

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

КОТЮЖИНСЬКА СВІТЛАНА ГЕОРГІЇВНА

УДК 616.13-004.6:577.352.333

**ПАТОФІЗІОЛОГІЯ ЛІПІДТРАНСПОРТНОЇ СИСТЕМИ
ТА ЇЇ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗІ АТЕРОСКЛЕРОЗУ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Підписано до друку 25.03.2015.
Обсяг 1,9 авт. арк. Формат 60x84/16.
Тираж 100 прим. Папір офсетний. Зам. № 146.

Надруковано у друкарні видавництва «Астропринт»
(Свідоцтво ДК № 1373 від 28.05.2003 р.)
м. Одеса, вул. Разумовська, 21.
Тел./факс: (0482) 37-14-25, 37-24-26, 33-07-17.
www.astroprint.odessa.ua; www.fotoalbom-odessa.com

Одеса – 2015

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеському національному медичному університеті МОЗ України.

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки та техніки України
ГОЖЕНКО Анатолій Іванович,
Державне підприємство «Український науково-
дослідний інститут медицини транспорту»
МОЗ України, м. Одеса, директор

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
КЛИМЕНКО Микола Олексійович,
Харківська медична академія післядипломної освіти
МОЗ України, м. Харків, завідувач кафедри клінічної
патофізіології, топографічної анатомії та оперативної
хірургії

доктор медичних наук, професор
МИСУЛА Ігор Романович,
Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський
державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського
МОЗ України», м. Тернопіль, завідувач кафедри
медичної реабілітації

доктор біологічних наук, професор
ЛЕВИЦЬКИЙ Анатолій Павлович,
Державне підприємство «Інститут стоматології
НАМН України», м. Одеса, заступник директора
з наукової роботи

Захист дисертації відбудеться «___» _____ 2015 року о ___ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.600.01 при Одеському національному медичному університеті МОЗ України (65082, м. Одеса, пров. Валіховський, 2).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Одеського національного медичного університету МОЗ України (65082, м. Одеса, пров. Валіховський, 3).

Автореферат розісланий «___» _____ 2015 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 41.600.01
д.мед.н., професор



В. В. Годован

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Атеросклероз вже давно отримав назву «хвороба століття», оскільки домінує в структурі серцево-судинної патології та лягає важким соціально-економічним тягарем на суспільство в усіх розвинених країнах [Калинкін М. Н. і соавт., 2009; Шерашов В. С. і соавт., 2012]. В Україні захворюваність і смертність від серцево-судинних захворювань серед населення за останні 5 років зросла в середньому на 5 % та має тенденцію щодо збільшення в подальшому [Коваленко В. М. та співавт., 2013].

Патогенез атеросклерозу є складним багатофакторним процесом, в механізмах розвитку якого беруть участь дисліпідемія, дисфункція ендотелію, окислювальний стрес, порушення коагуляційної системи крові та вуглеводного обміну, процеси запалення тощо [Аронов Д. М. і соавт., 2009; Саннікова А. А. і соавт., 2010; Memon R. A. et al., 2010; Sugioka K. et al., 2010]. Порушення в системі транспорту ліпідів крові є загально визнаним ключовим компонентом патогенезу атеросклерозу. Проте причини та механізми порушення транспорту ліпопротеїнів, що призводять до розвитку захворювання, залишаються головними нез'ясованими питаннями атерогенезу [Титов В. Н., 2011; Осипенко А. Н. і соавт., 2011; Stefanutti C., Julius U., 2013].

Ліпідтранспортна система організму людини і тварин відіграє основну роль у перенесенні жирів від кишечника після всмоктування до печінки та жирової тканини, а також із печінки у вигляді стабільних ліпопротеїнів, в першу чергу, у формі ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ), до тканин, які їх використовують [Кухарчук В. В., 2010; Thompson G. R. et al., 2010]. Основна увага тривалий час приділялася особливостям транспортних молекул ліпопротеїнів, зокрема, їх апопротеїновому складу [Азизова О. А., 2005; Barter P. J. et al., 2006; Mudd J. O. et al., 2007; Побережна А. В. та співавт., 2010; Su T. C. et al., 2013]. Встановлено, що порушення утворення окремих видів апопротеїнів може призвести до явищ дисліпопротеїнемії з підвищенням вмісту в плазмі крові ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), які містять велику кількість холестерину [Brown R. J., 2008; Панин Л. Е. і соавт., 2010; Robinson J. G. et al., 2012]. В силу цього даний механізм розглядається як один з найважливіших у патогенезі атеросклерозу.

Відомо, що ω -3 поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) покращують ендотеліальну функцію, мають протизапальний ефект, антикоагулянтні властивості, а також впливають на ліпідний обмін [Осипенко А. Н., 2012; Hamden K. et al., 2012; Титов В. Н., 2013]. Встановлено, що поліненасичені жирні кислоти, беручи участь у синтезі ейкозаноїдів, локально регулюють функцію ендотелію, що має значення в профілактиці розвитку та прогресування атеросклерозу [Назаров П. Е. і соавт., 2009; Hirose A. et al., 2011; Ansell V. J. et al., 2013].

Однак багато патогенетичних ланок атерогенезу до теперішнього часу залишаються дискусійними й до кінця не вивченими. Недостатньо досліджені аспекти метаболізму жирних кислот соматичними клітинами, в

першу чергу, м'язовими. Відомо, що жирні кислоти не перебувають у вільному стані в плазмі крові, а входять до складу ЛПДНЩ, ЛПНЩ, ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) та нейтральних ліпідів тригліцеридів [Рагино Ю. И. и соавт., 2011; Navab M. et al., 2011]. Ключовим механізмом використання тригліцеридів у тканинах є їх гідроліз під впливом ліпопротеїніпази, що фіксується на стінці судин [Воробьев И. А. и соавт., 2008; Yasuda T. et al., 2010; Максименко А. В., 2011]. Цей етап залежить від двох складових: потреби тканин в жирних кислотах та активності ліпопротеїніпази. Встановлено, що на активність ліпопротеїніпази впливає низка чинників, з яких на першому місці стоїть гепарин [Данилова О. О., 2008; Ким Л. Б. и соавт., 2010]. Основним депо гепарину в організмі є тучні клітини [Кондашевская М. В., 2010; Ильин Д. А., 2011]. Відомо, що порушення локального метаболізму ліпідів є причиною виникнення цілої низки патологічних змін в ліпідтранспортній системі організму [Лутай М. И., 2010]. Однак роль в цьому процесі функціональної триади тучні клітини – гепарин – ліпопротеїніпаза не вивчена.

У зв'язку з цим, дослідження механізмів функціонування ліпідтранспортної системи на етапі утилізації ліпопротеїнів тканинами та порушення системи «тучні клітини – гепарин – ліпопротеїніпаза» є актуальною проблемою сучасної патофізіології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження виконувалися в межах планової науково-дослідної роботи кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету МОЗ України (ОНМедУ) «Роль та механізми порушення ліпідтранспортної системи крові у патогенезі атеросклерозу» (№ держреєстрації 0110U006663). Дисертант є відповідальним виконавцем теми.

Мета і завдання дослідження. Метою дослідження стало вивчення патогенетичної ролі ліпідтранспортної системи в механізмах порушень ліпідного обміну та обґрунтування патогенетичного значення системи тучні клітини – гепарин – ліпопротеїніпаза у генезі атеросклерозу.

Для досягнення вказаної мети були поставлені такі *задачі*:

1. Провести комплексний аналіз змін особливостей функціонального стану ліпідтранспортної системи у хворих на атеросклероз різного генезу.
2. Вивчити ступінь впливу ферментативної активності ліпопротеїніпази на функціональний стан ліпідтранспортної системи на клінічних моделях хворих з гіпогепаринемією.
3. Дослідити динаміку змін основних ланцюгів ліпідтранспортної системи на клінічних моделях гіпогепаринемії при функціональних навантаженнях – жировому, вуглеводному та одноразовому дозованому фізичному.
4. Оцінити ступінь і характер змін функціонального стану ліпідтранспортної системи на клінічних моделях гіпергепаринемії.
5. Виявити взаємозв'язок між функціональним станом тканинних базофілів, рівнем гепарину і активністю ліпопротеїніпази при експериментальній гіперліпідемії у щурів та з'ясувати особливості їх участі у розвитку атеросклеротичних уражень судин.

6. Експериментально обґрунтувати та апробувати нову експериментальну модель порушень ліпідтранспортної системи у щурів на підставі модуляції функціонального стану мастоцитів.

Об'єкт дослідження – патогенетичні механізми атеросклерозу.

Предмет дослідження – патофізіологічні механізми порушення функціонального стану ліпідтранспортної системи людей та щурів за умов гіпо- та гіпергепаринемії.

Методи дослідження: патофізіологічні, біохімічні, функціональні, морфологічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше сформульована і обґрунтована гіпотеза щодо ролі функціонального комплексу тучні клітини – гепарин – ліпопротеїніпаза в порушенні функціонування ліпідтранспортної системи з розвитком гіперліпідемії та дисліпопротеїнемії як однієї із важливих ланок патогенезу атеросклерозу.

Комплексне вивчення особливостей ліпідтранспортної системи у хворих зі станами гіпо- та гіпергепаринемії вперше виявило, що характер та ступінь порушення транспорту ліпопротеїнів на тканинному рівні залежить від ефективності ліполізу насичених жирних кислот плазми крові. Встановлений механізм обумовлений здатністю гепарина впливати на функціональну активність ліпопротеїніпази. Вперше показано, що при патологічних станах з надлишком гепарину в плазмі крові порушення з боку ліпідтранспортної системи мають антиатерогенний характер та виявляють її проатерогенну схильність, що обумовлено низькою ліполітичною активністю та зниженням рівня поліненасичених жирних кислот внаслідок підвищеної їх потреби. Вперше виявлена різниця в реакції ліпідтранспортної системи у хворих на атеросклероз за різних функціональних навантажень, яка полягає в віддзеркалюють стани надлишкового надходження, споживання і утилізації жирів за рахунок зниженої активності ліпопротеїніпази.

Вперше експериментально обґрунтовано та з'ясовано механізм адаптації щурів до харчових ліпідних навантажень внаслідок природної посиленої секреторної активності тучних клітин та підвищеного титру гепарину в плазмі крові. Вперше доведено, що гепарин секретується у відповідь на ліпідне навантаження і є незалежним чинником, який посилює ліполіз в результаті вивільнення в кровообіг ліпопротеїніпази із ендотелію судин.

Вперше на моделі харчової гіперліпідемії у щурів в поєднанні з впливом на функціональний стан мастоцитів доведено, що зменшення рівня гепарину в крові призводять до відповідного падіння функціональної активності ліпопротеїніпази з подальшим формуванням дизрегуляторної патології ліпідтранспортної системи атерогенної спрямованості та подальшим розвитком атеросклеротичних змін в судинах. Вперше встановлено механізм регуляції ліпідного обміну тучними клітинами за рахунок морфологічної перебудови популяції клітин та збільшення випадків тотальної дегрануляції мастоцитів у відповідь на штучну гіперліпідемію.

Вперше виявлено, що пригнічення активності ліпопротеїнази є провідним механізмом пошкодження ліпідтранспортної системи, яке призводить до формування «хибного кола» в патогенезі ліпідного обміну.

Практичне значення одержаних результатів. Результати роботи слугують патогенетичним обґрунтуванням для розробки нових методів лікування, спрямованих на корекцію та регуляцію процесів транспорту ліпідів при атеросклерозі. Розроблено комплексний спосіб лікування хворих на ішемічну хворобу серця з артеріальною гіпертензією на фоні дисліпідемії в основу якого покладено механізм впливу на ліпідтранспортну систему, що покращує показники ендотеліальної вазодилатації.

Виявлено, що підвищення рівня ендогенного або екзогенного гепарину можна застосувати як спосіб управління активністю ліпопротеїнази та ліпідтранспортною системою. Встановлені факти доводять можливість використання титру гепарину як предиктора раннього розвитку атеросклеротичного процесу в організмі людини.

Вперше запропонована принципова нова експериментальна модель порушень ліпідтранспортної системи у щурів, яка відкриває нові методологічні підходи до вивчення ланок патогенезу атеросклерозу в експерименті та патогенетичного обґрунтування їх корекції.

За результатами роботи опубліковані 1 методичні рекомендації «Спосіб комплексного лікування хворих на ішемічну хворобу серця з артеріальною гіпертензією на фоні дисліпідемії» МОЗ України.

Одержані результати впроваджені в навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету, Харківського національного медичного університету, Кримського національного медичного університету ім. С. І. Георгієвського, Національного фармацевтичного університету, ДВНЗ «Українська медична стоматологічна академія», ДВНЗ «Тернопільський національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського», Буковинського державного медичного університету, Донецького національного медичного університету ім. М. Горького, медичного інституту Сумського державного університету, Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького, на кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною науковою роботою автора. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук; сформульовані мета та завдання дослідження; здійснені огляд і аналіз літератури, визначені методологічні підходи; обґрунтуванні та відпрацьовані дослідні моделі; виконані експериментальні дослідження, а також проведені аналіз, статистична обробка і узагальнення отриманих результатів, обґрунтовані основні положення та наукові висновки роботи, написана і оформлена дисертація.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації були представлені у вигляді доповідей на: II міжнародній науковій конференції

«Гомеостаз: фізіологія, патологія, фармакологія і клініка» (Одеса, 2005), V, VII, IX-XIII читаннях ім. В. В. Підвисоцького (Одеса, 2006, 2008, 2010-2014), XVIII з'їзді Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю (Одеса, 2010), V Пленумі наукового товариства патофізіологів України з міжнародною участю, присвяченого 110-річчю від дня народження акад. АМН СРСР М. М. Горєва «Современные аспекты типовых патологических процессов» (Луганськ, 2010), VII Південноукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні проблеми атеросклерозу – від гіпотез до фактів» (Одеса, 2012), VI Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Від експериментальних досліджень до клінічної патофізіології» (Крим, Сімферополь-Місхор, 2012), VIII Південноукраїнській науково-практичній конференції «Традиції та інновації внутрішньої медицини» (Одеса, 2013), науково-практичній конференції, присвяченій 90-річчю Чорноморської центральної басейнової лікарні на водному транспорті «Сучасні аспекти клінічної медицини» (Одеса, 2013), VI науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2013).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 39 наукових робіт, з них 15 статей у фахових наукових виданнях, рекомендованих МОН України (6 – у індексованих журналах, 7 статей у зарубіжних фахових періодичних виданнях (4 – у індексованих виданнях, 1 – у електронному ресурсі), 1 стаття у іноземному збірнику праць, 1 методичні рекомендації МОЗ України, 15 тез доповідей на міжнародних конференціях, з'їздах та конгресах.

Структура та обсяг дисертації. Робота викладена на 342 сторінках комп'ютерного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, п'яти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів і висновків. Список літератури містить 390 джерел, з них 257 – латиницею. Робота проілюстрована 56 таблицями і 57 рисунками, з яких 8 мікрофотографії.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Для виконання завдань та досягнення мети дослідження роботу виконували в декілька етапів. Всі дослідження за участю людей та досліди на щурах здійснювали згідно біоетичними нормами (протокол комісії з біоетики ОНМедУ № 50-В від 22.11.2013 р.). На першому етапі дослідження методом відкритого рандомізованого відбору було включено 645 пацієнтів віком 40-79 років (середній вік 57,3±4,7 років, серед них 300 жінок і 345 чоловіків) з різними нозологічними формами атеросклерозу, що знаходилися на лікуванні в кардіологічному відділенні Одеського обласного клінічного медичного центру в період з 2008 по 2013 рік.

Другим етапом була поглиблена оцінка стану ліпідтранспортної системи за умов дефіциту та підвищеного вмісту гепарину в крові у хворих з явищами:

- гіпогепаринемії (n=221), де рівень гепарину в плазмі крові був нижчим за референтні дані (>6,0 МОд/мл), до яких увійшли: 86 пацієнтів із ішемічною хворобою серця і дифузним кардіосклерозом (група АТ), 81 особа хвора на ішемічну хворобу серця і дифузний кардіосклероз в поєднанні з гіпертонічною хворобою (група АТ+ГХ) та 54 пацієнти із ішемічною хворобою серця і дифузним кардіосклерозом на тлі цукрового діабету 2 типу (група АТ+ЦД 2 типу);

- гіпергепаринемії (n=62), де концентрація гепарину в плазмі крові перевищувала референтні показники (<6,7 МОд/мл), яку склали: 22 хворих на дифузний гіпертиреоз (група ГТ), 23 пацієнти із залізодефіцитною анемією (група ЗДА) та 17 хворих на бронхіальну астму алергічного генезу (група БА).

Група порівняння представлена 153 пацієнтами (87 чоловіків і 66 жінок) віком 47-69 років із ішемічною хворобою серця без клінічно значущих проявів атеросклерозу, які не зверталися за амбулаторною та стаціонарною допомогою протягом року.

Критеріями виключення з дослідження були наступні клінічні стани: гострий інфаркт міокарда або ішемічний інсульт, перенесені в останні 3 місяці, тяжкі порушення серцевого ритму, недостатність кровообігу III ст., гострі артеріальні тромбози, регулярний прийом статинів, тяжка артеріальна гіпертензія (з систолічним артеріальним тиском вище 210 мм рт. ст. та діастолічним артеріальним тиском вище 120 мм рт. ст.), ЦД 2 типу в стадії декомпенсації, тиреотоксикоз важкого ступеня, наявність токсичної аденоми, прийом йодовмісних або тиреостатичних препаратів, хронічні захворювання у стадії декомпенсації, важкі захворювання печінки та нирок, гострі захворювання протягом останнього місяця, вагітність, лактація, онкопатологія, психіатричні захворювання.

До групи контролю увійшли 56 добровольців віком 35-40 років, з них 33 чоловіки і 23 жінки, без ознак атерогенної дисліпідемії та вмістом гепарину в плазмі крові в межах референтних величин.

Для з'ясування патогенетичних механізмів порушень функціонування ліпідтранспортної системи при надлишковому надходженні, споживанні та утилізації жирів, на клінічних моделях з гіпогепаринемією та в групі добровольців проводили загальноприйняті стандартні функціональні тести згідно з протоколами клінічних обстежень:

- *аліментарне жирове навантаження* за методикою J. R. Patsch (1983) (n=64); точки забору та дослідження зразків крові: 0 – натще, 1 – через 3 год після навантаження та 3 – через 6 год після навантаження;

- *харчове вуглеводне навантаження* за методикою S. Sherman et al. (1976) (n=66); точки забору та дослідження зразків крові: 0 – натще (через 12 год після останнього прийому їжі), 2 – через 1 год після навантаження і 3 – через 2 год після навантаження;

- *одноразове дозоване фізичне навантаження* (ДФН) за методикою K. L. Andersen (1971) (n=59); точки забору та дослідження зразків крові: 0 – перед ДФН, 2 – протягом перших 5 хв після ДФН і 3 – через 3 год після її

припинення; протягом цього періоду обстежувані не приймали їжу, їх рухлива активність була обмежена.

Експериментальні дослідження проводили на 105 білих статевозрілих щурах-самцях (3-4 міс) вагою 200-230 г згідно біоетичних норм. Для вивчення стану ліпідтранспортної системи при гіперліпідемії та залежно від функціонального стану тучних клітин було відтворено 3 моделі:

- *гіперліпідемія* за методом В. Є. Рижкова і В. Г. Макарова (2005), де тваринам (n=25) одноразово протягом 21 доби вводили внутрішньошлунково, через зонд, атерогенну харчову суміш, яка містила 30 % соняшникової олії, 2,5 % холестерину і 0,12 % метилурацилу (з розрахунку 1 мл жирового навантаження на 100 г маси тіла);

- *гіпогепаринемія* (n=25) – введення щурам блокатора гепарину – протамін сульфату (фірма «Індар», Україна) внутрішньом'язово дозою 1 мг/100 г маси тіла двічі на добу протягом 21 доби [Ульянов А. М., Тарасов Ю. А., 2000] в умовах атерогенної дієти;

- *гіпергепаринемія* (n=25) – хронічне введення (21 доба) водного розчину гепарину (фірма «Біолік», Україна), внутрішньом'язово дозою 50 МОд/кг [Данилова О. О., 2008] на тлі гіперліпідемії.

Дози препаратів обрані на підставі даних літератури щодо діапазону їх фармакологічної активності у дослідних тварин [Хабриев Р. У., 2005]. Контрольні тварини (n=30) отримували 0,9 % розчин хлориду натрію в обсязі доз експериментальних груп і знаходилися на стандартному раціоні в експериментально-біологічній клініці ОНМедУ з вільним доступом до їжі та води.

Стан ліпідтранспортної системи оцінювали за вмістом у плазмі крові загального холестерину та його фракцій, які визначали ферментативним методом за А. М. Климовим (1999), тригліцериди (ТГ) – ензиматичним колориметричним методом М. Флетчера (1968). Вміст ХС ЛПДНЩ обчислювали за формулою W. T. Friedwald et al. (1972). Для оцінки ступеню ризику виникнення атеросклерозу розраховували коефіцієнт атерогенності (КА) за формулою А. М. Климова (1999).

Для оцінки жирнокислотного статусу визначали концентрацію жирних кислот методом газової хроматографії за методикою F. Marangoni (2004) на хромато-мас-спектрометрі Agilent MS D 1100 ("Hewlett Packard", США). В крові ідентифікували 8 жирних кислот, з них 2 – насиченого ряду (пальмітинова і стеаринова) і 6 – ненасиченого ряду (мононенасичена (МНЖК) – олеїнова та 5 поліненасичені, з них дві ω-6: ліолева і арахідонова, три – ω-3: α-ліноленова, ейкозапентаєнова (ЕПК) і докозагексаєнова кислоти (ДГК)).

Активність ліпопротеїніпази (ЛПЛ) плазми крові визначали титруванням за методом T. Olivecrona (1992) в модифікації В. М. Тітова (2003). Показником активності ферменту була кількість звільнених жирних кислот з тригліцеридів протягом 1 год (ммоль/л/год). У ході досліджень проводилася оцінка ефективності ліполізу плазмових ТГ *in vivo* за методом І. А. Олійник (2003). Коефіцієнт ефективності ліполізу (КЕЛ) розраховували за формулою

Ю. В. Фролової та співав. (2005). Вміст гепарину в плазмі крові визначали за реакцією з толуїдиновим синім за методом А. П. Чернишової в модифікації А. Л. Берковського та співавт. (2010). Для біохімічних досліджень застосовували набори науково-виробничої фірми «Simko Ltd» і фірми «Біомарк» (м. Львів).

Для оцінки морфофункціональної активності тучних клітин та гістологічного дослідження забирали брижу і фрагменти аорти щурів. Гістологічні зрізи для морфологічних досліджень готували за загальноприйнятою методикою, після чого їх фарбували гематоксиліном і еозином [Саркисов Д. С., 1996]. Якісне забарвлення на ліпиди проводили суданом чорним В. Для визначення тучних клітин плівкові препарати фарбували толуїдиновим синім (0,1 % водним розчином, рН 2,0). Дослідження препаратів проводили світлооптично під мікроскопом МБС-6 при збільшенні в 400 разів.

Оцінка морфофункціонального стану тучних клітин проводилась на підставі багатофакторного аналізу, який включав визначення кількості мастоцитів та їх секреторної активності (індексів насиченості та дегрануляції) за методикою Д.П. Лінднера та співавт. (1980).

Статистичні методи обробки результатів включали параметричні методи варіаційної статистики з визначення середніх арифметичних значень і помилки середніх значень ($M \pm m$) та лінійний кореляційний аналіз з розрахунком коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (r) за допомогою пакету програм "Microsoft Excel-2000". Критичний рівень вірогідності відмінностей між середніми значеннями в групах визначали за t -критерієм Ст'юдента, оцінюючи ймовірність отриманих результатів на рівні значущості не менше 95 % ($p < 0,05$) [Лапач С. Н. і співав., 2001; Петри А., 2003].

Результати дослідження. Ретроспективний аналіз функціонального стану ліпідтранспортної системи у хворих на атеросклероз з різними нозологічними формами виявив порушення прямого та зворотнього транспорту холестерину, які проявлялися гіперхолестеринемією, гіпертригліцеридемією та дисліпідемією, але носили при цьому різні за ступенем та якістю зміни ліпідного складу крові.

Відзначено, що наявність факторів ризику, а саме, гіпертонічної хвороби та цукрового діабету, з одного боку, посилювали порушення ліпідтранспортної системи, приводячи до розвитку атерогенної дисліпідемії, про що свідчив факт зростання рівня КА порівняно з контрольними даними в 1,43 рази в групі АТ+ГХ і в 1,99 рази у пацієнтів з АТ+ЦД (рис. 1). З іншого боку, окремі показники ліпідного спектра, а саме, концентрація ТГ ($1,39 \pm 0,38$ ммоль/л) і ХС ЛПНЩ ($3,13 \pm 0,88$ ммоль/л) не виходили за межі норми на тлі розвиненого патологічного стану у обстежених пацієнтів. Так, у хворих групи АТ+ГХ поряд з гіперхолестеринемією ($5,57 \pm 0,94$ ммоль/л) реєстрували гіпохолестеринемію ($5,02 \pm 0,98$ ммоль/л) та нормохолестеринемію ($5,25 \pm 0,47$ ммоль/л). В одних пацієнтів відбувалося переважне підвищення загального холестерину (ЗХС) від ($4,78 \pm 0,16$) до ($5,83 \pm 0,43$) ммоль/л зі зниженням показників ХС ЛПВЩ від

($1,62 \pm 0,02$) до ($1,01 \pm 0,15$, $p < 0,05$) ммоль/л, у інших відзначалося виразне підвищення рівня ТГ від ($1,29 \pm 0,11$) до ($1,61 \pm 0,67$) ммоль/л з паралельним зниженням ХС ЛПВЩ від ($1,59 \pm 0,17$) до ($1,05 \pm 0,08$, $p < 0,05$) ммоль/л.

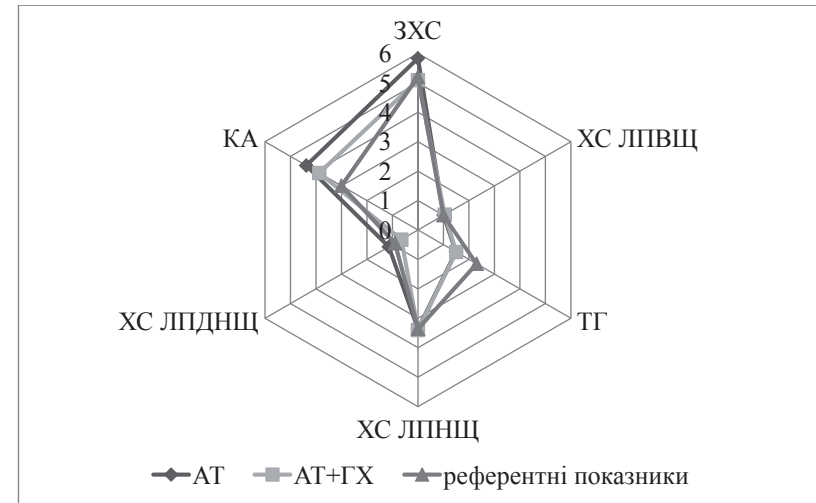


Рис. 1. Характеристика ліпідного спектру крові пацієнтів чоловічої статті, ммоль/л

Порівняльний аналіз ліпідного складу крові хворих на атеросклероз з ЦД 1 та 2 типів виявив, що при гіперхолестеринемії та гіпертригліцеридемії в групі з ЦД 1 типу підвищувався вміст ХС ЛПНЩ в 1,53 рази, а в групі з ЦД 2 типу спостерігали зростання ХС ЛПДНЩ в 3,2 рази відносно показників друг друга. Дефіцит ХС ЛПВЩ був вищим на 12,90 % в групі ЦД 1 типу, в той час КА в групі ЦД 2 типу перевищував на 12,76 % показники групи ЦД 1 типу. Отже, незважаючи на ступінь проявів, характер порушень ліпідтранспортної системи мав однакову спрямованість, незалежно від типу діабету.

Таким чином, виявлені кількісні та якісні відмінності в порушенні з боку ліпідтранспортної системи при атеросклерозі різного генезу є непрямим підтвердженням пошкодження судинної стінки, яке розвивається під дією гіперхолестеринемії, цукрового діабету та гіпертонічної хвороби. Останнє, можливо, пов'язано переважно зі станом ліполітичної активності ендотелію, оскільки транспорт ліпопротеїнів в нормі здійснюється крізь міжклітинні ендотеліальні канали та непошкоджені ендотеліоцити. Отже, функціональні порушення ліпідтранспортної системи можуть бути сполучені з ендотеліальною дисфункцією.

Стан ліпідтранспортної системи при гіпогепаринемії. З'ясування ступеню впливу ферментативної активності ліпопротеїнази на стан ліпідтранспортної системи було наступним етапом нашого дослідження. За

даними літератури відомо, що атеросклеротичні ураження судин призводять до порушення кровотоку, які вимагають більш активної корекції реологічних властивостей крові, а також нейтралізації факторів коагуляційної ланки, продукованих безпосередньо ушкодженим ендотелієм судин [Талаева Т. В. и соавт., 2007; Reigan P. M. et al., 2010]. Саме це сприяє підвищенню споживання гепарину і обумовлює зниження його концентрації в крові. Показано, що концентрація гепарину в плазмі крові в групі хворих АТ становила $5,14 \pm 0,17$ проти $6,03 \pm 0,27$ МОд/мл контрольної групи. Найбільш виражені зміни відмічали у пацієнтів з ЦД та ГХ ($2,39 \pm 0,22$ та $4,17 \pm 0,36$ МОд/мл, відповідно, $p \leq 0,05$). В групі порівняння (ІХС) рівень гепарину зменшувався на 23,38 % щодо контрольних показників. Аналіз показників системи гемостазу у хворих на атеросклероз різного генезу виявив зменшення антитромбіну III на тлі підвищення кількості фібриногену, яке свідчило про зниження активності антикоагуляційної ланки у даних груп пацієнтів, що може бути також пов'язано з дефіцитом гепарину в крові. Це дозволяє вважати хворих на ішемічну хворобу серця і дифузний кардіосклероз клінічними моделями гіпогепаринемії.

Результати оцінки ліпідного профілю у хворих виявили дисліпідемію різної спрямованості (табл. 1). Зокрема, у групах АТ і АТ+ГХ порівняно з контрольними даними зростає вміст ЗХС та знижувався рівень ХС ЛПВЩ (на 44,63 і 48,62 %, відповідно, $p < 0,05$).

Таблиця 1

Зміни ліпідного профілю у хворих досліджуваних груп (М±m)

Показники, ммоль/л	ІХС	АТ	АТ + ГХ	АТ+ ЦД 2 типа
ЗХС	$5,23 \pm 0,12$	$5,61 \pm 0,12$	$5,73 \pm 0,80$	$6,51 \pm 0,19^* **$
ХС ЛПВЩ	$1,19 \pm 0,15$	$1,12 \pm 0,16$	$1,09 \pm 0,08$	$1,05 \pm 0,02^*$
ТГ	$2,04 \pm 0,37$	$1,38 \pm 0,15^*$	$1,36 \pm 0,36$	$2,78 \pm 0,16^* **$
ХС ЛПНЩ	$3,72 \pm 0,80$	$3,57 \pm 0,97$	$3,65 \pm 0,91$	$4,43 \pm 0,21^*$
ХС ЛПДНЩ	$0,39 \pm 0,03$	$0,62 \pm 0,03^*$	$0,61 \pm 0,26^*$	$1,96 \pm 0,06^{**}$
КА, од.	$3,26 \pm 0,20$	$4,05 \pm 0,53$	$4,25 \pm 0,77$	$5,37 \pm 0,23^*$

Примітки : 1. * – статистично вірогідні зміни відносно групи ІХС;

2. ** – між іншими групами, $p < 0,05$

Рівень ХС ЛПДНЩ зменшувався на 33,87 та 23,88 % відносно групи контролю, при вірогідному збільшенні щодо груп ІХС та АТ+ЦД. Вміст ХС ЛПНЩ та ТГ був приблизно однаковим в групах, відмічали зростання їх щодо показників групи контролю ($p < 0,05$) при зменшенні рівня відносно групи порівняння.

Оскільки зміни показників ліпідного профілю у хворих груп АТ і АТ+ГХ мали однакову спрямованість та не відрізнялися між собою, можна вважати, що найбільш важливим в розвитку дисліпідемії в даних випадках є дефіцит гепарину, ніж порушення системної гемодинаміки центральної регуляції.

У хворих групи АТ+ЦД 2 типу при виражених гіперхолестеринемії і гіпертригліцеридемії відмічали зниження рівня ХС ЛПВЩ і достовірне підвищення ХС ЛПНЩ та ХС ЛПДНЩ щодо контрольних даних і групи порівняння на тлі зменшення концентрації гепарину в 2,5 та 1,9 рази, відповідно ($p < 0,05$). Проатерогенний характер змін у обстежених пацієнтів з боку ліпідного профілю підтверджували показники КА у групах.

Привертає увагу стан ліпідного спектру крові в групі ІХС, де при рівні ЗХС в межах референтних даних, відзначали суттєве підвищення ТГ в 2,5 рази та зниження ХС ЛПВЩ на $47,27 \pm 0,16$ % щодо контрольних величин. Показник КА становив $3,26 \pm 0,20$ проти $2,64 \pm 0,25$ од. ($p < 0,05$), що може бути відображенням основних патогенетичних механізмів подальшого розвитку атеросклеротичних уражень у даних пацієнтів.

При вивченні жирнокислотного статусу крові пацієнтів досліджуваних груп виявили збільшення сумарного вмісту НЖК відносно контрольних даних, за винятком групи АТ+ЦД 2 типу (рис. 2).

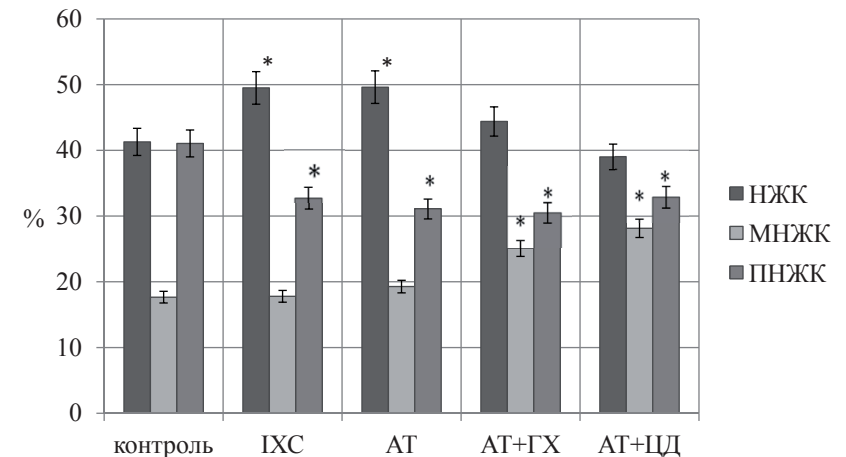


Рис. 2. Характер жирнокислотного складу ліпідів у обстежених осіб.

* – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю, $p < 0,05$

Відмічали збільшення концентрації МНЖК лише в групах АТ+ГХ і АТ+ЦД, в той час як у пацієнтів груп ІХС та АТ показники були на рівні контрольних величин. Спостерігали зниження фракції ПНЖК у всіх групах переважно за рахунок частки сумарної концентрації ω -3 ПНЖК.

Найбільш виражені зміни щодо якісного складу жирних кислот виявлені в групах АТ+ГХ та АТ+ЦД. Збільшувався вміст пальмітинової ($38,74 \pm 1,30$, $p < 0,05$, та $31,68 \pm 2,44$ %, відповідно), олеїнової ($25,11 \pm 2,27$ та $28,14 \pm 2,68$ проти $17,66 \pm 3,20$ %) кислот щодо контрольної групи. Рівень стеаринової кислоти знижувався майже в 2,5 рази і 1,9 рази відповідно. При цьому відзначали падіння титру арахідонової кислоти в 1,8 рази та в 3,1 рази. Концентрація

α -ліноленової кислоти, на відміну від групи АТ+ЦД, знижувалася у групах АТ та ІХС ($0,66\pm 0,23$ і $0,48\pm 0,13$ проти $1,99\pm 0,63$ %, $p<0,05$) і була нижче за контрольні дані. Слід зазначити вірогідне зниження ДГК у всіх групах, при цьому максимальний рівень зниження спостерігали у пацієнтів групи АТ ($0,67\pm 0,12$ проти $2,71\pm 0,54$ %, $p<0,05$).

Вважаємо, що при виразних атеросклеротичних змінах збільшення рівнів МНЖК на тлі низьких значень ПНЖК може розглядатися як компенсаторно-адаптивна реакція на пошкоджуючу дію перекисного окислення ліпідів на ендотелій судин. Дисбаланс між вмістом НЖК та ПНЖК зі значним зменшенням концентрації ω -3 ПНЖК в групі ІХС свідчить про ранні ознаки розвитку атеросклеротичного процесу у цієї категорії хворих.

Аналіз ліпопротеїнліпазної активності плазми крові виявив дефіцит самого ферменту в групах АТ та АТ+ГХ при високому коефіцієнті ефективності ліполізу ($0,137\pm 0,003$ і $0,129\pm 0,002$ проти $0,034\pm 0,001$ од.) на тлі низької активності ЛПЛ ($5,63\pm 1,03$ і $5,81\pm 0,98$ проти $9,16\pm 0,54$ ммоль/л/год, $p\leq 0,05$). Це, в свою чергу, не дозволяло забезпечити адекватний гідроліз ліпопротеїнів. Низька ефективність ліполізу в групі АТ+ЦД ($0,087\pm 0,005$ од., $p\leq 0,05$) при високій активності ЛПЛ ($9,68\pm 0,71$ ммоль/л/год) обумовлено, по-перше, якісною зміною субстрату для її дії, а, по-друге, за даними літератури, здатністю інсуліну безпосередньо пригнічувати активність ЛПЛ [Соколик В. В. и соавт., 2007]. Відзначали, що у хворих групи ІХС за нормальної середньої активності ЛПЛ та підвищеної вихідної концентрації ТГ ліполіз і коефіцієнт ефективності були нижчими від контрольних величин і показників інших досліджуваних груп.

Результати дослідження довели, що за умов дефіциту гепарину в плазмі крові, зниження кількісних та якісних показників ферментативної активності ліпопротеїнліпази обумовлює зменшення утилізації жирних кислот, яке супроводжується збільшенням пулу НЖК при падіння рівня ω -3 ПНЖК, і призводить до розвитку атерогенної дисліпідемії з вираженою гіпертригліцеридемією внаслідок чого можливі наступні патологічні зміни в ліпідтранспортній системі.

Стан ліпідтранспортної системи при функціональних навантаженнях за умов гіпогепаринемії. Для з'ясування патогенетичних механізмів порушення основних ланок ліпідтранспортної системи за умов гіпогепаринемії та ролі ліпопротеїнліпази, проведено дослідження ліпідного та жирнокислотного спектрів крові при функціональних навантаженнях, які моделюють стани надлишкового надходження, споживання і утилізації жирів. Виявлено, що одноразове аліментарне жирове навантаження призводило до пролонгованого (більш ніж 6 год) підвищення вмісту ТГ і НЖК на тлі зниження концентрації ω -3 ПНЖК у плазмі, що свідчить про порушення толерантності ліпідтранспортної системи до жиру у пацієнтів груп АТ та ІХС. Спостерігали постпрандіальну гіперліпідемію та посилення проявів атерогенності ХС ЛПНЩ, оскільки, не зважаючи на зниження концентрації ХС ЛПНЩ у групах АТ+ГХ та АТ (на $0,26\pm 0,09$ і $0,04\pm 0,01$ ммоль/л відповідно), показники залишалися вищими за

фонові дані. Відсутність підвищення ХС ЛПВЩ вказувала на недостатній ліполіз ЛПДНЩ у обстежених осіб та поглиблення постпрандіальної дисліпідемії. Вважаємо, що в даному випадку мова йде про порушення елімінації багатих тригліцеридами ліпопротеїнів в постпрандіальному періоді.

Привертав увагу факт наявності пролонгованої ліпемії у постпрандіальному періоді в групі ІХС, де фонові показники рівнів ліпідів плазми не перевищують оптимального рівня. Паралельно констатували збільшення в 2,5 рази концентрації арахідонової кислоти на тлі дворазового падіння рівня лінолевої кислоти при одночасному зменшенні вмісту МНЖК. Вважаємо це свідченням прихованих порушень балансу прямого і зворотного транспорту холестерину при збереженні деяких механізмів, відповідальних за його транспорт і утилізацію.

Активності ЛПЛ в відповідь на жирове навантаження зростала в усіх групах дослідження. Проте відзначали різницю як в показниках натще, так й у ступені підвищення активності ферменту в різні періоди дослідження (рис. 3). Так, у групі АТ при невисокому початковому рівні ЛПЛ через 6 год після навантаження активність ферменту була максимальною порівняно з іншими групами хворих ($p<0,05$). В той же час, активність ЛПЛ в групі ІХС натще співпадала з контрольними даними, була найвищою в середині дослідження порівняно з всіма, але по закінченню навантаження рівень ЛПЛ був нижче за дані групи АТ ($p<0,05$).

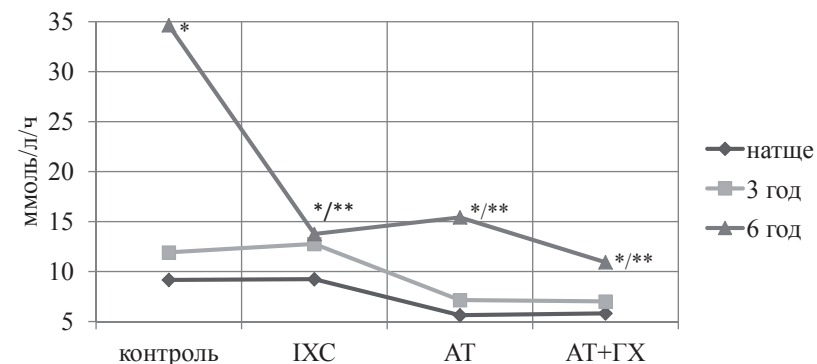


Рис. 3. Активність ліпопротеїнліпази в досліджуваних групах залежно від часу жирового навантаження

* – статистично вірогідні зміни відносно даних натще, $p<0,05$;

** – статистично вірогідні зміни відносно даних контролю, $p<0,05$

При одноразовому вуглеводному навантаженні в усіх групах виявлена гіпертригліцеридемія без явних закономірних зрушень вмісту ЗХС у крові на тлі тенденції до зменшення його концентрації. Відзначали, що в групі ІХС через 120 хв навантаження рівень ТГ і концентрація ХС ЛПВЩ залишалися в

межах вихідних величин. Рівень ХС ЛПВЩ в групі АТ до кінця вуглеводного навантаження знижувався в 27 разів ($p < 0,05$), в групі АТ+ГХ – в 28 разів ($p < 0,05$) порівняно з контролем при зменшенні кількості ХС ЛПНЩ.

Підвищення концентрації ХС ЛПДНЩ узгоджувалося зі збільшенням вмісту НЖК і зниженням ω -3 ПНЖК. Однак, ступінь падіння концентрації ω -3 ПНЖК в групах відрізнявся. Так, в групі АТ відбувався за рахунок зниження ДГК при зростанні рівнів α -ліноленової кислоти і ЕПК, в групі АТ+ГХ – за рахунок зменшення α -ліноленової кислоти і ЕПК майже на половину ($p < 0,05$) порівняно з серединою дослідження, в той час в групі ІХС наближався до показників контрольної групи натще. Це свідчило про проатерогенний характер загальних зміни ліпідтранспортної системи при вуглеводному навантаженні у досліджуваних груп.

Аналіз динаміки активності ЛПЛ показав максимальне зростання ферментативної активності (до 295,19 %) в контрольній групі наприкінці дослідження, на відміну від групи АТ+ГХ, де рівень активності ЛПЛ лише мав тенденцію до збільшення ($12,46 \pm 0,63$ проти $9,29 \pm 0,51$ ммоль/л/год). При цьому в групах ІХС та АТ активність ЛПЛ була чисельно рівною між собою ($24,98 \pm 1,23$ і $25,05 \pm 1,17$ ммоль/л/год, відповідно), але залишалася нижчою за групу контролю. Виявлена низька ефективність ліполізу у даних осіб при вуглеводному навантаженні свідчила про пригнічення активності ліпопротеїніпази внаслідок гіпогепаринемії. Зниження активності ЛПЛ також може бути пов'язано з інактивацією її інсуліном.

Вказані зміни свідчать про виражене зниження толерантності ліпідтранспортної системи як до жирового, так і вуглеводного навантажень при гіпогепаринемії, обумовлене, насамперед, низькою ефективністю ліполізу внаслідок ферментативної недостатності ліпопротеїніпази, що проявляються значними порушеннями прямого і зворотнього транспорту холестерину.

Вивчення динаміки ліпідного спектру у відповідь на одноразове ДФН показало підвищення рівнів ТГ, ХС ЛПДНЩ та ХС ЛПНЩ на тлі зниження ХС ЛПВЩ у всіх обстежених групах. Максимальні зміни з боку ТГ при ДФН спостерігали у хворих на АТ ($+0,64 \pm 0,15$ ммоль/л), менш виражені – в групах ІХС та АТ+ГХ ($+0,34 \pm 0,10$ та $+0,34 \pm 0,07$ ммоль/л, відповідно) щодо показників до початку навантаження. У контрольній групі відзначали достовірне збільшення рівня ТГ (до $1,49 \pm 0,03$ ммоль/л, $p < 0,05$) під кінець дослідження порівняно з вихідними даними.

З боку жирнокислотного профілю відмічали збільшення кількості НЖК при зменшенні титру ω -6 та ω -3 ПНЖК. Найбільші зміни відзначали наприкінці тесту з боку титру ДГК в групах АТ+ГХ і ІХС (в 1,3 і в 2 рази, відповідно) і ЕПК в групі АТ (на 39,95 %). Істотне збільшення вмісту НЖК на 18,43 % спостерігали в групі ІХС порівняно з контрольними величинами, в той час як в групах АТ і АТ+ГХ підвищення концентрації НЖК було незначним (1,1 рази).

Динаміка зміни активності ЛПЛ відображала рівень гіпертригліцеридемії та дисліпідемії в цілому (рис. 4). Зокрема, активність ферменту ЛПЛ в перші 5 хв після проведення тесту падала в усіх осіб залучених до дослідження. Це

пов'язано з впливом на стан ферментативної активності гіпоксії, яка виникає внаслідок фізичного навантаження. Надалі активність ферменту зростала, і через 3 год після навантаження максимально високий рівень відмічали в контрольній групі. В інших групах активність ЛПЛ на кінець дослідження підвищувалась в наступному порядку: АТ → ІХС → АТ+ГХ, але цього рівня не вистачало для адекватного ліполізу.

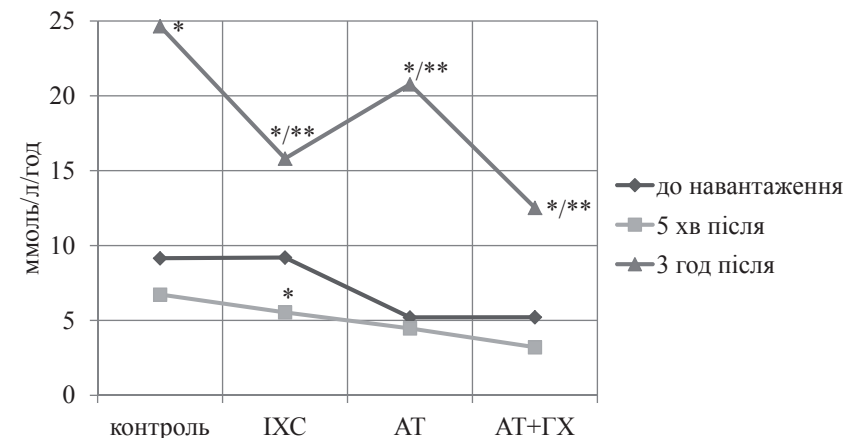


Рис. 4. Динаміка активності ліпопротеїніпази в досліджуваних групах залежно від часу фізичного навантаження
* – статистично вірогідні зміни відносно даних до навантаження, $p < 0,05$;
** – статистично вірогідні зміни відносно даних контролю, $p < 0,05$

Таким чином, дозоване фізичне навантаження викликає розвиток ендогенної післямобілізаційної гіперліпідемії і дисліпідемії в осіб обстежених груп. Механізм їх розвитку полягає в функціональній неспроможності системи зворотнього транспорту холестерину за рахунок зниженої активності ЛПЛ. Атерогенна динаміка змін ліпідтранспортної системи спостерігали і в групі ІХС. Це дає підстави стверджувати, що фізичне навантаження і супроводжуючий його стрес впливають на роботу ліпопротеїніпази та призводять до дисбалансу в процесі утилізації атерогенних ліпопротеїнів і підвищенню їх синтезу в післянавантажувальному періоді, що призводить до стимуляції атеросклеротичних уражень.

Функціональний стан ліпідтранспортної системи при гіпергепаринемії. Найвищий вміст гепарину в плазмі крові відзначали в групі ЗДА, який становив $14,39 \pm 0,23$ ($p < 0,05$) проти $6,03 \pm 0,27$ МОд/мл показників контролю. При цьому в групах ГТ та БА рівень гепарину збільшувався на 77,29 та 39,14 % відповідно ($p < 0,05$).

При вивчення стану ліпідтранспортної системи за умов гіпергепаринемії встановлено зниження рівнів ЗХС та ТГ у всіх групах щодо контролю ($p < 0,05$). В усіх групах спостерігали зниження вмісту ХС ЛПНЩ, при цьому тільки в групі БА відмічали значне підвищення концентрації ХС ЛПДНЩ відносно контролю ($1,16 \pm 0,12$ проти $0,83 \pm 0,18$ ммоль/л, $p < 0,05$). На відміну зростанню титру ХС ЛПВЩ ($1,71 \pm 0,02$, $p < 0,05$) в групі ГТ, в групі БА констатували зменшення їх вмісту ($0,99 \pm 0,16$, $p < 0,05$) проти $1,62 \pm 0,02$ ммоль/л даних контрольної групи, в той час як в групі ЗДА відмічали лише тенденцію до падіння рівня антиатерогенних ліпопротеїнів.

Аналіз жирнокислотного складу ліпопротеїнів при надлишковому рівні гепарину показав збільшення титру НЖК притаманне всім групам, але найбільш виражені зміни були виявлені в групі ГТ щодо груп БА і ЗДА (табл. 2). Так, рівень пальмітинової кислоти збільшувався на 21,49 проти 17,54 % в групі БА та тенденції до підвищення в групі ЗДА. Концентрація стеаринової кислоти зростала на 41,15 проти 26,97 та 13,17 %, відповідно.

Таблиця 2

Жирнокислотний склад крові при гіпергепаринемії, (M \pm m)

Жирні кислоти, %	Контроль	ГТ	ЗДА	БА
Пальмітинова	26,71 \pm 3,25	32,45 \pm 2,76	31,62 \pm 4,13	27,04 \pm 4,51
Стеаринова	14,58 \pm 3,33	20,58 \pm 4,59*	17,87 \pm 2,43	15,03 \pm 3,16
Олеїнова	17,66 \pm 3,20	18,32 \pm 2,75	21,90 \pm 2,97*	12,51 \pm 2,75*
Арахідонова	9,03 \pm 4,62	7,84 \pm 1,47	4,20 \pm 1,26*	8,10 \pm 3,07
Лінолева	24,18 \pm 5,10	13,95 \pm 3,06*	18,61 \pm 2,86*	24,25 \pm 4,21
α -ліноленова	0,88 \pm 0,43	0,56 \pm 0,75	0,38 \pm 0,83	0,94 \pm 0,66
Ейкозопентаснова	4,25 \pm 1,72	3,74 \pm 1,89	3,07 \pm 2,43	8,13 \pm 2,58*
Докозагексаєнова	2,71 \pm 2,54	2,56 \pm 2,03	2,35 \pm 1,37	4,00 \pm 2,17*

Примітка у табл. 2 і рис. 5: * – статистично вірогідні зміни відносно контрольної групи, $p < 0,05$

Пул МНЖК достовірно зменшувався тільки в групі БА щодо величин груп порівняння і контрольної. Дефіцит сумарного вмісту ПНЖК був максимальним в групах ГТ та ЗДА по відношенню до пацієнтів з бронхіальною астмою (28,65 та 28,61 проти 45,42 %, відповідно). Вміст ω -3 полієнових жирних кислот зменшувався за рахунок зниження α -ліноленової кислоти в групах ГТ та ЗДА, на відміну від показників в групі БА, де відмічали зростання ДГК та ЕПК ($p < 0,05$), а також і сумарного пулу ПНЖК ($p < 0,05$).

Вивчення ферментативної активності ЛПЛ в умовах гіпергепаринемії встановило підвищення активності цього ферменту в усіх досліджуваних групах. Висока активність ЛПЛ в групі ЗДА ($15,89 \pm 0,31$ проти $9,16 \pm 0,54$ ммоль/л/год, $p < 0,05$) забезпечувала максимальний рівень ліполізу відносно контрольних величин. Однак, в групі БА надлишкової активності ЛПЛ було

недостатньо для підтримки нормальної ефективності ліполізу ($0,019 \pm 0,008$ проти $0,034 \pm 0,001$ од., $p < 0,05$), що обумовлено низькою початковою концентрацією тригліцеридів по відношенню до інших груп.

Отже, антиатерогенний стан ліпідтранспортної системи при надлишковому вмісту гепарину в крові значною мірою пов'язаний з підвищеною ліпопротеїнліпазною активністю. З боку ліпідтранспортної системи це супроводжувалося гіпохолестеринемією та гіпотригліцеридемією, збільшенням концентрації ХС ЛПВЩ. Проте, у пацієнтів з бронхіальною астмою була виявлена схильність до атерогенних порушень, про що свідчило зниження МНЖК та підвищення НЖК на відміну від хворих на дифузний гіпертиреоз та залізодефіцитну анемію, де рівень МНЖК зростав.

Підвищення рівня насичених жирних кислот є компенсаторною реакцією на гіпоксію, спрямованою на усунення енергетичної недостатності за рахунок збільшення субстрату в організмі, а зниження рівня поліненасичених жирних кислот – наслідок посиленого утворення біогенних амінів, що впливає на роботу ліпідтранспортної системи в цілому.

Таким чином, результати досліджень свідчать, що рівень гепаринемії визначає не тільки характер змін активності ліпопротеїнліпази, а й особливості перебудови функцій ліпідтранспортної системи в цілому.

Особливості ліпідтранспортної системи при експериментальній гіпо- та гіпергепаринемії. Враховуючи отримані дані при клінічних дослідженнях, вважали за доцільним виявити взаємозв'язок між функціональним станом тканинних базofilів, рівнем гепарину і активністю ліпопротеїнліпази, тому наступним етапом роботи стало вивчення порушень ліпідтранспортної системи при експериментальній гіперліпідемії у щурів з урахуванням функціонального стану мастоцитів.

Вивчення ліпідного спектру плазми крові щурів при штучній аліментарній гіперліпідемії виявило збільшення рівнів ЗХС на 13,37 %, ТГ – в 1,2 рази, ХС ЛПДНЩ – на 25,86 % та зменшення вмісту ХС ЛПВЩ щодо даних контрольної групи. Дослідження жирнокислотного спектру крові показали збільшення рівня НЖК за рахунок фракції пальмітинової кислоти (на 24,88 %) при незначному зростанні кількості МНЖК. З боку ω -6 ПНЖК відзначали вірогідне зменшення вмісту арахідонової кислоти (на 24,59 %) при тенденції до зниження рівня лінолевої кислоти відносно показників контрольної групи.

Зміни функціонального стану ліпідтранспортної системи залежали від активності ЛПЛ. Відзначали, що активність ферменту падала на 14,48 % у зв'язку зі зниженням на 24,14 % концентрації гепарину в плазмі крові щурів даної групи щодо показників контролю (рис. 5).

Крім того, при атерогенній дієті у тварин виявляли вірогідне збільшення в 1,27 рази кількості клітин з підвищеним вмістом гепарину (тип А) при одночасному зниженні на 16,39 % популяції клітин з малим вмістом гранул (тип С) порівняно з інтактними тваринами. Морфологічних перебудов з боку популяції тучних клітин типів Б та Д не спостерігали.

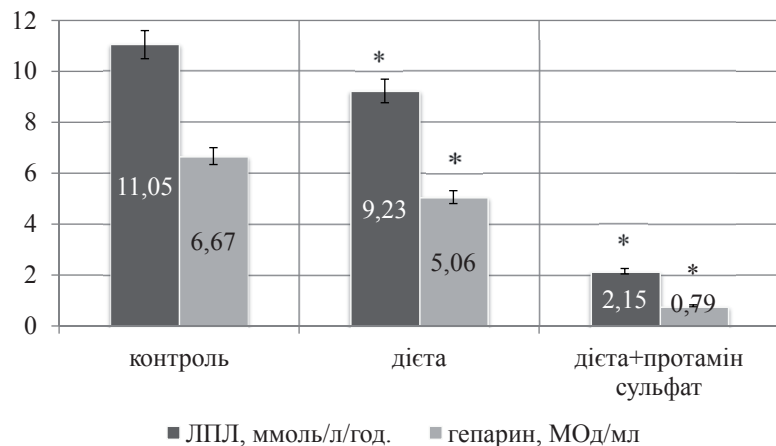


Рис. 5. Співвідношення змін динаміки активності ліпопротеїніпази і гепарину в експериментальних групах тварин

Таким чином, встановили, що тривале ліпідне навантаження призводить до підвищення секреторної активності тканинних базофілів та збільшення їх кількості. З одного боку, це можна розглядати як компенсаторно-приспосувальну реакцію на надлишковий вміст ліпідів в крові, оскільки масивна секреція триптазо- та/або хімазо-гепаринового комплексів з гранул тучних клітин сприяють зв'язуванню ХС ЛПНЦ, що є одним з антиатерогенних механізмів [Жданов В. С. и соавт., 2003; Арташян О. С. и соавт., 2012]. З іншого боку, саме зміни ліпопротеїнового складу крові потребують надмірної ліпопротеїніпазної активності, котра регулюється гепарином, що і спричиняє зміни в функції мастоцитів.

Вважаємо, що саме природна посилена секреторна активність тучних клітин та підвищений титр гепарину в плазмі крові обумовлюють адаптацію щурів до харчових ліпідних навантажень, що не дозволяє відтворити в експерименті адекватну клініці модель атеросклерозу у щурів.

Застосування протамін сульфату для дослідження функціонального стану ліпідтранспортної системи у тварин в умовах гіперліпідемії дозволило виявити падіння вмісту гепарину до слідових величин та зниження активності ЛПЛ більш ніж в 5 разів ($p < 0,05$) щодо даних контрольної групи (див. рис. 5). При цьому відмічали зростання більш ніж у 2 рази концентрації ТГ порівняно з контролем з одночасним достовірним підвищенням вмісту ЗХС. Розподіл холестерину за фракціями був наступним: рівень ХС ЛПНЦ збільшувався на 21,73 %, титр ХС ЛПДНЦ зростав на 84,95 % по відносно контрольної групи тварин, а рівень ХС ЛПВЦ зменшувався на половину ($p < 0,05$).

Виявлено також, що при штучній гіпогепаринемії ліпопротеїни були етерифіковані насиченими жирними кислотами в основному за рахунок пальмітинової та стеаринової кислот, і лише на решту – 37,13 % – припадали

ненасичені жирні кислоти. Рівень олеїнової кислоти знижувався на 39,32 % порівняно з контрольними величинами. У спектрі ω -6 ПНЖК спостерігали найбільші зміни з боку ліноленої кислоти, концентрація якої знижувалася більш ніж у 2 рази з одночасним зменшенням арахідонової кислоти на 40,86 % від контрольних показників.

Зменшення кількості зрілих тучних клітин (тип А) на 79,45 % при введенні протаміну сульфату було зворотньо пропорційно різкому збільшенню їх функціональної активності. Індекс насиченості при цьому зменшувався у 2,25 рази. Збільшення випадків тотальної дегрануляції на 30,22 % свідчило про ступінь декомпенсації адаптаційних можливостей популяції мастоцитів.

Слід зауважити, що мікроскопічні дослідження аорти у даної групи тварин, на відміну від щурів з гіперліпідемією, виявили дефекти судинної стінки, а саме, пошкоджені ендотеліоцити з набухлими ядрами, укорочення еластичних пластин, скупчення пінистих жирових клітин, розшарування фіброзних волокон навколо судин крупного калібру та накопичення ліпідів в клітинах інтими та медії, що свідчило про формування структурно-функціональних порушень атерогенного генезу.

Таким чином, дефіцит гепарину при штучній гіперліпідемії у тварин призводив до зниження активності ЛПЛ, що обумовлювало порушення в ліпідтранспортній системі, а саме, атерогенне співвідношення фракцій холестерину, зростання вмісту ТГ та НЖК.

При відтворенні експериментальної моделі гіпергепаринемії на тлі атерогенної дієти відзначили збільшення ферментативної активності ЛПЛ на 109,77 % при підвищенні гепарину на 46,47 % відносно інтактних тварин, що призводило до розвитку стійкої дисліпідемії, яка проявлялася гіпохолестеринемією і гіпотригліцеридемією, а також зниженням рівня НЖК та підвищенням пулу ПНЖК. Морфофункціональний аналіз популяції мастоцитів при штучній гіпергепаринемії виявив збільшення кількості клітин типу А ($59,16 \pm 3,42$ проти $33,54 \pm 3,27$ %) з одночасним зниженням кількості клітин з помірним ступенем насичення (тип Б) на 40,63 % при паралельному збільшенні індексу насичення ($3,54 \pm 0,62$ ум. од. проти $1,94 \pm 0,54$ ум. од.) щодо контрольної групи. При цьому слід зазначити, що індекс дегрануляції був у межах контрольних величин та становив ($1,12 \pm 0,63$) ум. од. Підвищення кількості мастоцитів з високим ступенем насиченості при додатковому введенні гепарину дозволяє вважати, що тучні клітини мають можливість депонувати його при надлишковому надходженні до організму.

Таким чином, доведено, що гепарин секретується у відповідь на харчове навантаження і є незалежним чинником, який посилює ліполіз в результаті вивільнення із ендотелію судин в кровообіг ліпопротеїніпазу.

Отримані дані дають можливість зробити висновок, що одним з важливих механізмів обміну ліпопротеїнів та порушення ліпідтранспортної системи є пригнічення активності ліпопротеїніпази, або внаслідок порушення функціональної потреби тканин в жирних кислотах, або в результаті пригнічення активності власне ліпопротеїніпази (рис. 6).

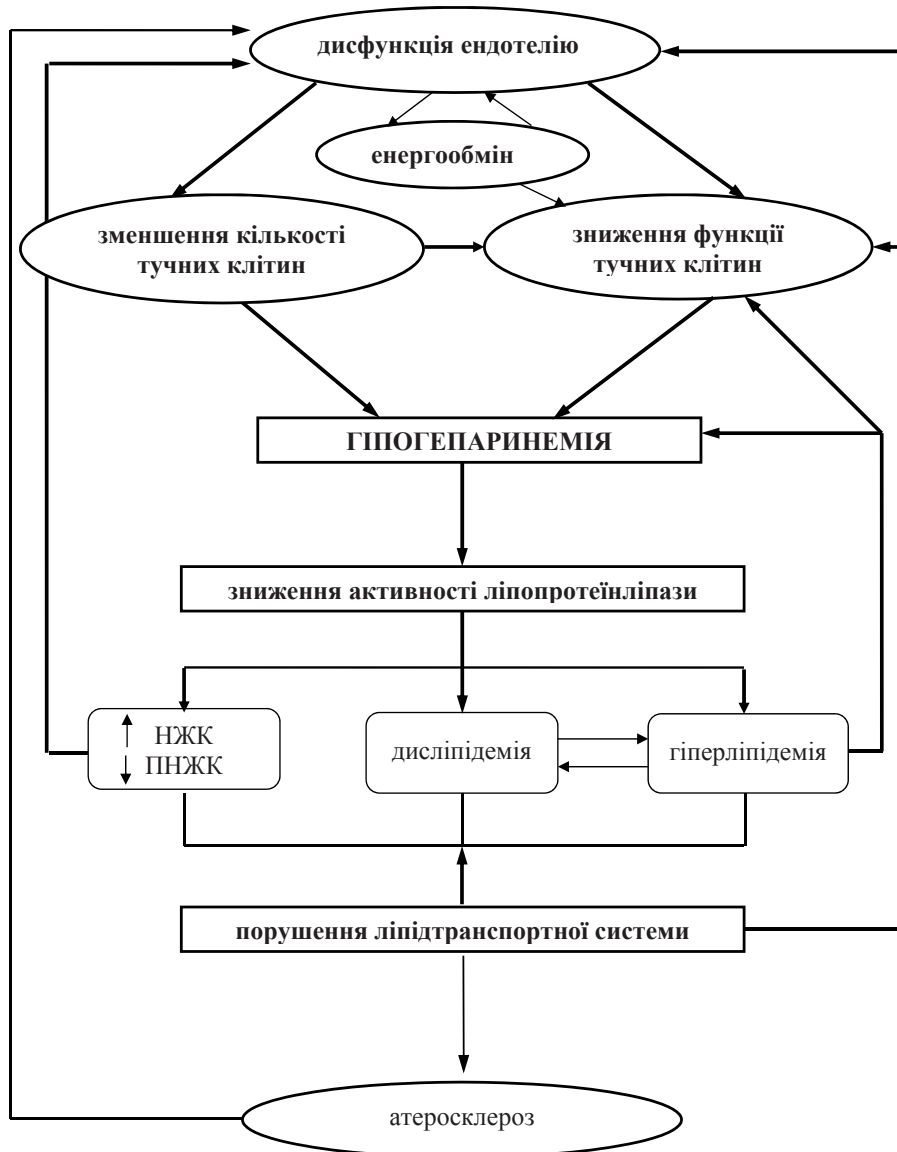


Рис. 6. Патогенетична роль тріади тучні клітини – гепарин – ліпопротеїнліпаза в атерогенезі

При системному ураженні ендотеліальних клітин порушується безпосередньо механізм управління активністю ліпопротеїнліпази через гепарин. З одного боку, це пояснюється тим, що більш активна корекція реологічних властивостей крові при ендотеліальній дисфункції обумовлює виснаження функціональних можливостей тучних клітин і, як наслідок – зниження концентрації гепарину в крові. З іншого боку, гіпогепаринемія може бути викликана безпосередньо загибеллю тучних клітин на тлі прогресуючої ендотеліальної дисфункції при атеросклерозі.

Таким чином, пригнічення ліпопротеїнліпази є пусковим механізмом пошкодження ліпідтранспортної системи, що обумовлює метаболічні зміни, які призводять до формування «хибного кола», яке стає самостійним патогенетичним механізмом порушення ліпідного обміну.

Підсумовуючи результати досліджень, слід зазначити, що зміни транспорту ліпідів на тканинному рівні відбуваються за рахунок депресії функціональної системи «тучні клітини – гепарин – ліпопротеїнліпаза». Встановлений патогенетичний механізм порушення ліпідтранспортної системи обумовлений здатністю гепарина керувати функціональною активністю ліпопротеїнліпази, що в подальшому може розглядатися як одна із важливих ланок патогенезу атеросклерозу.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі сформульована і обґрунтована нова концепція вирішення актуальної наукової медичної проблеми та патологічної фізіології, що полягає у встановленні ролі функціонального стану ліпопротеїнліпази та способів її активації в патогенезі порушень ліпідтранспортної системи і формуванні атеросклерозу. Розкрито один із ланцюгів патологічного процесу утилізації жирів на рівні тканин внаслідок порушення функції тріади тучні клітини – гепарин – ліпопротеїнліпаза, що є ланкою в патогенезі атеросклерозу.

1. Аналіз функціонального стану ліпідтранспортної системи хворих на атеросклероз з різними нозологічними формами (гіпертонічною хворобою, цукровим діабетом) виявив порушення прямого та зворотнього транспорту холестерину, які проявлялися гіперхолестеринемією, гіпертригліцеридемією та дисліпідемією. Виявлені кількісні та якісні відмінності в порушенні з боку ліпідтранспортної системи при атеросклерозі різного генезу, є непрямым підтвердженням специфічного пошкодження судинної стінки, яке розвивається під дією гіперхолестеринемії, цукрового діабету та гіпертонічної хвороби, що пов'язано, безпосередньо, зі станом ліполітичної активності ендотелію.

2. Дефіцит активності ліпопротеїнліпази у хворих на ішемічну хворобу серця і дифузний кардіосклероз та в поєднанні з гіпертонічною хворобою, обумовлений підвищенням коефіцієнту ефективності ліполізу в 4 рази на тлі зниження активності ферменту на 42,89 % та 42,45 % ($p < 0,05$) відносно контрольних показників за умов помірної гіпогепаринемії, не дозволяє

забезпечити адекватний гідроліз ліпопротеїнів. Це призводить до розвитку атерогенної дисліпідемії, підвищення вмісту насичених та зниження ненасичених жирних кислот, особливо, арахідонової кислоти ($p \leq 0,05$), що свідчить про порушення ліпідтранспортної системи, а саме, прямого транспорту холестерину.

3. Підвищення активності ліпопротеїніпази при максимальному дефіциті гепарину в 1,9 рази ($p < 0,05$) у хворих на ішемічну хворобу серця, дифузний атеросклероз, ускладнений цукровим діабетом 2 типу, супроводжувалось низькою ефективністю ліполізу, що є свідченням порушення механізмів утилізації ліпідів, які викликають збільшення у плазмі крові кількості ненасичених жирних кислот за рахунок підвищення в 1,5 рази олеїнової кислоти на тлі вираженого зниження полієнових кислот ($p < 0,05$). Виявлені порушення пов'язані з якісною зміною субстрату для дії ліпопротеїніпази та здатністю інсуліну безпосередньо пригнічувати її активність. При цьому гіперхолестеринемія, збільшення рівнів мононенасичених жирних кислот при падінні насичених є компенсаторно-приспосувальною реакцією у відповідь на шкідливу дію перекисного окислення ліпідів на ендотелій судин.

4. Наслідком дефіциту концентрації гепарину в плазмі крові хворих на ішемічну хворобу серця без клінічно значущих проявів атеросклерозу було зменшення активності ліпопротеїніпази, що спричиняло зниження ліполізу та коефіцієнту його ефективності відносно і показників контролю, і інших дослідних груп, незважаючи на підвищений початковий рівень тригліцеридів (в 2,5 рази). Це обумовлювало атерогенні порушення з боку ліпідтранспортної системи: вірогідне зниження ліпопротеїнів високої щільності на 47,27 % та підвищення ліпопротеїнів дуже низької щільності при вмісті холестерину в межах референтних одиниць (до 5,2 ммоль/л). Вміст насичених жирних кислот збільшувався на 30 % за рахунок концентрації пальмітинової кислоти, а рівень кислот полієнового ряду зменшувався внаслідок падіння концентрації α -ліноленової кислоти майже в 2 рази й достовірно низького вмісту докозагексаєнової та ейкозапентаєнової кислот порівняно з контрольними даними. Дисбаланс між вмістом насичених та поліненасичених жирних кислот зі значним зменшенням концентрації ω -3 полієнових є ознакою посилення порушення функціонального стану ліпідтранспортної системи та атеросклеротичного процесу у цієї категорії хворих.

5. Зниження толерантності ліпідтранспортної системи при гіпогепаринемії до жирового та вуглеводного навантажень обумовлено низькою ефективністю ліполізу внаслідок ферментативної недостатності ліпопротеїніпази. Відсутність підвищення постпрандіального вмісту ліпопротеїнів високої щільності вказувала на недостатній ліполіз ліпопротеїнів дуже низької щільності, що відображало наявність прогресуючих порушень з боку прямого та зворотнього транспорту холестерину ліпопротеїнами. При цьому при вуглеводному навантаженні поглиблення атерогенної дисліпідемії пов'язано зі значними порушеннями прямого транспорту холестерину.

6. Дозоване фізичне навантаження впливало на динаміку змін ліпопротеїніпази, що викликало дисбаланс в процесі утилізації атерогенних ліпопротеїнів і підвищення їх синтезу в післянавантажувальному періоді. Механізм розвитку ендогенної післямобілізаційної гіперліпідемії і дисліпідемії полягає в функціональній неспроможності системи зворотнього транспорту холестерину за рахунок загального зниження активності ферменту при дефіциті гепарину, що в підсумку не дозволило забезпечити достатній ліполіз. Найбільш виражені атерогенні зміни ліпідтранспортної системи спостерігали в групі порівняння та у хворих на атеросклероз в поєднанні з гіпертонічною хворобою: збільшувалась кількість насичених жирних кислот при зменшенні вмісту ω -6 та ω -3 ряду полієнових жирних кислот, підвищувався рівень тригліцеридів, ліпопротеїнів низької та дуже низької щільності.

7. При надлишковому вмісті гепарину в крові (дифузний гіпертіреоз, залізодефіцитна анемія, бронхіальна астма) порушення ліпідтранспортної системи проявлялися гіпохолестеринемією та гіпотригліцеридемією, збільшенням концентрації ліпопротеїнів високої щільності. Проте, у пацієнтів з бронхіальною астмою була виявлена схильність до атерогенних порушень, про що свідчило співвідношення насичених жирних кислот до ненасичених та зниження вмісту в 1,4 рази мононенасичених жирних кислот на відміну від хворих на дифузний гіпертіреоз та залізодефіцитну анемію, де в середньому на 21,41 % ($p < 0,05$) зростав рівень мононенасичених жирних кислот. Механізм вказаних порушення полягає у підвищенні ліпопротеїніпазної активності та в здатності забезпечувати ефективний ліполіз.

8. Виявлений чіткий взаємозв'язок між функціональним станом тканинних базofilів, рівнем гепарину і активністю ліпопротеїніпази при експериментальній гіперліпідемії у щурів. Зменшення кількості зрілих тучних клітин при блокаді гепарину на 79,45 % було зворотно пропорційно різкому збільшенню їх функціональної активності. Виявлення збільшення випадків тотальної дегрануляції та зменшення індексу насиченості в 2,25 рази свідчило про декомпенсацію адаптаційних можливостей мастоцитів, що обумовлювало падіння рівню гепарину в 8,4 рази та зниження при цьому активності ліпопротеїніпази в 5,1 рази ($p < 0,05$) щодо даних інтактних тварин. Підвищення кількості мастоцитів з високим ступенем насиченості при штучній гіпергепаринемії довело, що тучні клітини депонують гепарин при надлишковому його надходженні до організму – рівень гепарину зростав на 46,47 %, при цьому ферментативної активності ліпопротеїніпази збільшувалась на 109,77 %.

9. Наявність вираженого взаємозв'язку між функціональним станом тучних клітин та рівнем гепарина в крові визначає не тільки характер змін активності ліпопротеїніпази, а й обумовлює особливості перебудови функцій ліпідтранспортної системи в цілому. Тривале ліпідне навантаження, яке вимагає підвищення активності ліпопротеїніпази і гепарину, призводить до зниження функції тучних клітин, внаслідок цього розвиваються порушення

ліпідного та жирнокислотного спектру крові з подальшим формуванням дизрегуляторної патології ліпідтранспортної системи.

10. Одноточний вплив на рівень ліпідів крові (гіперліпідемія) та функціональний стан тканинних базофілів (гіпогепаринемія) дозволили експериментально обґрунтувати й апробувати нову модель порушень ліпідтранспортної системи у щурів, яка значною мірою підвищує частоту і тяжкість розвитку атеросклеротичних уражень судин в експерименті на тваринах. В основу даної моделі покладений механізм, обумовлений здатністю гепарина впливати на функціональну активність ліпопротеїніпази.

11. Одним з важливих механізмів обміну ліпопротеїнів та порушень ліпідтранспортної системи на тканинному рівні є пригнічення активності ліпопротеїніпази, або в результаті порушення функціональної потреби тканин в жирних кислотах, або внаслідок пригнічення активації самої ліпопротеїніпази, що обумовлено гіпогепаринемією. Дефіцит гепарину виникає при зниженні функції самих тучних клітин на тлі дисфункції ендотелію, чи при виснаженні власне ліпопротеїніпази внаслідок підвищеної її потреби.

12. Тріада тучні клітини – гепарин – ліпопротеїніпаза відіграє ключову роль в обміні ліпопротеїнів і енергетичному забезпеченні периферичних тканин, оскільки її порушення є одним із важливих патогенетичних механізмів гіперліпідемії та дисліпідемії, та набуває вагомості самостійного ланцюга атерогенезу.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Котюжинская С. Г. Гепарин: регуляция гемостаза и негемостатические функции / С. Г. Котюжинская, А. И. Гоженко // Кровообіг та гемостаз. – 2006. – № 2. – С. 11-17. *Внесок дисертанта – аналіз літератури, підготовка узагальнень і висновків, написання статті.*

2. Котюжинская С. Г. Мастоциты и базофилы в физиологии и патологии / А. И. Гоженко, С. Г. Котюжинская // Патологія. – 2006. – Т. 3, № 3. – С. 12-17. *Внесок дисертанта – аналіз літератури та узагальнення даних, написання статті.*

3. Kotyuzhinskaya S. G. Wpływ cyklicznych hipoksyjnych – hiperkapnicznych ćwiczeń w warunkach jaskini karstowej na funkcjonalny stan układu sercowo – naczyniowego człowieka / A. I. Gozenko, S. V. Biletsky, S. G. Kotyuzhinskaya, Walery Zukow, Anna Nalazek, Barbara Gawinecka-Mykaj, Robert Zacniewski, Robert Kapusniak, Alicja Sikorska // Człowiek – rekreacja – zdrowie: WSG. – Bydgoszcz, 2009. – P. 101-105. *Внесок дисертанта – аналіз літературних джерел, участь в систематизації матеріалу, статистична обробка результатів та їх інтерпретація.*

4. Котюжинская С. Г. Липопротеинлипаза в патологии липидного обмена / А. И. Гоженко, С. Г. Котюжинская // Актуальные проблемы транспортной

медицины. – 2011. – № 2. – С. 8-13. *Внесок дисертанта – аналіз літературних джерел, систематизація матеріалу, узагальнення даних, написання статті.*

5. Котюжинская С. Г. Особенности липидтранспортной системы в норме и при сахарном диабете 2 типа / А. И. Гоженко, С. Г. Котюжинская, Е. А. Гоженко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2012. – № 1. – С. 121-124. *Внесок дисертанта – проведення експериментальних досліджень, статистична обробка та аналіз даних, написання статті.*

6. Котюжинская С. Г. Липидтранспортная система и гипертоническая болезнь / А. И. Гоженко, С. Г. Котюжинская, М. М. Пустовойт // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – Т. XI, № 4. – С. 48-52. *Внесок дисертанта – виконання експериментальних досліджень, статистична обробка, аналіз та узагальнення даних, написання статті.*

7. Котюжинская С. Г. Сравнительная характеристика липидтранспортной системы при заболеваниях с гипер- и гипогепаринемией / С. Г. Котюжинская, А. И. Гоженко // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2013. – Т. 8, № 2. – С. 163-167. *Внесок дисертанта – проведення експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення результатів, формулювання висновків.*

8. Котюжинская С. Г. Особенности состояния липидтранспортной системы при экспериментальной гипогепаринемии / С. Г. Котюжинская // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2013. – Т. 8, № 3. – С. 44-49.

9. Kotyuzhinskaya S. G. Specific features of the condition lipid transport system of blood plasma in patients with essential hypertension and type 2 diabetes in atherosclerosis / A. I. Gozhenko, S. G. Kotyuzhinskaya, W. Zhukov // Journal of Health Sciences. – 2013. – Vol. 3, № 5. – P. 143-154. *Внесок дисертанта – проведення експериментальних досліджень, статистична обробка, аналіз та узагальнення даних, написання статті.*

10. Котюжинская С. Г. Состояние липидтранспортной системы у больных с гиперфункцией щитовидной железы / С. Г. Котюжинская, А. И. Гоженко // Вестник Казахского национального медицинского университета. – 2013. – № 4 (2). – С. 161-163. *Внесок дисертанта – аналіз літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення результатів, написання статті.*

11. Kotyuzhinskaya S. State lipid transport system in patients with severe conditions, which are accompanied by hyperheparinemia / S. Kotyuzhinskaya, A. Gozhenko // Journal of Health Sciences. – 2013. – Vol. 3, № 10. – P. 301-308. *Внесок дисертанта – участь у розробці загальної концепції роботи, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення результатів, формулювання висновків, написання тексту статті.*

12. Kotyuzhinskaya S. The fatty acid composition of plasma lipid at hypoheparinemia / S. Kotyuzhinskaya, W. Zukow // Journal of Health Sciences. – 2013. – Vol. 3, № 11. – P. 341-354. *Внесок дисертанта – розробка загальної концепції роботи, підготовка узагальнень і висновків, написання статті.*

13. Котюжинская С. Г. Характеристика липидтранспортной системы при гипогепаринемии / С. Г. Котюжинская, А. И. Гоженко // Буковинський медичний вісник. – 2014. – Т. 18, № 2. – С. 57-59. *Внесок дисертанта – розробка загальної концепції наукової роботи, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів.*

14. Котюжинская С. Г. Экспериментальное моделирование атеросклероза: перспективы и трудности / С. Г. Котюжинская, А. И. Гоженко // Клінічна та експериментальна патологія. – 2014. – Т. XIII, № 1. – С. 178-183. *Внесок дисертанта – аналіз літератури, підготовка узагальнень і висновків, написання статті.*

15. Котюжинская С. Г. Состояние жирнокислотного состава липидов крови при гипергепаринемии / С. Г. Котюжинская, В. Л. Васюк // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2014. – № 1. – С. 135-139. *Внесок дисертанта – проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, аналіз та узагальнення результатів, формулювання висновків, написання статті.*

16. Котюжинська С. Г. Липопротеїнліпазна активність ліпидтранспортної системи при гіпергепаринемії / С. Г. Котюжинська, В. Л. Васюк // Медична хімія. – 2014. – Т. 16, № 1. – С. 17-20. *Внесок дисертанта – розробка загальної концепції наукової роботи, проведення експериментальних досліджень, узагальнення результатів, формулювання висновків.*

17. Котюжинская С.Г. Особенности липопротеинлипазной активности у больных с гипогепаринемическими состояниями / А. И. Гоженко, С. Г. Котюжинская, В. Л. Васюк // Таврический медико-биологический вестник. – 2014. – Т. 17, № 1. – С. 29-32. *Внесок дисертанта – проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, аналіз та узагальнення результатів, написання статті.*

18. Котюжинская С. Г. Патогенетические аспекты липидтранспортной системы у больных атеросклерозом при жировой нагрузке / С. Г. Котюжинская, А. И. Гоженко, А. А. Свирский // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2014. – Т. 14, вип. 1. – С. 89-93. *Внесок дисертанта – аналіз літературних джерел, виконання експериментальних досліджень, систематизація матеріалу, статистична обробка результатів та їх інтерпретація.*

19. Котюжинская С. Г. Характеристика патогенетических нарушений липидтранспортной системы у больных атеросклерозом при углеводной нагрузке / С. Г. Котюжинская // Досягнення біології та медицини. – 2014. – № 1. – С. 55-58.

20. Котюжинская С. Г. Патогенетические изменения липидтранспортной системы при сахарном диабете / С. Г. Котюжинская // Актуальные проблемы медицины транспорта. – 2014. – № 2. – С. 155-160.

21. Котюжинская С. Г. Патогенетические особенности липидтранспортной системы при экспериментальной гипогепаринемии /

С. Г. Котюжинская, А. И. Гоженко // Владикавказский медико-биологический вестник. – 2014. – Т. XVIII, вып. 27. – С. 21-25. *Внесок дисертанта – проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів та їх інтерпретація, написання статті.*

22. Kotyuzhinskaya S. Functional status of mast cells with experimental hypoheparinemia [Електроний ресурс] / S. Kotyuzhinskaya // The Pharma Innovation Journal. – 2014. – Vol. 3, № 4. – С. 67-71. – Режим доступу : https://thepharmajournal. Volume_3_Issue_4.html.

23. Kotyuzhinskaya S. Atherosclerosis: new achievements and failures / A. Gozhenko, L. Kovalevskaya, S. Kotyuzhinskaya, V. Vasyuk, W. Zukow // Journal of Health Sciences. – 2014. – Vol. 4, № 4. – P. 101-114. *Внесок дисертанта – розробка загальної концепції роботи, підготовка узагальнень і висновків, написання статті.*

24. Котюжинська С. Г. Спосіб комплексного лікування хворих на ішемічну хворобу серця з артеріальною гіпертензією на фоні дисліпідемії / Л. А. Ковалевська, М. К. Хобзей, О. А. Гоженко, О. В. Телятников, С. Г. Котюжинська, А. І. Гоженко // Методичні рекомендації МОЗ України (96.12/236.12). – Одеса, 2012. – 22 с. *Внесок дисертанта – участь в систематизації матеріалу, статистична обробка результатів та їх інтерпретація.*

25. Котюжинская С. Г. Обмен гепарина и гомеостаз / С. Г. Котюжинская, В. А. Жуков // Гомеостаз: фізіологія, патологія, фармакологія і клініка : II між народ. наук. конф., 28-29 вересня 2005 р., Одеса : тези доп. – Одеса, 2005. – С. 39-42. *Внесок дисертанта – проведення експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення результатів, формулювання висновків, виступ з доповіддю на конференції.*

26. Котюжинская С. Г. Тучные клетки и липидный обмен / С. Г. Котюжинская, Л. Г. Коваленко // V читання ім. В. В. Підвисоцького : наук. конф., 25-26 травня 2006 р., Одеса : тези доп. – Одеса, 2006. – С. 37-38. *Внесок дисертанта – аналіз літературних джерел, підготовка узагальнень і висновків, написання тез, виступ з доповіддю на конференції.*

27. Котюжинская С. Г. Патология липидного обмена и липопротеинлипаза / С. Г. Котюжинская // VII читання ім. В. В. Підвисоцького : наук. конф., 22-23 травня 2008 р., Одеса : тези доп. – Одеса, 2008. – С. 36-38.

28. Котюжинська С. Г. Роль фізіологічного харчування та рухів у роботі ендокринної системи / О. О. Свірський, С. Г. Котюжинська, Б. В. Панов // Фізіологічний журнал. – 2010. – Т. 56, № 2. – С. 288 (XVIII з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю. Одеса, 20-22 травня 2010 р. : тези доп.). *Внесок дисертанта – аналіз літературних джерел, участь в систематизації результатів та їх інтерпретація.*

29. Котюжинская С. Г. Тканевой этап обмена липидов и его возможная роль в патогенезе атеросклероза / С. Г. Котюжинская // IX читання ім. В. В. Підвисоцького : наук. конф., 27-28 травня 2010 р., Одеса : тези доп. – Одеса, 2010. – С. 54.

30. Котюжинська С. Г. Про патогенетичне лікування артеріальної гіпертензії / О. О. Свірський, Б. В. Панов, В. М. Кітросан, С. Г. Котюжинська // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т. 5, № 2. – С. 45 (Современные аспекты типовых патологических процессов : V Пленум наукового товариства патофізіологів України з міжнародною участю, присвячений 110-річчю від дня народження ака. АМН СРСР М. М. Горєва, 9-10 вересня 2010 р., Луганськ : тези доп.). *Внесок дисертанта – участь в систематизації матеріалу та їх інтерпретація.*

31. Котюжинська С. Г. Стан ліпідтранспортної системи при гіпогепаринемії / С. Г. Котюжинська // Сучасні проблеми атеросклерозу – від гіпотез до фактів : VII Південноукраїнська наук.-практ. конф., 11 квітня, 2012 р., Одеса : тези доп. – Одеса, 2012. – С. 120-121.

32. Котюжинська С. Г. Стан ліпідтранспортної системи у хворих на атеросклероз / С. Г. Котюжинська // X читання ім. В. В. Підвищоцького : наук. конф., 26-27 травня 2011 р., Одеса : тези доп. – Одеса, 2011. – С. 67-68.

33. Котюжинская С. Г. Динамика показателей липидного обмена у женщин с высоким коронарным риском в репродуктивном и постменопаузальном возрасте / С. Г. Котюжинская // XI читання ім. В. В. Підвищоцького : наук. конф., 25-26 травня 2012 р., Одеса : тези доп. – Одеса, 2012. – С. 75-76.

34. Котюжинская С. Г. К патогенезу атеросклероза / С. Г. Котюжинская // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 3, ч. 2. – С. 343-344 (Від експериментальних досліджень до клінічної патофізіології : VI національний Конгрес патофізіологів України з міжнародною участю, 3-5 жовтня, 2012 р., Крим, Сімферопіль-Місхор : тези доп.).

35. Котюжинская С. Г. Патогенетические особенности липидного обмена при различной локализации атеросклероза / С. Г. Котюжинская // Традиции и инновации внутренней медицины : VIII Южно-украинская науч.-практ. конф., 17 апреля 2013 г., Одесса : тез. докл. – Одеса, 2013. – С. 127-128.

36. Котюжинская С. Г. Экспериментальное моделирование атеросклероза / С. Г. Котюжинская // XII чтения им. В. В. Подвысоцкого : науч. конф., 23-24 мая 2013 г., Одесса : тез. докл. – Одеса, 2013. – С. 48-49.

37. Котюжинська С. Г. Стан ліпідтранспортної системи у хворих на атеросклероз при вуглеводному навантаженні / С. Г. Котюжинська, І. В. Савицький, Л. В. Гончарова, В. С. Шпак // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2013. – № 2. – С. 255-256 (Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : VI наук.-практ. конф., 31 жовтня - 1 листопада 2013 р., Тернопіль : тези доп.). *Внесок дисертанта – проведення експериментальних досліджень, статистична обробка та узагальнення результатів, формулювання висновків, виступ з доповіддю на конференції.*

38. Котюжинская С. Г. Состояние липидтранспортной системы у больных при гипергепаринемических состояниях / С. Г. Котюжинская // Современные аспекты клинической медицины : конф., посвященная 90-летию Черноморской

центральной бассейновой больницы на водном транспорте, 27-29 ноября 2013 г., Одесса : тез. докл. – Одесса, 2013. – С. 75-76.

39. Котюжинская С. Г. Роль дозированной физической нагрузки на состояние липидтранспортной системы у больных атеросклерозом / С. Г. Котюжинская // XIII чтения им. В. В. Подвысоцкого : науч. конф., 19-20 июня 2014 г., Одесса : тез. докл. – Одеса, 2014. – С. 135-136.

АНОТАЦІЯ

Котюжинська С. Г. Патофізіологія ліпідтранспортної системи та її роль в патогенезі атеросклерозу. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Одеський національний медичний університет МОЗ України, Одеса, 2015.

У дисертації представлено рішення наукової проблеми патогенезу атеросклерозу щодо функціонального стану ліпідтранспортної системи при гіпо- та гіпергепаринемії у людей та тварин. Вперше вивчено патологічні механізми порушення транспорту жирів на рівні тканин за участю тріади тучні клітини – гепарин – ліпопротеїнліпаза.

Вперше встановлено, що рівень гепаринемії визначає характер змін активності ліпопротеїнліпази та особливості перебудови функцій ліпідтранспортної системи в цілому. При дефіциті гепарину в плазмі крові змінюються кількісні та якісні показники роботи ліпопротеїнліпази, що призводить до розвитку атерогенної дисліпідемії, порушення утилізації жирних кислот зі збільшенням вмісту насичених та падінням рівня ω -3 полієнових. Показано, що при патологічних станах з явищами гіпергепаринемії порушення з боку ліпідтранспортної системи носять як антиатерогенний характер, так і виявляють проатерогенну схильність.

Доведено, що пригнічення ліпопротеїнліпази є пусковим механізмом пошкодження ліпідтранспортної системи на тканинному рівні внаслідок зниження активації ліпопротеїнліпази обумовленою гіпогепаринемією, яка виникає в результаті виснаження тучних клітин.

Ключові слова: ліпідтранспортна система, гепарин, ліпопротеїнліпаза, тучні клітини, атеросклероз.

АННОТАЦИЯ

Котюжинская С. Г. Патофизиология липидтранспортной системы и ее роль в патогенезе атеросклероза. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Одесский национальный медицинский университет МЗ Украины, Одесса, 2015.

В диссертации представлено решение научной проблемы патогенеза атеросклероза, которая состоит в исследовании функционального состояния липидтранспортной системы при гипо- и гипергепаринемических состояниях у людей и животных. Впервые изучены патологические механизмы нарушения транспорта жиров на уровне тканей при участии триады тучные клетки – гепарин – липопротеинлипаза.

Установлено, что при низкой концентрации гепарина в плазме крови снижаются количественные и качественные показатели работы липопротеинлипазы, что приводит к развитию дислипидемии и гипертриглицеридемии у исследуемых групп больных. Высокий коэффициент эффективности липолиза ($0,137 \pm 0,003$ и $0,129 \pm 0,002$ против $0,034 \pm 0,001$ ед.) на фоне низкой активности липопротеинлипазы ($5,63 \pm 1,03$ и $5,81 \pm 0,98$ против $9,16 \pm 0,54$ ммоль/л/ч, $p \leq 0,05$) свидетельствовали о дефиците самого фермента в группах больных диффузным атеросклерозом и диффузным атеросклерозом в сочетании с гипертонической болезнью, что не позволяло обеспечить адекватный гидролиз липопротеинов. Низкая эффективность липолиза у лиц с диффузным атеросклерозом в сочетании с сахарным диабетом 2 типа при высокой активности липопротеинлипазы была связана с качественным изменением субстрата для ее действия. Дисбаланс в содержании насыщенных и полиненасыщенных жирных кислот с резким уменьшением титра ω -3 у пациентов без клинически значимых проявлений атеросклероза можно расценивать как основные механизмы формирования атеросклеротического процесса у этой категории больных.

Впервые выявлено выраженное снижение толерантности липидтранспортной системы к жировой и углеводной нагрузкам на фоне сниженной активности липопротеинлипазы, проявлявшиеся нарушениями прямого и обратного транспорта холестерина. Дозированная однократная физическая нагрузка вызывала развитие постнагрузочной гиперлипидемии и дислипидемии за счет функциональной несостоятельности системы обратного транспорта холестерина при сниженной активности липопротеинлипазы.

Продемонстрирована антиатерогенная направленность состояния липидтранспортной системы при патологиях с гипергепаринемией в группах больных диффузным гипертриглицеридозом и железodefицитной анемией, о чем свидетельствовали гипохолестеринемия и гипотриглицеридемия, увеличение концентрации липопротеинов высокой плотности и снижение полиеновых жирных кислот при повышенной активности липопротеинлипазы. У пациентов с бронхиальной астмой выявлена склонность к атерогенным нарушениям в липидтранспортной системе, несмотря на гипотриглицеридемию, гипохолестеринемию и незначительный рост насыщенных жирных кислот, что сопровождалось снижением липолиза.

Впервые доказано, что длительная липидная нагрузка у животных на фоне блокады гепарина вызывает уменьшение количества зрелых тучных клеток и приводят к падению функциональной активности липопротеинлипазы более чем в 5 раз ($p < 0,05$) относительно данных контрольной группы, с

последующим формированием дизрегуляторной патологии липидтранспортной системы атерогенной направленности.

На основании проведенных исследований сформулирована новая патогенетическая концепция нарушения транспорта липидов на уровне тканей, за счет депрессии функциональной системы «тучные клетки – гепарин – липопротеинлипаза». Установленный патогенетический механизм нарушений липидтранспортной системы обусловлен способностью гепарина управлять функциональной активностью липопротеинлипазы, что является одним из важных звеньев патогенеза атеросклероза.

Ключевые слова: липидтранспортная система, гепарин, липопротеинлипаза, тучные клетки, атеросклероз.

SUMMARY

Kotyuzhinska S.G. Pathophysiology of lipid transport system and its role in atherosclerosis' pathogenesis. – As a manuscript.

Thesis for a Doctor of Medical Sciences degree in speciality 14.03.04 – Pathological Physiology. – Odessa National Medical University, Ministry of Health Care of Ukraine, Odessa, 2015.

The thesis presents the solution of scientific problems of the pathogenesis of atherosclerosis functional state of lipid transport system in the conditions of hypo- and hyperheparinaemia status of people and animals. For the first time it has been studied, that pathological mechanisms of disturbance of fat's transport on the level of tissues, where mast cells – heparin – lipoprotein lipase take part.

For the first time it has been established, that level of heparinaemia determinates as character of changes of lipoprotein lipase's activity, as particularities of rebuilding of lipid transport system's functions as a whole. Lipoprotein lipase's quantitative and qualitative indices of function change in the condition of heparin's low concentration in blood's plasma, that leads to development of dyslipidemia, disturbance of utilization of fatty acids, which are shown, as the increase of concentration of saturated fatty acids on the background of the decrease of ω -3 unsaturated fatty acids' level. It is shown, that the disturbances of lipid transport system have as antiatherogenic character, as proatherogenic inclination in the conditions of pathological states with hyperheparinaemia's appearances.

It has been established, that the oppression of lipoprotein lipase is one of the important mechanisms of lipoproteins' metabolism and disturbances of lipid transport system in the condition of the decrease of tissues' functional necessities. This can be occurred in the condition of the decrease of lipoprotein lipase's activity, that is made by hypoheparinaemia, which occurs as a result of the depletion of mast cells.

Key words: lipid transport system, heparin, lipoprotein lipase, mast cells, atherosclerosis.

Перелік умовних скорочень та позначень

АТ	– атеросклероз
БА	– бронхіальна астма
ГТ	– гіпертиреоз
ГХ	– гіпертонічна хвороба
ДФН	– дозоване фізичне навантаження
ДГК	– докозагексаєнова кислота
ЕПК	– ейкозапентаєнова кислота
ЖН	– жирове навантаження
ЗДА	– залізодефіцитна анемія
ЗХС	– загальний холестерин
ІХС	– ішемічна хвороба серця
КА	– коефіцієнт атерогенності
ЛПВЩ	– ліпопротеїни високої щільності
ЛПЛ	– ліпопротеїніліпаза
ЛПДНЩ	– ліпопротеїни дуже низької щільності
ЛПНЩ	– ліпопротеїни низької щільності
МНЖК	– мононенасичені жирні кислоти
НЖК	– насичені жирні кислоти
ННЖК	– ненасичені жирні кислоти
ПНЖК	– поліненасичені жирні кислоти
ТГ	– тригліцериди
ТК	– тучні клітини
ХС	– холестерин
ЦД	– цукровий діабет