і пЛПЛ після внутрішньоклітинного синтезу секретуються в отвір капілярів і за допомогою гепарансульфатних ланцюжків електростатично утримуються на поверхні ендотелію капілярів, де й здійснюють свою каталітичну активність стосовно тригліцеридзбагачених ліпо-

протеїнів [10]. Гепарин, що має більшу спорідненість з ферментами, порівняно з гепарансульфатом, вивільнює ензими у кровообіг [5]. На нашу думку, підвищення фонового рівня ліполітичної активності сироватки крові спричинене передусім перенапруженням у системі гемокоагуляції, а вже згодом — атерогенними змінами у метаболізмі ліпопротеїнів. Відомо, що зв'язувальною ланкою між двома самостійними системами гемостазу і обміну ліпопротеїнів виступає гепарин [2]. Діаграма на рис. 1 демонструє збільшення вільної форми гепарину при атеротромбозі. Це частково відбувається шляхом виснаження пулу внутрішньоклітинного резервного гепарину, що перебуває у клітинах крові, та індукції секреції цієї сполуки опасистими клітинами. Отже, саме високий рівень віль-

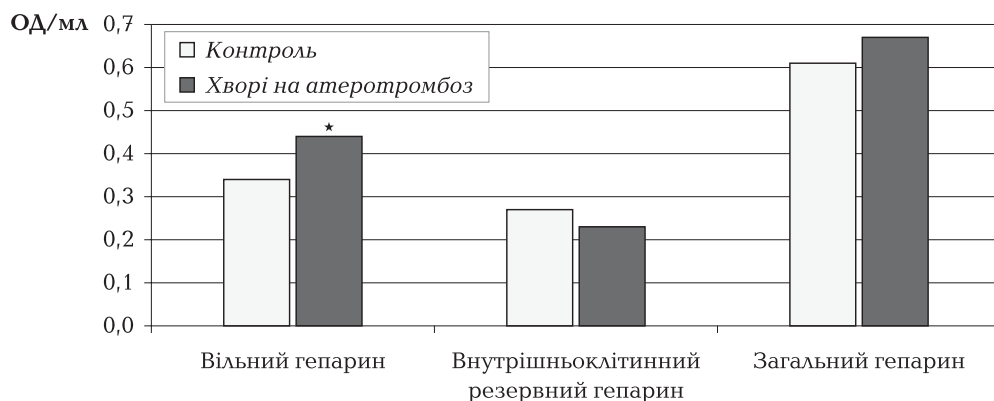


Рис. 1. Вміст загального, вільного і внутрішньоклітинного резервного гепарину (ВРГ) у крові хворих на атеротромбоз та у здорових осіб (* $P \leq 0,05$)

ного гепарину зумовлює збільшення пулу вільної ліпопротеїнліпазної активності та підсилення метаболізму тригліцеридбагатих частинок ліпопротеїнів, що спостерігається у кровообігу за умов атеротромбозу. Загальновідомий факт, що гепарин за будь-яких обставин вивільнює ліполітичні ферменти до кровообігу і в такий спосіб інтенсифікує ліполіз [8], дає підстави вважати, що коливання концентрації вільного гепарину спричинює відповідне коливання рівня вільної ліпопротеїнліпазної активності у кровообігу.

Але повернемося до надмірного вивільнення самого гепарину та з'ясуємо, що саме зумовлює надмірне надходження цього глікозаміноглікану в коло кровообігу? Показники коагулограми хворих на атеротромбоз, зокрема вміст фібриногену В, збільшена фібринолітична активність (> 300 хв) та скорочений час рекальцифікації (< 50 с) відповідають станові гіперкоагуляції. Наведені дані узгоджуються з висновками інших авторів та свідчать про паравазальні порушення мікроциркуляції, оскільки гормональні та антитромбінові комплекси гепарину утворюються за участі саме мастоцитарного гепарину [7]. Тому, можливо, саме гіперкоагуляція спричинює збільшення вмісту вільного гепарину і його активізувальний вплив на інтенсивність судинного ліпопротеїнліполізу.

Повертаючись до аналізу патології обміну ліпопротеїнів при атеротромбозі, варто звернути увагу на зниження майже удвічі етерифікувальної здатності сироватки крові (таблиця). Насамперед це пояснюється інгібуванням лецитин-холестерин-ацилтрансферази, що міститься у фракції ліпопротеїнів високої щільності. Визначення надлишку ефірів холестерину у сироватці крові, що переповнюють саме ЛВЩчасточки, дає змогу припустити пригнічення взаємообміну цих сполук між апоА та апоВ-вмісними ліпопротеїнами при атеросклеротичній патології.

До речі, спектр ЛП сироватки крові хворих на атеротромбоз зазнавав типових змін, що притаманні яскраво вираженому атеросклерозу. А саме, зростав майже на 50% рівень усіх апоВ-вмісних фракцій, за винятком ЛПЩ (рис. 2). Натомість, реципрокно знижувався вміст ЛП апоА-класу. Це

відбувалося за рахунок дефіциту фракцій ЛВЩ_{2в} і ЛВЩ₃, тим часом, як рівень ЛВЩ_{2а} не відрізнявся від контрольної групи. Розрахунок співвідношення між апоВ- та апоА-вмісними фракціями (індекс атерогенності) вказує на те, що його величина при атеротромбозі майже удвічі перевищує показник здорових осіб: $2,1 \pm 0,1$ (атеротромбоз) проти $1,1 \pm 0,09$ (контроль).

Щодо виявленої під час електрофоретичного дослідження гіперЛНЩемії при атеротромбозі (див. рис. 2) маємо зауважити, що спостерігалися лише кількісні зміни (збільшення у 2 рази) вмісту ЛНЩ у сироватці крові, а якісних перетворень ЛНЩ-частинок цієї апоВ-вмісної фракції не встановлено, тобто на денситограмі не спостерігалось зсуву піку до ділянки дрібних щільних ЛНЩ. Отже, маємо припустити, що збільшення вмісту ЛНЩ у кровообігу та гальмування їх транспорту до тканин за рецепторним механізмом спричинене не окиснювальними модифікаціями ЛНЩ (про які так багато пишуть [3, 9]), а затримкою конформаційної перебудови апоВ для взаємодії з рецептором під час утворення ЛНЩ. На користь такого механізму свідчить встановлене у цьому дослідженні й описане вище пригнічення ЛХАТ-активності (таблиця) у хворих на атеротромбоз. Саме внаслідок пригнічення функції білків — переносників ефірів холестерину (БПЕХ) уповільнюється обмін ефірів холестерину ЛВЩ на тригліцериди апоВ-вмісних ЛП при досліджуваній патології. Ефірів холестерину загалом у сироватці крові хворих не бракує (таблиця), але вони містяться у ЛВЩ і в разі блокади БПЕХ не потрапляють до ЛНЩ. Унаслідок цього пригнічується надлишком продукту реакції етерифікації активність ЛХАТ та гальмується утворення кінцевої конформації апоВ у складі ЛНЩ, що є необхідною умовою для взаємодії з апоВ-рецептором на мембранах клітин.

ВИСНОВКИ

1. Виявлено збільшення вільного пулу ліпопротеїнліпазної активності сироватки крові хворих на атеротромбоз, що зумовлено індукцією вивільнення печінкової і позапечінкової ліпопротеїнліпази зі зв'язку із ендотелієм судин.

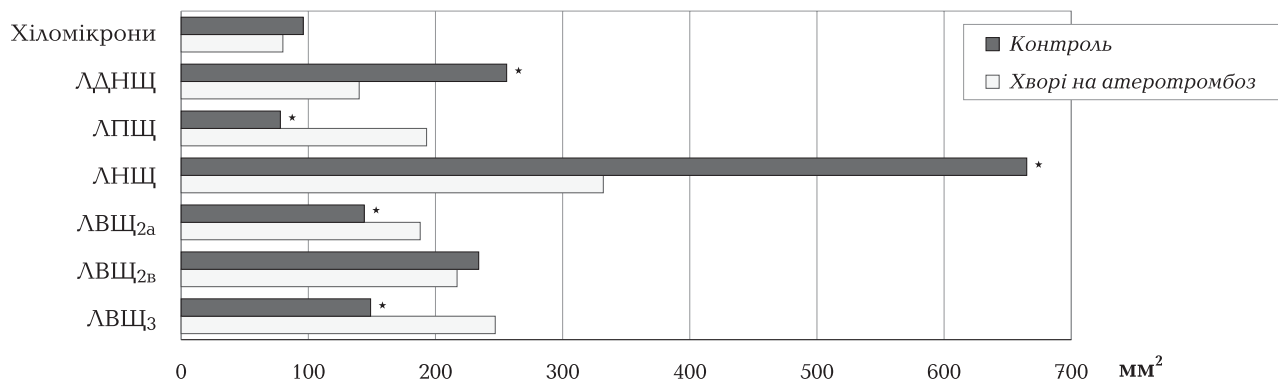


Рис. 2. Перерозподіл ліпопротеїнів у сироватці крові хворих на атеротромбоз та в контрольній групі (* $P \leq 0,05$)

2. При атеротромбозі спостерігається стан гіперкоагуляції, який характеризується появою у кровообігу фібриногену В, збільшенням фібринолітичної активності та скороченням часу рекальцифікації плазми крові. Разом з тим визначається перерозподіл гепарину між вільним і внутрішньоклітинним пулами на користь першого, що призводить до виснаження клітинного резерву цієї сполуки.

3. Припускається причинно-наслідковий зв'язок між підвищенням вмісту вільного гепарину і прискоренням вивільнення ліпопротеїналітичних ензимів до кровообігу при атеротромботичних ускладненнях.

4. Виявлено пригнічення етерифікувальної здатності сироватки крові, накопичення ефірів холестерину і гіперЛНЩемія у хворих на атеротромбоз.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Божко Г.Х., Кулабухов В.М. Перераспределение липопротеинов сыворотки крови кроликов, вызванное однократным введением холестерина // Биохимия.— 1993.— Т. 58, № 10.— С. 1594—1603.
2. Бычков С.М. Новые данные о гепарине // Вопр. мед. химии.— 1981.— Т. 27, № 6.— С. 726—735.
3. Дрианица С.В., Затейщиков Д.А. Антиоксидантные свойства статинов // Кардиология.— 2005.— Т. 45, № 4.— С. 65—72.
4. Запровальная О.Е., Гунько И.Н. Атеросклероз и атеротромбоз: новое в патогенезе, клинике, лечении // Здоров'я України.— 2002.— № 2.— С. 2—16.
5. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения.— СПб: Питер, 1999.— 512 с.
6. Мищенко Т.С., Лапшина І.О., Мищенко В.Н. Клініко-патогенетичні механізми розвитку цереброваскулярних порушень у хворих на атеротромбоз // Вісник психіатрії та психофармакотерапії.— 2006.— № 2 (10).— С. 7—9.
7. Паляниця С.С. Комплексна характеристика змін регуляції агрегантного стану крові в гострому періоді іше-

мічного інсульту // Укр. вісн. психоневрол.— 2002.— Т. 10, № 2 (31).— С. 71—73.

8. Соколик В.В., Божко Г.Х. Роль гепарина в формировании пищевой липемии // Укр. біохім. журн.— 2005.— Т. 77, № 4.— С. 99—105.

9. Соколов Е.И., Перова Н.В., Шукина Г.Н. Мелкие плотные частицы липопротеидов низкой плотности: механизмы образования, атерогенные свойства, возможные изменения их содержания в плазме крови // Кардиология.— 2005.— 10.— С. 91—96.

10. Чумакова О.С., Затейщиков Д.А., Сигоренко Б.А. Аполипопротеин В: структура, функция, полиморфизм гена и связь с атеросклерозом // Кардиология.— 2005.— № 6.— С. 43—55.

11. Явелов И.С. Гомоцистеин и атеротромбоз // РМЖ.— 1999.— Т. 7, № 3.— С. 23—26.

12. Deckelbaum R.L., Ramakrishnan R., Eisenberg S. Triacylglycerol and phospholipid hydrolysis in human plasma lipoprotein // Biochemistry.— 1992.— Vol. 31.— P. 8544—8551.

13. Stokke K.T., Norum K.R. Determination of lecithin: cholesterol acyltransferase // Scand. J. Clin. Lab. Invest.— 1971.— Vol. 27.— P. 21—27.

НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА ЛИПОПРОТЕИНОВ И ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОТРОМБОЗА

В.В. Соколик, В.С. Чурсина, Г.Х. Божко

Изучены нарушения ферментативной регуляции обмена липопротеинов и реактивности системы гемостаза у пациентов с атеротромбозом. Выявлено увеличение атерогенности липопротеинового спектра сыворотки крови, гиперкоагуляцию, истощение клеточного пула гепарина, угнетение этерифицирующей и рост фоновой липопротеинлипазной активностей сыворотки крови, гиперЛНЩемию при атеротромботических осложнениях. Обсуждается единый патологический механизм вышеприведенных метаболических нарушений у больных с атеротромбозом.

LIPOPROTEIN METABOLIC IMBALANCE AND HEMOCOAGULATION IN PATHOGENESIS OF ATHEROTHROMBOSIS

V.V. Sokolik, V.S. Chursina, G.Kh. Bozhko

The disorders of enzymatic regulation of lipoprotein metabolism and reactivity of hemostasis system have been studied in patients with atherothrombosis. The increase of atherogenic lipoprotein spectrum of blood serum, hypercoagulation, exhaustion of cellular heparin pool, oppression of esterifying and growth of free pool lipoprotein lipase activities of blood serum, LDL hyperlipidemia has been revealed in conditions of atherothrombotic complications. The common pathological mechanism of the fore-mentioned metabolic disorders in patients with atherothrombosis is discussed.