

Г. Х. Божко, В. В. Соколик, В. С. Чурсина, Т. Г. Перцева
ГУ «Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины»
(г. Харьков)

ИЗМЕНЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА И СОСТАВА ЛИПОПРОТЕИНОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ ГЕПАРИНА ЗДОРОВЫМ ЛИЦАМ И БОЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ВТОРОГО ТИПА

Актуальность исследования метаболических эффектов гепарина постоянно поддерживается благодаря выполнению им важных регуляторных функций и широкому применению в клинической и лабораторной практике в качестве антикоагулянта [2]. Одна из его функций, не имеющая отношения к противосвертывающей системе крови, заключается во влиянии на обмен липопротеинов (ЛП). Гепарин принимает участие в механизмах прямого транспорта холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ) в результате освобождения в кровотоке мембраносвязанных с эндотелием капилляров липолитических ферментов — внепеченочной липопротеинлипазы и печеночной триглицеридлипазы. Показано ингибирующее влияние гепарина на активность лецитин-холестерин-ацилтрансферазы натошак и в постпрандиальном состоянии, что свидетельствует о возможном участии этого гликозаминогликана в механизмах обратного транспорта ЛП [6]. Благодаря выраженным анионным свойствам, молекулы гепарина способны вступать в прямое взаимодействие с положительно заряженными структурами ЛП [4].

Самое распространенное метаболическое заболевание — инсулинонезависимый сахарный диабет (СД-2) характеризуется нарушением структуры и функции ЛП. Один из механизмов подобных изменений может заключаться в избыточной секреции внутриклеточного резервного гепарина, приводящей к общему истощению системы этого гликозаминогликана [7]. Инсулинорезистентное состояние сопровождается диабетической липемией, что выражается преимущественным накоплением в сыворотке крови больных триглицеридбогатых фракций ЛП [9]. Вместе с тем отдельные авторы могли наблюдать гиполипидемический эффект гепаринов. Например, применение фраксипарина у больных СД-2 в течение 6 месяцев приводило к значительному снижению уровня ТГ и ЛП низкой плотности [11]. У здоровых лиц секреция гепарина вызывается пищевым стимулом, в то время как у больных СД-2 его освобождение из внутриклеточных резервов происходит натошак [6].

При СД-2 механизмы инсулинорезистентности могут поддерживаться благодаря контринсулярным эффектам апоВ-ЛП, поскольку в составе аминокислотных последовательностей инсулина и апоВ-100 обнаружен общий эпитоп. Поэтому наблюдается конкуренция этих полипептидов за взаимодействие с инсулиновым рецептором [5].

Названные предпосылки послужили обоснованием для выполнения настоящей работы, цель которой заключалась в исследовании изменений количества и состава липопротеинов при введении гепарина больным СД-2.

Исследовали сыворотку крови 20 больных мужского и женского пола возрастом $54,8 \pm 2,8$ года, страдающих СД-2, на 2—3 день поступления в клинику до начала лечения. Во всех случаях было получено информирован-

ное согласие на участие в исследовании. Клинические признаки патологических проявлений подтверждались результатами лабораторных исследований — глюкозы в капиллярной крови, натошак, нарушения толерантности к глюкозе, иммунореактивного инсулина и гликозилированного гемоглобина. Контрольную группу составили 13 здоровых доноров мужского и женского пола возрастом $55,4 \pm 4,0$ года.

Сыворотку получали центрифугированием крови, взятой натошак после голодания не менее 12 часов, до и через 15 минут после внутривенного введения стерильного раствора гепарина (ВАТ Белмедпрепараты) в дозе 50 ЕД на 1 кг массы тела.

В работе определяли апоВ-содержащие ЛП — хиломикроны (ХМ), очень низкой плотности (ЛОНП), промежуточной плотности (ЛПП) и низкой плотности (ЛНП), а также апоА-содержащие частицы — липопротеины высокой плотности (ЛВП_{2в}, ЛВП_{2а} и ЛВП₃).

ЛП исследовали методом градиентного гель-электрофореза [1].

АпоВ-содержащие ЛП осаждали в отдельной пробе сыворотки крови (0,6 мл), добавляя 0,4 мл фосфорновольфрамовой кислоты, содержащей Mg^{2+} . Использовали набор реактивов «Холестерин ЛВП» (Ольвек диагностикум). Осадок после центрифугирования растворяли в 0,6 мл трис-НСІ буфера, рН 6,9. ХС, ТГ и фосфолипиды (ФЛ) в составе апоА- и апоВ-содержащих ЛП определяли энзиматическими методами, используя наборы фирм «Реагент», CORMEY, SENTIEL Diagnostes, соответственно. Белок определяли биуретовым методом, применяя набор реактивов PROTEIN TOTAL Liquicolor (HUMAN).

Полученные результаты обрабатывали статистически. Достоверность различий между группами оценивали, используя t-критерий Фишера-Стьюдента. Различия считали статистически значимыми, если вероятность его случайного происхождения не превышала 5 % ($p < 0,05$).

Данные, представленные в таблице, свидетельствуют, что в сыворотке крови больных СД-2 наблюдалось увеличение суммы апоВ-содержащих ЛП. В той или иной степени возрастал уровень каждой из исследованных фракций. Этот результат вполне согласуется с ранее полученными данными [8].

На рис. 1 представлены результаты определения состава апоА- и апоВ-ЛП. Видно, что у больных СД-2, по сравнению со здоровыми лицами, концентрация белковых компонентов ЛП статистически значимо не изменялась ($p < 0,1$). На основании этих данных можно предположить, что количество частиц того и другого класса ЛП при СД-2 остается постоянным [3]. Между тем состав липидных компонентов в ЛП обоих классов претерпевал значительные изменения. Вдвое увеличивалась концентрация ТГ (см. рис. 1). Содержание ФЛ, напротив, уменьшалось и составляло менее 60 % по сравнению с контролем. Степень изменения величины

Изменение количества липопротеинов в сыворотке крови здоровых и больных лиц при действии гепарина ($M \pm m$) (в квадратных миллиметрах)

Фракции липопротеинов	Здоровые лица			Больные		
	до введения гепарина	после введения гепарина	Уровень значимости p	до введения гепарина	после введения гепарина	Уровень значимости p
ХМ	27 ± 1,5	15 ± 0,8	< 0,01	32 ± 1,4	13 ± 0,9	< 0,01
ЛОНП	108 ± 9	65 ± 6	< 0,02	139 ± 11	90 ± 8	< 0,02
ЛПП	68 ± 5	66 ± 5	> 0,9	78 ± 5	57 ± 4	< 0,05
ЛНП	351 ± 18	392 ± 21	> 0,4	494 ± 27	736 ± 43	< 0,05
Σ апоВ	554 ± 34	538 ± 34	> 0,9	743 ± 46	896 ± 58	< 0,05
ЛВП2в	179 ± 8	153 ± 7	> 0,2	188 ± 9	92 ± 8	> 0,02
ЛВП2а	234 ± 13	306 ± 19	< 0,05	268 ± 14	219 ± 11	< 0,05
ЛВП3	221 ± 13	219 ± 13	> 0,9	220 ± 11	248 ± 12	> 0,2
Σ апоА	634 ± 22	678 ± 24	> 0,8	676 ± 24	559 ± 21	> 0,2
Σ общая	1188 ± 96	1216 ± 87	> 0,8	1419 ±	1455 ± 92	> 0,9

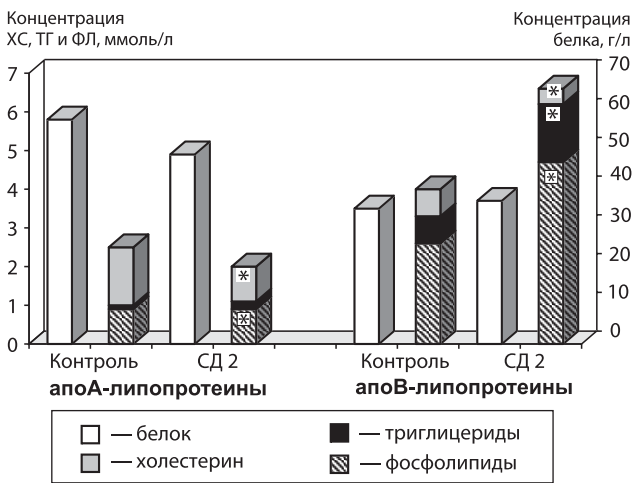


Рис. 1. Изменение состава липопротеинов у больных сахарным диабетом 2 типа по сравнению с контролем:
* — Изменение статистически значимо по сравнению с контролем ($p < 0,05$)

этих компонентов была близкой в апоА- и в апоВ-содержащих фракциях ЛП. В отличие от этого концентрация ХС в апоА-ЛП у больных СД-2 не изменялась, в то время как в апоВ-содержащих частицах увеличивалась на 80 %. Изменение соотношения между ХС и ФЛ в сторону его увеличения, как известно, является неблагоприятным фактором относительно развития атерогенеза, поскольку при этом снижается способность ЛВП к захвату свободного ХС с мембран периферических клеток. Таким образом, полученные данные об абсолютном и относительно количества ХС уменьшении ФЛ в составе ЛВП является дополнительным свидетельством снижения при СД-2 ХС-акцепторной функции ЛВП.

Известно, что одной из ярких особенностей изменения обмена ЛП при СД-2 является присутствие модифицированных по составу мелких плотных частиц ЛНП «фенотипа В» [10]. Их высокая подвижность при гель-электрофорезе обычно объясняется уменьшением размеров по сравнению с нормальными частицами. Вместе с тем, принимая во внимание полученные результаты, которые свидетельствуют о существенном

обогащении ЛНП у больных СД-2 холестерином, а также данные о том, что это приводит к увеличению положительного заряда частиц ЛНП [4], нельзя исключить при трактовке данных о подвижности в электрическом поле роль поверхностного потенциала частицы ЛП.

Полученные результаты (см. табл., рис. 2) показывают, что после введения гепарина здоровым и больным

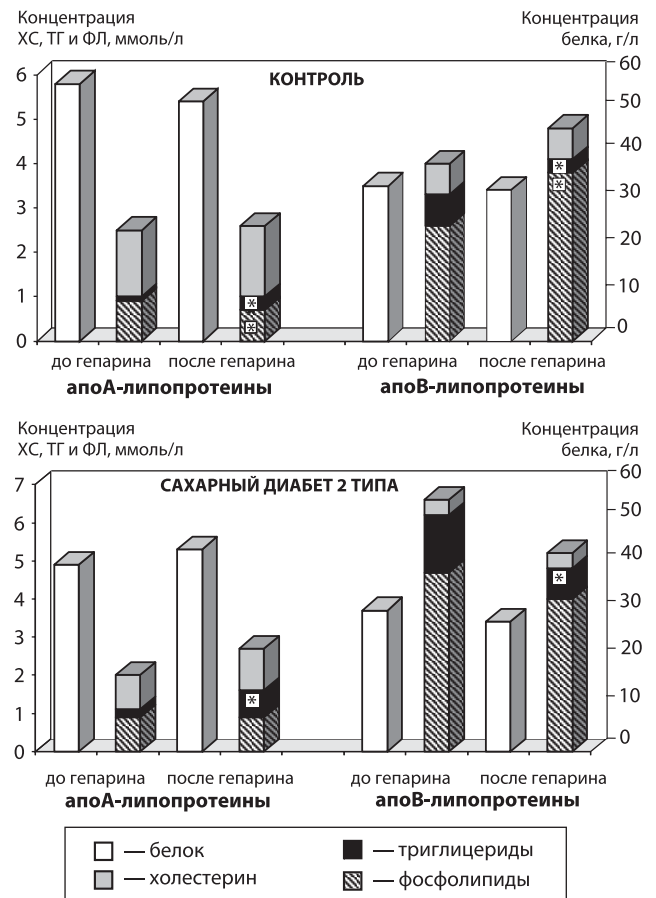


Рис. 2. Изменение состава липопротеинов у больных и здоровых лиц после действия гепарина:
* — Изменение параметра после введения гепарина статистически значимо ($p < 0,05$)

лицам происходили значительные изменения количества и состава исследованных фракций ЛП. Существенная общая особенность изменений состава (см. рис. 2) у больных и здоровых заключалась в том, что наблюдалось перераспределение транспортируемых компонентов — ХС и ТГ. В составе частиц апоВ- и апоА-классов количество структурных компонентов (белков и ФЛ) не изменялось.

Введение гепарина сопровождалось одинаковым эффектом на содержание в сыворотке крови в обеих исследованных группах триглицеридбогатых фракций ЛП. В том и другом случаях, несмотря на отличие начальной концентрации, наблюдалось понижение уровня ХМ и ЛОНП примерно в равной степени у здоровых и больных лиц. Этот эффект вполне можно отнести за счет повышения липопротеинлипазной активности сыворотки крови, которая выражается в гидролизе ТГ, т. к. известно, что ее функция на фоне гепарина может повышаться в десятки раз [4].

В последующих процессах превращения ЛП при действии гепарина у больных и здоровых лиц наблюдались выраженные отличия. В сыворотке крови здоровых добровольцев не изменялось по сравнению с исходной величиной содержание ЛПП — промежуточной фракции на пути формирования в кровотоке частиц ЛНП. Концентрация ЛНП после введения гепарина также статистически значимо ($p > 0,1$) не изменялась. Вместо этого наблюдалось повышение уровня одной из субпопуляций апоА-ЛП — ЛВП_{2а} (см. табл.). У больных СД-2 усиление липолиза ТГ-богатых ЛП при действии гепарина приводило к уменьшению содержания ЛПП, что сопровождалось соответствующим возрастанием уровня ЛНП. Вместо увеличения, как у здоровых, введение гепарина больным приводило к уменьшению содержания белково-липидных комплексов подкласса ЛВП₂ (2а + 2в).

На основании полученных данных можно судить о том, что у больных СД-2 нарушаются процессы обмена ЛП, связанные с последовательным каталитическим действием внепеченочной липопротеинлипазы и печеночной триглицеридлипазы, возможно, обусловленные изменением конформации частиц, что в свою очередь отражается изменением доли ТГ, локализованных в наружном слое ЛП. В итоге, в результате катаболизма ХМ и ЛОНП, при СД-2 усиливается синтез ЛНП в ущерб формированию в кровотоке апоА-содержащих ЛП.

Данные о количественных превращениях ЛП при действии гепарина согласуются с результатами определения доли ТГ и ХС в составе апоВ- и апоА-содержащих фракций. Результаты исследования свидетельствуют, что у здоровых лиц эффект гепарина выражается в увеличении количества ХС в составе апоВ-ЛП и уменьшении в составе апоА-ЛП. Количество ТГ, напротив, резко возрастало в составе апоА-ЛП и уменьшалось в апоВ-содержащих фракциях. Больные СД-2 характеризовались отсутствием изменений доли ХС как в апоА-, так и в апоВ-ЛП. Количество ТГ у больных изменялось практически так же, как у здоровых: возрастало в апоА- и уменьшалось в составе ЛП апоВ-класса.

Полученные результаты могут трактоваться как подтверждение представления об участии в процессах липолитической деградации ХМ и ЛОНП липидпереносящих белков [4]. Эти молекулы первично переносят в токе крови эфиры ХС с ЛВП на ХМ и ЛОНП в обмен на ТГ. Так и получается в настоящей работе. Количество

ТГ у больных и здоровых наполовину уменьшается в апоВ-ЛП и вдвое возрастает в составе апоА-ЛП.

Результаты проведенных исследований позволяют сделать следующие выводы.

1. У здоровых и больных лиц введение гепарина приводило к уменьшению содержания в сыворотке крови ТГ-богатых фракций ЛП (ХМ и ЛОНП). Между тем у здоровых не изменялось количество ЛПП и ЛНП, в то время как у больных содержание ЛПП уменьшалось, а ЛНП — увеличивалось. У здоровых вместо этого повышался уровень ЛВП_{2в}. У больных, напротив, содержание частиц подкласса ЛВП₂ уменьшалось.

2. Больные СД-2 характеризовались увеличением в 2 раза по сравнению со здоровыми лицами уровня ТГ в составе общих апоВ- и апоА-содержащих фракций ЛП. Количество ФЛ, напротив, уменьшалось. Концентрация ХС у больных увеличивалась только в составе апоА-ЛП. Количество белковых компонентов не изменялось.

3. Введение гепарина здоровым лицам сопровождалось увеличением количества ХС в составе апоВ-ЛП и уменьшением в составе апоА-ЛП. Концентрация ТГ изменялась в противоположном направлении, возрастая в составе апоА- и снижаясь в апоВ-содержащих фракциях. Количество белков и ФЛ не изменялось в составе ЛП ни здоровых, ни больных СД-2 лиц. У больных, помимо этого, не изменялось количество ХС, а изменения ТГ в качественном и количественном отношении подобны тем, которые наблюдались у здоровых.

Список литературы

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. Галевская Л. В., Соловцова И. Л., Рюмина Е. В. // Вопросы мед. химии. — 2001. — Т. 47, № 1. — С. 91—96.
3. Добрджгинидзе Л. М., Грацианский Н. А. Особенности диабетической дислипидемии и пути ее коррекции: эффект статинов // Пробл. эндокринологии. — 2001. — Т. 47, № 5. — С. 35—40.
4. Климов А. Н., Никульчева Н. Г. Обмен липопротеинов и его нарушения. — СПб., 1999. — 512 с.
5. Панин Л. Е., Потеряева О. Н., Воронова О. С. и др. Фрагмент аполипопротеина В с инсулиноподобной иммунореактивностью // Пробл. эндокринологии. — 2002. — Т. 48, № 1. — С. 6—9.
6. Соколик В. В., Божко Г. Х. Роль гепарина в формировании пищевой липемии // Український біохім. журнал. — 2005. — Т. 77, № 4. — С. 99—105.
7. Соколик В. В., Перцева Т. Г., Божко Г. Х. Усиление липолиза и истощение гепарина при развитии дислипидемии в условиях инсулинорезистентности // Проблемы эндокринологии. — 2005. — Т. 51, № 5. — С. 18—22.
8. Guerin M., Le Goff W., Lassel T. S. et al. Atherogenic role of elevated CE transfer from HDL to VLDL (1) and dense LDL in type 2 diabetes: impact of the degree of triglyceridemia // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2001. — Vol. 21. — P. 282—288.
9. Соколов Е. И., Перова Н. В. Диабетическая дислипидемия в патогенезе ишемической болезни сердца // Кардиология. — 2003. — № 5. — С. 16—20.
10. Tchernoff A., Lamarche B., Prud'homme D. et al. The dense LDL phenotype: associations with plasma lipoprotein level, visceral obesity and hyperinsulinemia in men // Diabetes Care. — 1996. — Vol. 19. — P. 629—637.
11. Yang C., Wu T., Huang C. Sequence, structure, receptor binding domains are internal repeats of human apolipoprotein B-100 // Amer. J. Nephrol. — 1998. — Vol. 18, № 5. — P. 384—390.

Надійшла до редакції 20.12.2007 р.

Г. Х. Божко, В. В. Соколік В. С. Чурсіна, Т. Г. Перцева

Зміни вмісту і складу ліпопротеїнів при введенні гепарину здоровим особам і хворим на цукровий діабет другого типу

ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології АМН України» (м. Харків)

Методом гель-електрофорезу і аналітичними методами досліджували зміни вмісту і складу ліпопротеїнів (ЛП) під впливом екзогенного гепарину у хворих на інсулінонезалежний цукровий діабет (ЦД-2). Отримані результати свідчать, що після введення гепарину здоровим і хворим особам відбувалися значні зміни кількості і складу досліджених фракцій ЛП. При цьому у хворих і здорових у складі часток апоВ- і апоА-класів спостерігався перерозподіл компонентів, що транспортуються (холестерину і тригліцеридів). Кількість структурних компонентів (білків і фосфоліпідів) не змінювалась. У здорових осіб концентрація тригліцеридів збільшувалась у складі апоА-вмісних фракцій ЛП і зменшувалась у складі апоВ-ЛП. Протилежний напрямок змін тригліцеридів у складі досліджених фракцій ЛП може бути непрямим підтвердженням уявлення про участь білків, що переносять ліпіди в процесах ліполітичної деградації ЛП. На підставі отриманих у роботі даних можна судити про те, що у хворих на ЦД-2 порушуються процеси обміну ЛП, пов'язані з послідовною каталітичною дією позапечінкової і печінкової ліпопротеїніпаз, внаслідок чого за ЦД-2 посилюється синтез ліпопротеїнів низької щільності на шкоду формуванню в кровообігу апоА-вмісних ЛП.

G. Kh. Bozhko, V. V. Sokolik, V. S. Chursina, T. G. Pertseva
Changes of lipoprotein amount and composition under the heparin intake in healthy persons and patients with diabetes mellitus of type II

"Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the AMS of Ukraine" SI (Kharkiv)

With the method of gel-electrophoresis and analytic methods changes of lipoprotein (LP) amount and composition under action of an exogenous heparin were investigated in patient with diabetes mellitus of type II (DM II). The results obtained demonstrated that there were significant changes in amount and composition of examined LP fractions after the heparin intake in healthy persons and the patients. A redistribution of transported components (cholesterol and triglycerides) in the composition of apoA- and apoB-classes were observed both in the patients and healthy persons. The amount of structural components (proteins and phospholipids) was unchanged. Both in the patients and healthy persons a concentration of the triglycerides was increased in apoA-containing LP fractions and was decreased in apoB-LP. An opposite direction of triglycerides changes in the examined LP fraction might be a non-direct support for the idea about participation of lipid-transporting proteins in processes of a LP lipolytic degradation. On the base of data obtained we may indicate, that in patients with DM II the processes of LP metabolism, connected with a catalytic action of out-liver and liver lipoproteinlipases, are injured resulting to in DM II a LPVLD synthesis is enhanced to the prejudice of formation of apoA-containing LP in the blood flow.

УДК 616.895.4-08-053.9:616.1/4

В. Н. Зелений¹, *врач-терапевт, начмед, Г. И. Каурова¹*, *врач психиатр, В. И. Лавский¹*, *врач невролог, А. С. Федорченко²*, *канд. мед. наук, зав. терапевтическим отделением, М. Е. Санина²*, *врач психоневролог, В. И. Янголь³*, *врач невролог, зав. неврологическим отделением*

¹ Черниговский гериатрический пансионат; ² Узловая больница ст. Чернигов;

³ Городская больница № 3 (г. Чернигов)

ЛЕЧЕНИЕ ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ У СОМАТИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА

Легче душе борются с
Тяжким страданием,
Нежели с продолжительной грустью.
Жан-Жак Руссо

На сегодня данные многочисленных работ свидетельствуют о значительной распространенности и недостаточном выявлении психических расстройств у соматических больных (Roy — Byrne, 2002; Toftetal, 2005). Наиболее частыми психическими нарушениями в общей медицинской практике являются тревожные и депрессивные расстройства [17].

На протяжении всего XX столетия практически во всех развитых странах мира наблюдался экстенсивный рост тревожно-депрессивных расстройств. (Подкорытов В. С., Чайка Ю. Ю., 2003).

Частота депрессий в общей популяции составляет около 8 %, а тревожных расстройств — 6 %. В контингентах же соматических больных эти показатели выше в 2—3 раза и достигают 20—30 % для депрессий и 12—15 % для тревожных расстройств (Finketal, 2005).

Указанные группы нарушений нередко сочетаются друг с другом (до 45 % тревожных расстройств сочетается с депрессиями) (Sartorius, 1996).

По данным официальной статистики Минздрава России, тревожными расстройствами той или иной выраженности страдает 30 % населения Российской

Федерации [цит. по 6]. В Украине также имеет место значительное увеличение заболеваемости тревожно-депрессивными расстройствами. По данным МЗ Украины в 2001 г. их распространенность составляла 284,5 на 100 тыс. населения, а заболеваемость — 78,1 на 100 тыс. [4].

Согласно официальным данным МЗ Украины, количество депрессивных больных составляет 0,5—2,5 % от общей популяции. По данным международного эпидемиологического исследования, на сегодняшний день около 20 % населения Украины могут соответствовать критериям диагноза аффективного расстройства [18].

Таким образом, тревожные расстройства — достаточно распространенное явление и, по данным зарубежных авторов, они встречаются у 95 % населения [цит. по 12]. Предполагается, что каждый третий пациент, обращающийся за медпомощью к терапевту, имеет повышенный уровень тревожности [7]. Обращаемость за медицинской помощью и стоимость лечения больных с депрессиями и тревожными расстройствами в общей медицинской сети примерно в 2—3 раза выше, чем у других категорий населения (Bernae et al., 2000; Hansen et al., 2002). При этом в целом от 20 до 60 % больных соматических лечебных