

Перераспределение фракций липопротеинов крови у больных алкоголизмом в динамике интоксикации, отмены алкоголя и в ремиссии

БОЖКО Г.Х.

к.б.н., доцент, заведующий лабораторией биохимии, Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины, Харьков

СОКОЛИК В.В.

с.н.с. лаборатории биохимии, Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины, Харьков

ЧУРСИНА В.С.

н.с. лаборатории биохимии, Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины, Харьков

АРТЕМЧУК А.Ф.

к.м.н., доцент, отдел профилактики и лечения алкоголизма, Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины, Харьков

АРТЕМЧУК А.А.

клинический ординатор отдела профилактики и лечения алкоголизма, Институт неврологии, психиатрии и наркологии АМН Украины, Харьков

Методом гель-электрофореза изучали перераспределение фракций липопротеинов (ЛП) сыворотки крови больных алкоголизмом в различные по времени периоды запоя, динамике состояния отмены алкоголя и в ремиссии. Обнаружили, что динамика изменений двух фракций: ЛВП_{2a} и ЛПП¹ противоположна в состояниях алкогольной интоксикации и отмены алкоголя. При увеличении продолжительности запоя наблюдается возрастание содержания ЛВП_{2a}, чему соответствует понижение уровня ЛПП. Состояние абстиненции характеризуется зеркально отраженной картиной. Полученные данные свидетельствуют, что даже в состоянии длительной ремиссии больным алкоголизмом свойственна отчетливая дислиппротеинемия атерогенного типа. На основании сопоставления липидного профиля в начальный период запоя и в ремиссии предполагается возможное участие ЛП в метаболических механизмах развития зависимости от алкоголя.

Введение

Изучение обмена ЛП у больных с зависимостью от алкоголя продолжает привлекать внимание исследователей в связи с проблемой выбора критериев хронической интоксикации этанолом. Изменение содержания ЛП рассматривается в качестве одного из маркеров недавнего употребления алкоголя [7]. В клинических и экспериментальных исследованиях выявлены характерные особенности изменений содержания и обмена ЛП при действии этанола. По этой причине определение количества ЛП или холестерина (ХС) в их составе входит в перечень факторов, которые используются для лабораторной диагностики алкоголизма [9, 10]. Гипотеза об улучшении здоровья в случае регулярного употребления низких доз этанола также содержит представление о решающей роли возрастания уровня антиатерогенных фракций ЛП в профилактике сердечно-сосудистых заболеваний [4].

Вместе с тем, несмотря на существенные успехи в понимании значения изменений обмена ЛП при зависимости от этанола, нельзя считать вполне установленной роль и место его нарушений в патогенезе алкоголизма. Вполне вероятно, что это обусловлено резкими колебаниями, вплоть до противоположно направленных изменений, количества отдельных фракций ЛП при дискретных клинических состояниях, которые характеризуют течение заболевания [3]. Очевидно, что клинические и метаболические проявления у больных алкоголизмом значительно различаются в периоды запоя и после прекращения употребления алкоголя.

Названные факты послужили обоснованием для выполнения работы, цель которой заключалась в исследова-

нии содержания фракций ЛП сыворотки крови в различные по времени периоды запоя, динамике состояния отмены алкоголя и в ремиссии.

Методика исследования

Исследовали сыворотку крови мужчин — больных алкоголизмом второй стадии в возрасте 45–53 года. В исследование включали пациентов без явных клинических признаков поражения сердца и печени. В качестве контроля использовали сыворотку крови 12 здоровых доноров мужчин соответствующего возраста (1 группа). В зависимости от состояния больных сформировали 7 групп. Часть пациентов находилась в состоянии запоя (интоксикации) различной продолжительности: 2,7 сут. — 2-я группа; 6,1 сут. — 3-я группа и 22 дня — 4-я группа. Сыворотку крови других пациентов исследовали на 3, 14 и 30-е сутки после отмены алкоголя (абстиненция). Эти больные составили 5, 6 и 7-ю группы соответственно; 8-ю группу представляли пациенты, которые после лечения находились в состоянии ремиссии, продолжающейся не менее 1,5 лет. Каждая группа больных включала 8–10 пациентов.

ЛП исследовали по методу, подробно описанному в предыдущей работе [1]. Сыворотку крови получали центрифугированием в течение 10 мин при 3000 об/мин и температуре 4 °С. Гель-электрофорез проводили в течение 1,5 ч при постоянной силе тока 60 мА в вертикальных пластинах (160 140 2) мм с линейным градиентом концентрации акриламида 2,5–10%, pH 8,9. Для стабилизации градиента концентрации акриламида добавляли сахарозу до конечной концентрации 10 %. Использовали реактивы фирмы Reanal. Для идентификации ЛП, получаемых в результате электрофореза, параллельно с образцами сыворотки разделяли отдельные фракции ЛП, выделенные ультрацентрифугированием [1].

¹ ЛОНП, ЛПП, ЛНП — липопротеины очень низкой, промежуточной и низкой плотности, соответственно; ЛВП_{2a}, ЛВП_{2b}, ЛВП₃ — фракции липопротеинов высокой плотности

Электрофореграммы сканировали на денситометре ERI-65m (Германия). Полученные денситограммы использовали для качественного анализа фракций ЛП. Цифровой материал вводили в персональный компьютер. Основой программного обеспечения был алгоритм обработки цифрового материала с подпрограммами поиска максимальных величин оптической плотности отдельных фракций по второй производной огибающей кривой денситограммы и вычисления площади пиков в миллиметрах квадратных, а также оптимизации и сравнения расчетных величин с реальной интегральной кривой.

Полученные данные обрабатывали статистически по методу Фишера—Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Полученные данные, представленные на рис. 1А и 1В, свидетельствуют, что изменение апоВ-содержащих фракций ЛП по сравнению со здоровыми лицами у больных

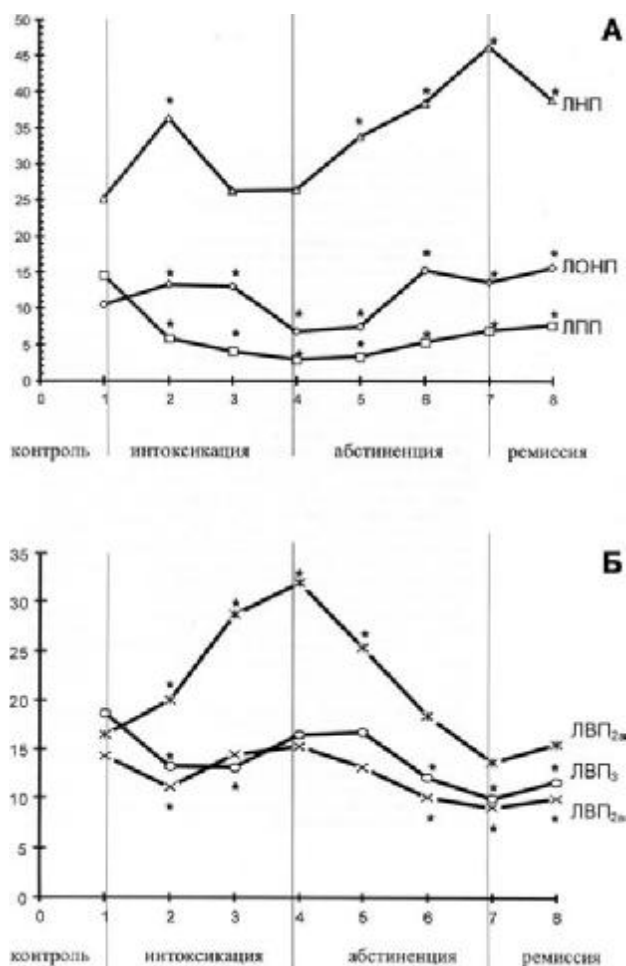


Рис. 1. Изменения количества фракций липопротеинов сыворотки крови больных алкоголизмом в различные периоды заболевания и в ремиссии:

А — апоВ-содержащие фракции липопротеинов;

Б — апоА-содержащие фракции липопротеинов.

Ось ординат: количество отдельных фракций в процентах к сумме;

Ось абсцисс: состояния больных.

1 — контроль, 2 — интоксикация в течение 2,7 суток; 3 — то же 6, 1; 4 — то же 22,0; 5 — 3-и сутки после отмены алкоголя; 6 — то же 14-е сутки; 7 — то же 30-е сутки; 8 — ремиссия.

* — Изменения статистически достоверны по сравнению с контролем

алкоголизмом в состоянии запоя (интоксикация) можно характеризовать лишь как отклонение от стандартного уровня. Изменение каждой из исследованных фракций ЛП этого класса в различные по времени периоды запоя не укладываются в какую-либо общую закономерность. Между тем в состоянии абстиненции наблюдается зависимость от времени, которая характеризуется неуклонным, достаточно равномерным увеличением содержания ЛНП и ЛПП к 30-м суткам после отмены алкоголя. Такая же закономерность наблюдается и для ЛОНП за тем исключением, что возрастание уровня этой фракции заканчивается к 14-м суткам абстиненции, после чего содержание фракции не изменяется, но на 14-е и 30-е сутки отмены алкоголя остается выше, чем в контроле.

АпоА-содержащие фракции ЛП сыворотки крови в состоянии запоя характеризуются следующими изменениями. В самый короткий период интоксикации наблюдается уменьшение содержания ЛВП₃ и ЛВП_{2в}. В отличие от этого происходит увеличение количества ЛВП_{2а}. При продолжительности интоксикации алкоголем отмечается резкое повышение уровня этой фракции. Содержание других фракций апоА-содержащих ЛП при этом изменяется не так интенсивно, и в самый длительный период запоя их количество не превышает контрольный уровень. В результате отмены этанола происходит подобное изменение количества всех апоА-содержащих фракций ЛП, содержание которых уменьшается. При этом, к 30-м суткам алкогольной депривации уровень ЛВП_{2а} восстанавливается относительно здоровых лиц, в то время как содержание ЛВП₃ и ЛВП_{2в} снижается и составляет всего 53 и 63% по сравнению с контролем соответственно.

Сравнение доли каждой фракции ЛП у больных через 30 суток после отмены этанола и в состоянии длительной ремиссии показывает, что ее максимальное отклонение в ту или иную сторону от суммы, принятой за 100 %, практически не изменяется. На основании этих результатов можно заключить, что к 30-м суткам абстиненции количественное соотношение между основными фракциями ЛП сыворотки крови у пациентов достигает равновесного уровня, который характеризует популяцию больных алкоголизмом в ремиссии. Между тем этот уровень почти для всех исследованных фракций ЛП существенно отличался от величины, характеризующей здоровых лиц. Из данных, представленных на рис. 1, видно, что в ремиссии содержание ЛНП и ЛОНП значительно больше, чем в контроле, в то время как количество ЛПП, ЛВП_{2в} и ЛВП₃ также отчетливо меньше, чем у здоровых лиц. Наблюдается нормализация (нет отличий от контроля) лишь уровня фракции ЛВП_{2а}. Полученные данные свидетельствуют о том, что даже в состоянии длительной ремиссии для больных алкоголизмом характерна отчетливая дислиппротеинемия атерогенного типа [2].

При анализе полученных результатов обращают на себя внимание крайне незначительные различия, которые наблюдаются при сравнении количества фракций ЛП в первый среди исследованных периодов интоксикации и в ремиссии. Приведем эти значения для наглядности на отдельном рисунке (рис. 2). При таком сопоставлении видно, что содержание некоторых фракций в начале запоя и в ремиссии почти совпадает. Можно думать, что такое совпадение отражает участие ЛП в метаболических механизмах зависимости от алкоголя. Принимая во внимание наличие резких колебаний содержания ЛП в состояниях ин-

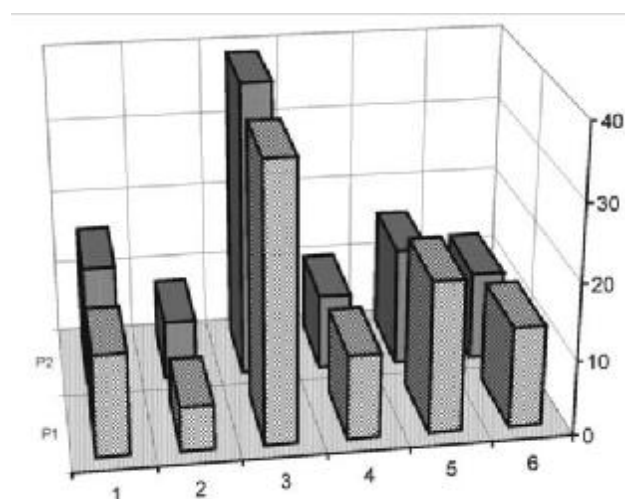


Рис. 2. Сравнение содержания фракций липопротеинов в первый период интоксикации и в ремиссии: P1 — интоксикация, P2 — ремиссия. Ось ординат: количество отдельных фракций в процентах к их сумме; Ось абсцисс: фракции липопротеинов. 1 — ЛОНП; 2 — ЛПП; 3 — ЛНП; 4 — ЛВП_{2a}; 5 — ЛВП_{2b}; 6 — ЛВП₃

токсикации и абстиненции, легко допустить, что и в «светлый» промежуток времени (между запоями), который превышает 30 суток, также наблюдаются значительные отклонения от нормы. Таким образом, возникает вопрос, не достигается ли в результате приема первых порций алкоголя (начало запоя) квазинормальный уровень содержания ЛП, характерный для больных в состоянии ремиссии или для части популяции, предрасположенной к заболеванию алкоголизмом. Можно предположить, что в какой-то мере запой у больных после «светлого» промежутка обуславливается выравниванием измененного липидного профиля до уровня ремиссии.

Особая позиция в патогенезе алкоголизма двух рассматриваемых состояний (начало интоксикации и ремиссия) проявляется также при анализе суммарного количества ЛП. Как видно из данных, представленных на рис. 3, зависимость изменения общего количества ЛП при различных состояниях описывается кривой, напоминающей параболу, с точкой отсчета, приходящейся на первые сутки интоксикации.

Обращают на себя внимание 2 обстоятельства. Начало приема алкоголя (первые сутки запоя) вызывает понижение уровня суммы фракций ЛП по сравнению со здоровыми лицами. Вместе с тем, в состоянии ремиссии наблюдается такой же низкий уровень рассматриваемого параметра. Таким образом, лишь 2 состояния — начало интоксикации и ремиссия среди всех исследованных групп больных — характеризуются наиболее близкой друг другу и самой низкой, причем меньшей, чем в контроле, суммой ЛП.

В ранее опубликованных работах подробно рассматривалось значение для жизнедеятельности организма изменений обмена ЛП, которые наблюдаются у больных алкоголизмом [3, 5]. Поэтому в настоящей статье ограничимся обсуждением лишь вновь открывшихся обстоятельств. При этом заболевании, так же как в условиях атерогенеза, важное место занимают процессы обратного транспорта липидов. Эту функцию, которая заключается в акцептировании ХС с поверхности клеточных мембран,

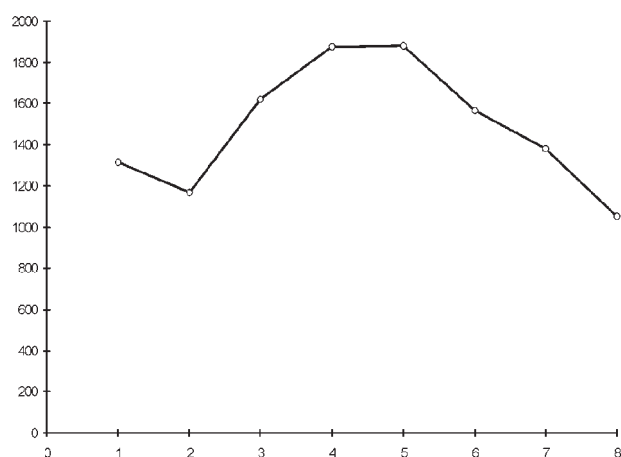


Рис. 3. Динамика изменений общего содержания липопротеинов в зависимости от состояния больных алкоголизмом. Ось ординат: площадь пиков фракций, квадратные миллиметры. Обозначения на оси абсцисс такие же, как на рис. 1.

его этерификации и переносе в печень для утилизации, выполняют апоА-содержащие фракции ЛП [8]. Между тем часть общего пула ХС не достигает печени сразу, а включается в кругооборот стерина прямо в кровотоке. При участии особых белков — переносчиков эфиров ХС (ЭХПБ) осуществляется обмен стерина на триглицериды между частицами апоА- и апоВ-содержащих классов ЛП [8]. По мнению некоторых авторов, этот процесс в исследовании механизмов обмена ЛП в настоящее время становится «горячей точкой» [6].

Опубликованы данные, свидетельствующие, что акцептором эфиров ХС, источником которого являются ЛВП, может быть любая частица среди апоВ-содержащих фракций — хиломикроны, ЛОНП, ЛПП или ЛНП. Субпопуляции апоА-содержащих ЛП при этом не дифференцируются. Между тем исключительно выдающееся возрастание уровня ЛВП_{2a} в условиях однократной и длительной интоксикации этанолом позволяет отдать предпочтение именно этой фракции в качестве субстрата для переноса в кровоток эфиров ХС на другие ЛП [3].

Для того, чтобы учесть эффект на характер перераспределения других (кроме ЛВП_{2a} и ЛПП) фракций ЛП, провели расчеты (в статье не приводятся), сопоставляя изменения содержания индивидуальных фракций ЛП относительно их суммы при том или ином составе компонентов (ЛОНП+ЛПП+ЛНП+ЛВП_{2a}+ЛВП_{2b}; ЛОНП+ЛПП+ЛВП_{2a} и тому подобные). Итоги этой процедуры (расчет полного состава компонентов представлен в статье на рис. 1) дают основание полагать, что у больных алкоголизмом главными участниками обмена эфиров ХС на триглицериды в сыворотке крови являются ЛВП_{2a} и ЛПП. Действительно, в каждом исследованном состоянии больных выявляются резкие и закономерные изменения относительного содержания именно этих фракций. Амплитуда колебаний их уровня наиболее высокая по сравнению с другими фракциями. Изменения в зависимости от состояния больных графически наиболее «правильны».

Из данных, представленных на рис. 1А и 1Б, видно, что динамика изменения обеих рассматриваемых фракций противоположна в состояниях алкогольной интоксикации и отмены алкоголя. При увеличении продолжительности запоя наблюдается увеличение содержания ЛВП_{2a}, чему

соответствует понижению уровня ЛПП. Состояние абстиненции характеризуется зеркально противоположной картиной. Происходит резкое уменьшение содержания ЛВП_{2а}, чему соответствует постепенное возрастание количества ЛПП.

На основании полученных данных можно предположить, что в запое пропорционально его продолжительности увеличение соотношения между ЛВП_{2а} и ЛПП обусловливается ингибирующим действием этанола на функцию ЭХПБ. После отмены алкоголя функция этих белков постепенно восстанавливается, что выражается в понижении уровня ЛВП_{2а} и соответствующем увеличении содержания ЛПП.

Список литературы

1. Божко Г.Х., Кулабухов В.М. Перераспределение липопротеинов сыворотки крови кроликов, вызванное однократным введением холестерина // Биохимия. — 1993. — Т. 58, № 10. — С. 1594–1603.
2. Божко Г.Х., Чурсина В.С., Кулабухов В.М. Липопротеины сыворотки крови лиц пожилого возраста с патологией сосудов головного мозга // Укр. биохим. журн. — 2001. — Т. 73, № 5. — С. 75–79.
3. Божко Г.Х., Артемчук А.Ф., Чурсина В.С., Артемчук А.А. Динамика перераспределения липопротеинов сыворотки крови больных алкоголизмом в периоды интоксикации и отмены алкоголя // Укр. биохим. журн. — 2002. — Т. 74, № 5. — С. 48–51.
4. Божко Г.Х., Соколик В.В., Чурсина В.С. и др. Однократное действие этанола на обмен липопротеинов у абстинентов // Наркология. — 2003. — № 11. — С. 27–32.
5. Божко Г.Х., Соколик В.В., Чурсина В.С., Артемчук А.А. Особенности трансформации липопротеинов у больных алкоголизмом и атеросклерозом // Наркология. — 2004. — № 9. — С. 75–78.
6. Дергунов А.Д. Связь структуры апоЕ, субстратных свойств и рецепторной активности триглицеридбогатых липопротеинов плазмы крови при нормо- и гипертриглицеридемии // Биохимия. — 2004. — Т. 69, № 7. — С. 887–906.
7. Зезеров Е.Г. Биохимические механизмы острого и хронического действия этанола на организм человека (лекция) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 1998. — № 2. — С. 47–55.
8. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеинов и его нарушения. — С.-Петербург: Питер, 1999. — 512 с.
9. Сторожок С.А., Панченко Л.Ф., Филиппович Ю.Д. Изменение физико-химических свойств биологических мембран при развитии толерантности к этанолу // Вопросы мед. химии. — 2001. — Т. 47, № 2. — С. 198–208.
10. Шабанов П.Д. Основы наркологии. — СПб: Лань, 2002. — 560 с.

REDISTRIBUTION OF LIPOPROTEIN FRACTIONS IN PATIENTS WITH ALCOHOLISM IN DYNAMICS OF THE INTOXICATION, ABSTINENCE AND REMISSION

BOZHKO G.KH.	Cand.biol.sci., docent, head of laboratory of biochemistry, Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the AMS of Ukraine, Kharkiv
SOKOLIK V.V.	Senior researcher of laboratory of biochemistry, Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the AMS of Ukraine, Kharkiv
CHURSINA V.S.	researcher of laboratory of biochemistry, Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the AMS of Ukraine, Kharkiv
ARTEMCHUK A.F.	Cand.med.sci., docent, Dept. Of the treatment and profilaxic, Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the AMS of Ukraine, Kharkiv
ARTEMCHUK A.A.	Psychiatrist, Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of the AMS of Ukraine, Kharkiv

With the method of gel-electrophoresis a redistribution of serum lipoprotein (LP) fractions in patients with alcoholism during different periods of a hard drinking, a state of an alcohol abstinence, and remission had been investigated. It was found out that dynamics of changes of two fractions LDHD2a and LPID was opposite under conditions of the intoxication and abstinence. In conditions of prolongation of a hard drinking period an increasing of LPHD2a contents is pointed out with a respective decreasing of the LPID level. An abstinent state is characterized with a reverberated picture. The data obtained are an evidence of a clear dyslipoproteinemia of aterogenic type in patients with alcoholism even under conditions of a prolonged remission. On the base of comparison of the lipid profile in an initial period of hard drinking and in the remission we suppose a possible participation of lipoproteins in metabolic mechanisms of development of alcoholic dependence.