

ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПОПРОТЕИНОВОГО СПЕКТРА СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ АЛКОГОЛИЗМОМ

Вера Львовна ПАНИНА¹, Василий Анатольевич ЗЫКОВ², Максим Федорович ТУЗИКОВ¹

¹НИИ биохимии СО РАМН,
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

²Муниципальное учреждение Городская больница № 1
666673, г. Усть-Илимск, ул. Наймушина, д. 34

Впервые применен метод малоуглового рассеяния рентгеновских лучей (МУРР) для анализа липопротеинового спектра сыворотки крови у лиц, страдающих хроническим алкоголизмом. Показана его адекватность и высокая информативность. С помощью метода МУРР в условиях Сибири у мужчин с алкогольной зависимостью выявлена более выраженная трансформация атерогенных (хиломикроны, липопротеины очень низкой плотности – ЛПОНП) фракций липопротеинов (ЛП) в антиатерогенные (липопротеины высокой плотности второго подкласса – ЛПВП₂), что позволяет рассматривать употребление алкоголя как антириск-фактор атеросклероза. Однако при этом обнаружено снижение трансформации ЛПВП₂ в ЛПВП₃, т. е. угнетение печеночного звена обмена ЛП. У женщин подобное действие алкоголя на процессы трансформации липопротеинов в периферической крови выражено в меньшей степени и, вероятно, связано с более значительным негативным влиянием психоэмоциональной сферы на обмен липопротеинов.

Ключевые слова: хронический алкоголизм, липопротеины сыворотки крови, индекс атерогенности.

Изменения липопротеинового спектра, связанные с дисбалансом атерогенных и антиатерогенных фракций липопротеинов крови, являются важнейшим фактором риска в развитии сердечно-сосудистой патологии: атеросклеротического кардиосклероза, атеросклероза коронарных сосудов, грудной жабы, инфаркта миокарда и др. [1, 2]. Нередко в нашем обществе приходится сталкиваться с мнением, что употребление алкоголя может быть важным антириск-фактором данной патологии. Это подтверждается рядом исследований, в которых было показано, что у лиц с алкогольной зависимостью в крови повышено содержание ЛПВП [3, 4]. Однако механизм данного явления до конца не выяснен и продолжает изучаться. Ряд авторов считает, что алкоголь усиливает захват холестерина ЛПВП с мембран периферических клеток и последующий транспорт его с ЛПВП на содержащие апо В липопротеины [5]. Другие полагают, что алкоголь подавляет сialiрование апо Е, тем самым препятствуя взаимодействию его с ЛПВП и, соответственно, переносу на данный белок холестерина [6]. Третьи считают, что важную роль играет снижение активности плазменных липидпереносящих белков [7]. Ранее было показано, что большой вклад в нарушение периферического обмена ЛП в крови вносит психоэмоциональное напряжение человека. Повышение его (тревожность) значительно тормозит трансформацию атерогенных ЛП в антиатерогенные [8]. Однако в доступной нам

литературе этот аспект влияния на ЛП спектр у лиц, длительно злоупотребляющих приемом алкоголя, не рассматривался.

В данной работе исследовались изменения ЛП спектра сыворотки крови у мужчин и женщин, страдающих алкоголизмом, в условиях Сибири с учетом состояния их психоэмоциональной сферы.

Материал и методы

В клинических исследованиях нарушения липопротеинового спектра крови выявляются несколькими методами. Это может быть электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ). При использовании данного метода липопротеины непосредственно в сыворотке крови окрашиваются суданом черным, а затем разделяются в электромагнитном поле по фракциям [9, 10]. Количественная оценка их связана с денситометрией окрашенных полос. Таким методом удается определить, как правило, не более 5–6 фракций. Данная процедура очень трудоемкая и требует большой затраты времени, в связи с чем в клинике чаще используют упрощенный метод, основанный на определении содержания холестерина [3]. Концентрация холестерина измеряется в цельной сыворотке крови и после осаждения в ней суммарной фракции ЛПНП и ЛПОНП, последнее отражает содержание холестерина в ЛПВП. Затем по разности первого и второго значений находится концентрация холестерина атерогенных фракций ЛП. После этого, при необходимости, рассчитывается индекс атерогенности (ИА).

Панина В.Л. – аспирант, e-mail: ibch@soramn.ru

Зыков В.А. – врач-нарколог наркологического отделения, e-mail: zykov_vasilii@mail.ru

Тузиков М.Ф. – младш.н.с. лаборатории медицинской биотехнологии, e-mail: ibch@soramn.ru

В данном исследовании мы использовали новый метод МУРР, разработанный Ф.В. Тузиковым [11]. Принцип метода заключается в измерении рассеяния рентгеновских лучей липопротеинами, которое зависит от их размера и количества. Затем, используя данные по компонентному составу фракций ЛП, с помощью соответствующей компьютерной программы рассчитывается содержание в них холестерина, триглицеридов, фосфолипидов и белка, т. е. апо ЛП. Данный метод был успешно адаптирован к задачам клиники в ряде работ [12, 13].

Работа выполнялась на малоугловом рентгеновском дифрактометре фирмы «Siemens» (Германия). Измерения интенсивностей МУРР проводили при температуре 20 °С в угловом диапазоне $h = 0,0013 \div 0,522 \text{ \AA}$, где $h = 4n \times \sin(2\theta) / \lambda$; 20 – угол рассеяния. В рентгенограммы вносились поправки на фоновое рассеяние, поглощение, коллимацию, проводилось сглаживание. Первичная математическая обработка результатов измерения и вычисления функций распределения сферических частиц по размерам выполнялась по алгоритмам, описанным в [14]. Статистический анализ результатов исследования проводился с использованием пакета программ «Statistica» с применением t-критерия Стьюдента. Для учета длительности алкогольного анамнеза сыворотка крови бралась у больных хроническим алкоголизмом в возрасте до и после 50 лет, состоящих на учете в наркодиспансерах г. Новосибирска и Усть-Илимска. Контрольная группа формировалась из клинически здоровых лиц до 50 лет без сопутствующей патологии, проходящих профотбор на базе госпиталя ветеранов войн г. Новосибирска. Оценивалось также состояние психоэмоциональной сферы больных. Для этого использовали многофакторный метод исследования личности (тест ММРІ) [15] и 8-цветовой тест Люшера [16].

Работа проводилась с соблюдением биоэтических норм, требуемых для клинических исследований.

Результаты и обсуждение

Метод МУРР для количественного определения изменений ЛП сыворотки крови и их компонентного состава оказался очень эффективным. Он позволяет без предварительной обработки образцов в малом объеме (до 50 мкл) определять содержание не только основных классов ЛП (ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП), но и промежуточных продуктов их обмена (ремнантов), всего 15–16 фракций. Для упрощения анализа и облегчения сопоставления полученных результатов с данными литературы их лучше группировать по принадлежности к основным классам.

Показано, что в контрольной группе лиц суммарное содержание антиатерогенных ЛП (ЛПВП) составляло 29,2 %, атерогенных – 70,8 % (ЛПНП – 64,8 %, ЛПОНП – 6,0 %) по отношению к общему содержанию ЛП в сыворотке крови, холестерина – 151,2 мг/дл, триглицеридов – 107 мг/дл (табл.). Соответственно индекс атерогенности составлял 2,42. Это хорошо согласуется с данными, полученными ранее другими авторами в условиях Сибири на основе прямого определения холестерина ЛП фракций [17]: в контрольной группе общее содержание холестерина составляло $181,9 \pm 15,5$ мг/дл, холестерина ЛПВП – $42,6 \pm 3,5$ мг/дл, триглицеридов – $70,8 \pm 8,8$ мг/дл. Полученные результаты позволяют оценить и другие показатели. Так, содержание холестерина атерогенных фракций (ЛПНП + ЛПОНП) равнялось 139,3 мг/дл, а ИА – 3,2. В процентном выражении концентрация суммарных ЛПВП составляла 23,4 %, а ЛПНП + ЛПОНП – 70,6 %. Близкие результаты у здоровых лиц получены и другими авторами [3, 5].

Таблица

Изменение липопротеинового спектра сыворотки крови у мужчин с хроническим алкоголизмом в зависимости от возраста ($M \pm m$)

Возраст	Содержание фракций липопротеинов (мг/дл)								ОХ	ОТ
	ЛПВП ₃	ЛПВП ₂	Σ ЛПВП	ЛПНП _{1,3}	ЛППП	Σ ЛПНП	ЛПОНП			
Контроль, < 50 лет (n = 25)	19,4 ± 4,0	24,8 ± 5,0	44,2 ± 4,3	81,8 ± 5,0	16,3 ± 2,1	98,1 ± 6,0	9,0 ± 2,5	151,2 ± 5,0	107 ± 10,0	
Алкоголики, < 50 лет (n = 20)	11,9 ± 2,2*	54,0 ± 6,9*	65,9 ± 6,9*	59,9 ± 15,9*	15,9 ± 5,0	75,9 ± 14,0*	9,1 ± 3,0	150,9 ± 17,0	102,0 ± 15,0	
Алкоголики, > 50 лет (n = 20)	16,4 ± 5,0	44,9 ± 13,0*	61,2 ± 13,0	60,2 ± 17,0*	20,9 ± 9,0	81,1 ± 17,0	15,7 ± 10,0	158,0 ± 21,0	125,0 ± 36,0	

Примечание: ОХ – общий холестерин, ОТ – общие триглицериды; * – отличие от показателя в группе контроля достоверно при $p < 0,05$. Достоверных различий между младшей и старшей возрастной группой у лиц с алкогольной зависимостью не найдено.

В дальнейшем метод ММУР применялся нами для оценки изменения ЛП спектра у больных, страдающих алкогольной зависимостью. Обследовались две группы лиц: моложе и старше 50 лет. Соответственно они отличались и по длительности алкогольного анамнеза. Оказалось, что в первой возрастной группе суммарное содержание ЛПВП было достоверно выше, чем в контроле. Распределение ЛПВП по фракциям также значительно отличалось: выявленное увеличение происходило за счет возрастания концентрации ЛПВП₂, в то время как содержание ЛПВП₃ оказалось достоверно ниже. Суммарное содержание ЛПНП также было достоверно ниже, чем у здоровых людей, в то время как различий в содержании ЛПОНП и липопротеинов промежуточной плотности (ЛППП) обнаружено не было. Не найдено различий в содержании общего холестерина и триглицеридов (табл.). У лиц старшей возрастной группы (> 50 лет) выявлены те же изменения ЛП спектра в несколько менее выраженной степени. Они свидетельствуют о том, что у лиц, страдающих алкогольной зависимостью, периферический обмен ЛП (обмен в капиллярном русле) протекает более активно. Это приводило к тому, что ИА у них был значительно ниже, чем у здоровых людей, и составлял 1,28 для младшей и 1,58 для лиц старшей возрастной группы. У последних отмечалась также тенденция к увеличению содержания триглицеридов в крови.

Похожие результаты были получены ранее другими авторами, которые использовали для оценки ЛП спектра сыворотки крови определение содержания холестерина [3] или применяли более адекватный метод электрофореза в ПААГ [10]. В последней работе авторы связывают увеличение в крови алкоголиков содержания ЛПВП₂ с повышением активности липопротеинлипазы: значительно возрастала свободная активность фермента, в то время как связанная снижалась. Таким образом, действие алкоголя напоминает эффект гепарина («просветляющего фактора»). Известно, что субстратом липопротеинлипазы являются

хиломикроны и ЛПОНП [18]. Последние считаются основным источником образования ЛПНП в периферической крови. В наших исследованиях было показано, что из атерогенных фракций ЛП в крови снижается концентрация только ЛПНП. Содержание ЛПОНП либо не изменялось (в младшей возрастной группе), либо имело тенденцию к увеличению (в старшей возрастной группе). В связи с этим можно допустить, что снижение уровня ЛПНП в крови у алкоголиков обусловлено токсическим эффектом этанола на печень и связанный с ней синтез данной фракции ЛП. Тогда повышенное содержание ЛПВП₂ в крови хорошо объясняется действием липопротеинлипазы преимущественно на хиломикроны. Обнаруженное нами снижение в крови алкоголиков концентрации ЛПВП₃ говорит о нарушении взаимопревращений ЛПВП₂ и ЛПВП₃ в сосудистом русле. Скорее всего, здесь речь идет о подавлении активности печеночной триглицеридлипазы под влиянием алкоголя. Известно, что данный фермент обладает не только триглицеридлипазной, но в большей степени фосфолипазной активностью [18]. Под влиянием печеночной триглицеридлипазы ЛПВП₂ трансформируются в ЛПВП₃. Снижение содержания в крови последних говорит о том, что этот механизм обмена ЛП в печени у алкоголиков страдает (табл.).

Ранее было показано, что на трансформацию в периферической крови атерогенных ЛП в антиатерогенные значительное влияние оказывает психоэмоциональное напряжение (тревожность) [8]. Оно связано с действием гормонов стресса: катехоламинов и глюкокортикоидов. Принимая во внимание, что женщины эмоционально более лабильны, чем мужчины, мы попытались оценить изменение ЛП спектра сыворотки крови у них в условиях алкогольной интоксикации (рис.). Оказалось, что у женщин с хроническим алкоголизмом повышение в крови содержания фракций суммарных ЛПВП и особенно ЛПВП₂ менее выражено, чем у мужчин. В соответствии с этим у них оказалось выше содержание ЛПНП₁₋₃ и суммарных ЛПНП. Это

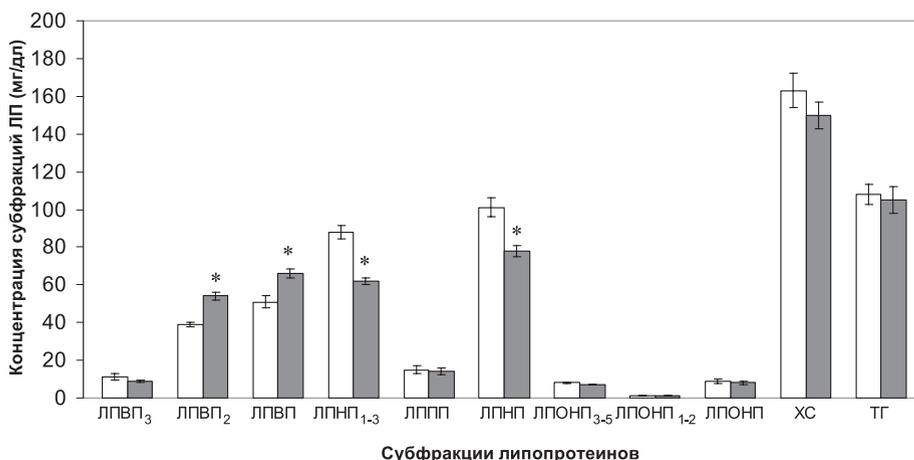


Рис. Сравнение ЛП спектра сыворотки крови больных хроническим алкоголизмом женщин (□, n = 20) и мужчин (■, n = 20) до 50 лет (* – отличие от показателя в группе женщин достоверно при p < 0,05).

позволяет предположить, что тревожность также может вносить свой вклад в нарушение периферического обмена ЛП в крови.

Наши исследования этой проблемы выявили значительные особенности личности (тест ММРІ) как у мужчин, так и у женщин, страдающих алкогольной зависимостью. Для них были характерны эмоциональная напряженность, недоверчивость, скептицизм, повышенный контроль над ответами, стремление скрыть компрометирующую их информацию. Оказалось, что все эти признаки были выражены в большей степени у женщин, чем у мужчин. У женщин в эмоциональном фоне в большей степени преобладали снижение настроения, адинамия, безрадостное восприятие действительности, склонность к «застреванию» на отрицательных эмоциях. У женщин чаще проявлялись эмоциональная лабильность, импульсивность, повышенная чувствительность к критическому или негативному отношению окружающих, построение ригидных умозаключений или сверхценных идей. Повышение значений на шкалах F,2,7,8 указывает на высокий уровень тревожности у лиц с алкогольной зависимостью, более выраженный у женщин, чем у мужчин. Использование 8-цветового теста Люшера также выявило у алкоголиков повышение уровня тревожности, снижение волевого контроля, преувеличение уже существующих проблем, ранимость, уязвимость, обидчивость, более выраженные у женщин, чем у мужчин. У лиц с алкогольной зависимостью в стадии обострения и усиления невротических реакций в выборе цветов преобладали темные тона, что может трактоваться как потребность в независимости с помощью протестных реакций. Однако достаточно активная жизненная позиция протеста у них сочеталась с проявлением пассивности и ухода от жизненных коммуникаций, чему соответствовали черный и коричневый цвета.

Таким образом, различия в психоэмоциональной сфере у мужчин и женщин с алкогольной зависимостью хорошо согласуются с различиями в ЛП спектре сыворотки крови и подтверждают выявленное ранее ингибирующее действие тревожности на трансформацию атерогенных ЛП в антиатерогенные.

Заключение

Метод МУРР, использованный нами для анализа ЛП спектра сыворотки крови, оказался адекватным и очень информативным. Результаты, полученные данным методом, хорошо согласуются с результатами, полученными с помощью электрофореза ЛП в ПААГ или прямого определения связанного с ними холестерина. Это касается как здоровых лиц (контроль), так и лиц, страдающих алкоголизмом. Данный метод позволяет определять содержание до 16 фракций ЛП и пригоден не только для индивидуальных, но и для популяционных исследований, а также для быстрого получения сравнительных результатов. Выявленные

методом МУРР у алкоголиков половые различия в ЛП спектре свидетельствуют о меньшем позитивном влиянии алкоголя на обмен липопротеинов у женщин, чем у мужчин. Использование психофизиологических тестов позволило связать эти различия с более выраженной тревожностью и эмоциональной лабильностью женщин, чем мужчин.

Список литературы

1. Соколов Е.И. Эмоции, гормоны и атеросклероз. М.: Наука, 1991. 294 с.
Sokolov E.I. The emotions, hormones and atherosclerosis. M: Nauka, 1991. 294 p.
2. Панин Л.Е. Обмен липопротеинов и атеросклероз // Бюл. СО РАМН. 2006. (2). 15–22.
Panin L.E. The lipoprotein metabolism and atherosclerosis // Byul. SO RAMN. (2). 15–22.
3. Weidman S.W., Beard J.D., Sabesin S.M. Plasma lipoprotein changes during abstinence in chronic alcoholics // *Atherosclerosis*. 1984. 52. 151–166.
4. Соколик В.В., Чурсина В.С., Артемчук А.А. и др. Подавление активности сывороточной эстеразы и липопротеиновой липазы при остром и продолжительном действии этанола // Биомед. химия. 2006. 52. (1). 95–100.
Sokolik V.V., Chursina V.S., Artemchuk A.A. et al. Depression of serum esterase and lipoprotein lipase activities in acute and longitudinal actions of ethanol // Biomed. khimiya. 2006. 52. (1). 95–100.
5. Сердюк А.П., Метельская В.А., Озерова И.Н. и др. Влияние алкоголя на основные этапы обратного транспорта холестерина // Биохимия. 2000. 65. (11). 1310–1315.
Serdyuk A.P., Metelskaya V.A., Ozerova I.N. et al. Effects of alcohol on the major steps of reverse cholesterol transport // Biochemistry. 2000. 65. (11). 1310–1315.
6. Rao M.N., Liu Q.N., Marmilot P. et al. High-density lipoproteins from human alcoholics exhibit impaired reverse cholesterol transport function // *Metabolism*. 2000. 49. (11). 1406–1410.
7. Liinamaa M.J., Kesaniemi Y.A., Savolainen M.J. Lipoprotein composition influences cholesteryl ester transfer in alcohol abusers // *Ann. Med.* 1998. 30. (3). 316–322.
8. Панин Л.Е., Соколов В.П. Психосоматические взаимоотношения при хроническом эмоциональном напряжении. Новосибирск, 1981. 176 с.
Panin L.E., Sokolov V.P. Psychosomatic interrelations at chronic emotional tension. Novosibirsk, 1981. 176 p.
9. Поляков Л.М., Панин Л.Е. Метод количественного определения липопротеидов сыворотки крови путем элюирования участков дискэлектрофореграмм тритоном X-100 // Лаб. дело. 1975. (2). 131.
Polyakov L.M., Panin L.E. Method of quantitative determination of blood serum lipoproteins by elution of disclectrophoregrams by triton X-100 // Lab. delo. 1975. (2). 131.

10. Божко Г.Х., Соколик В.В., Чурсина В.С., Артемчук А.Ф. Изменение обмена липопротеинов при алкоголизме не восстанавливается в условиях длительной ремиссии // Биомед. химия. 2006. 52. (2). 192–199.

Bozhko G.Kh., Sokolik V.V., Chursina V.S., Artemchuk A.F. Changes in the lipoprotein metabolism in alcoholism do not recover during of prolonged remission // *Biomed. khimiya*. 2006. 52. (2). 192–199.

11. Пат. 2099693 РФ. Способ анализа липопротеидов в плазме крови методом МУРР / Тузи-ков Ф.В., Тузикова Н.А., Мистюрин Ю.Н.; опубл. 20.12.1995.

Patent 2099693 RF. Method of blood serum lipoproteins analysis by SAXS / *Tuzikov F.V., Tuzikova N.A., Mistyurin Yu.N.*; published 20.12.1995.

12. Тузи-ков Ф.В., Тузикова Н.А., Панин Л.Е. и др. Определение фракционного состава липопротеинов крови методом малоуглового рентгеновского рассеяния // Биол. мембраны. 1998. 15. 420–432.

Tuzikov F.V., Tuzikova N.A., Panin L.E. et al. Determination of fractional composition of blood lipoproteins by small-angle X-ray scattering // *Biol. membrany*. 1998. 15. 420–432.

13. Тузи-ков Ф.В., Тузикова Н.А., Галимов Р.В. и др. General model to describe the structure and dynamic balance between different human serum lipoproteins and its practical application // *Med. Sci. Monit*. 2002. 8. 79–88.

14. Свергун Д.И., Фейгин Л.А. Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние. М.: Наука, 1986. 50–279.

Svergun D.I., Feygin L.A. X-ray and neutron small-angle dispersion. М: Nauka, 1986. 50–279.

15. Собчик Л.Н. Метод психологической диагностики: стандартизованный многофакторный метод исследования личности: Методическое руководство. М., 1990. 75 с.

Sobchik L.N. The method of psychological diagnostics: multivariate standardized method for studying personality: *Methodological handbook*. М., 1990. 75 p.

16. Собчик Л.Н. Методы психологической диагностики. Метод цветowych выборов: модифицированный цветовой тест Люшера: Методическое руководство. М., 1990. 88 с.

Sobchik L.N. Methods of psychological diagnostics. Method of color selection: a modified Luscher colour test: *Methodological handbook*. М., 1990. 88 p.

17. Рагино Ю.И., Никитин Ю.П. Модифицированные липопротеины низкой плотности и атеросклероз // Вопросы атеросклероза. Новосибирск: Изд-во СО РАМН, 2005. 180–215.

Ragino Yu.I., Nikitin Yu.P. Modified low-density lipoproteins and atherosclerosis // *Voprosy ateroskleroza*. Novosibirsk: Izd-vo SO RAMN, 2005. 180–215.

18. Климов А.Н., Никольцева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. СПб., 1999. 505 с.

Klimov A.N., Nikulcheva N.G. Metabolism of lipids and lipoproteins and its disturbances. SPb., 1999. 505 p.

CHANGES OF BLOOD SERUM LIPOPROTEIN SPECTRUM IN PATIENTS WITH CHRONIC ALCOHOLISM

Vera L'vovna PANINA¹, Vasili Anatol'evich ZYKOV², Maxim Fedorovich TUZIKOV¹

¹Scientific Research Institute of Biochemistry of SB RAMS
630117, Novosibirsk, Timakov st., 2

²Municipal Institution City Hospital № 1
666673, Ust-Ilimsk, Naimushin st., 34

The method of small-angle X-ray scattering (SAXS) was used for the first time for analysis of the blood serum lipoprotein spectrum in patients suffering from chronic alcoholism. Its relevance and high information value was shown. By the use of SAXS-method the more pronounced transformation of atherogenic lipoprotein fractions (chylomicrons, VLDL) to the antiatherogenic fractions (high density lipoproteins of the second subclass – HDL₂) was revealed in Siberian men with alcohol dependence. It allows us to consider the alcohol as antirisk factor of this pathology. However, the decrease in transformation of HDL₂ to HDL₃, i. e. the inhibition of liver-level exchange of lipoproteins was observed. Similar effects of alcohol on the processes of peripheral blood lipoprotein transformation was less pronounced in women, and probably associated with more significant negative impact of psycho-emotional sphere in lipoprotein metabolism.

Key words: chronic alcoholism, blood serum lipoproteins, atherogenic index.

Panina V.L. – post-graduate, e-mail: ibch@soramn.ru

Zykov V.A. – physician-narcologist, department of narcology, e-mail: zykov_vasili@mail.ru

Tuzikov M.F. – junior researcher, laboratory of medical biotechnology, e-mail: ibch@soramn.ru