

Міністерство освіти і науки України
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
Навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів
Кафедра біохімії та біотехнології

ПОКАЗНИКИ ЛІПІДНОГО ПРОФІЛЮ КРОВІ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗІ

Дипломна робота
Рівень вищої освіти - другий (магістерський)

Виконала:
студентка VI курсу б11 групи
спеціальності 091 «Біологія»
ОП «Біохімія та лабораторна
діагностика»
Єльнікова Ольга Володимирівна
Керівник: к.б.н., доцент Худа Л.В.

Чернівці-2023

АНОТАЦІЯ

У магістерській роботі представлені результати аналізу експериментальних досліджень показників ліпідного профілю крові при атеросклеротичній хворобі у різних вікових групах.

Встановлено, що рівень загального холестеролу та ліпопротеїнів низької щільності в крові збільшений при атеросклерозі у всіх досліджуваних вікових групах. Найвищий рівень триацилгліцеролів, загального холестеролу, ЛПНЩ та значення індексу атерогенності встановлено у пацієнтів віком від 40 до 49 років. Показник рівня ЛПВЩ у пацієнтів всіх вікових груп при атеросклеротичній серцево-судинній хворобі знаходився в межах норми на рівні 1,3 ммоль/л. Комплексна терапія із застосуванням статинів мала гіполіпідемічний ефект та проявилась зниженням рівня триацилгліцеролів, загального холестеролу та ЛПНЩ у всіх досліджуваних вікових групах.

Ключові слова: атеросклероз, ліпідний профіль, холестерол, триацилгліцероли, ліпопротеїни.

ABSTRACT

The master's thesis presents the results of the analysis of experimental studies of blood lipid profile in atherosclerotic disease in different age groups.

It has been established that the level of total cholesterol and low-density lipoprotein in the blood is increased in atherosclerosis in all age groups studied. The highest levels of triacylglycerols, total cholesterol, ldl cholesterol, and atherogenicity index were found in patients aged 40 to 49 years. The hdl-c level in patients of all age groups with atherosclerotic cardiovascular disease was within the normal range at 1.3 mmol/l. Complex therapy with the use of statins had a hypolipidemic effect and was manifested by a decrease in the level of triacylglycerols, total cholesterol and ldl in all age groups studied.

Keywords: atherosclerosis, lipid profile, cholesterol, triacylglycerols, lipoproteins.

ЗМІСТ

ВСТУП	4
РОЗДІЛ I. Огляд літератури	6
1.1. Патогенез атеросклеротичного ураження та фактори, що його спричиняють.....	6
1.2. Порушення ліпідного обміну в патогенезі атеросклеротичного захворювання	12
1.3. Біохімічні маркери розвитку атеросклерозу.....	19
РОЗДІЛ II. Матеріали та методи дослідження	22
2.1. Матеріали дослідження.....	22
2.2. Біохімічні методи дослідження.....	22
2.2.1 Дослідження рівня холестеролу.....	22
2.2.2. Дослідження рівня ліпопротеїдів високої щільності.....	23
2.2.3. Дослідження рівня ліпопротеїдів низької щільності.....	24
2.2.4. Дослідження рівня тригліцеридів.....	25
2.2.5. Визначення активності аспаратамінотрансферази.....	26
2.2.6. Визначення активності аланінамінотрансферази.....	27
2.4. Статистичні методи дослідження.....	29
РОЗДІЛ III. Результати досліджень та їх обговорення	30
ВИСНОВКИ	44
СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	45
ДОДАТКИ	47

ВСТУП

Атеросклероз – це широко поширене захворювання серцево-судинної системи у всьому світі. Відсоток смертності від атеросклеротичного ураження судин займає більшу частину, ніж травми, пухлинні захворювання, та нещасні випадки разом взяті.

На сьогоднішній день поширення атеросклерозу тісно пов'язують з нездоровим спосіб життя, що підтверджується широким розповсюдженням захворювання в цивілізованих країнах. Підтвердженням залежності атеросклерозу від способу життя служить надзвичайно високий рівень захворюваності в Україні, де серцево-судинні захворювання в поєднанні з атеросклерозом набули характеру епідемії.

Згідно з статистичними даними ВООЗ, у всьому світі щорічно від захворювань, викликаних атеросклерозом, помирають 17 млн. чоловік. В Україні – майже 300 тис. чоловік помирає від даного захворювання щорічно.

Атеросклероз є загальним захворюванням людини, включає різні поєднання змін стінок артерій, що проявляється у вигляді відкладення ліпідів, елементів крові та циркулюючих в ній продуктів, з утворення сполучної тканини і відкладення кальцію в стінках судин.

Атеросклероз артерій безпосередньо пов'язаний з порушенням метаболізму ліпідів. Він може розвиватися як наслідок різних захворювань (гіпертонія, гіперліпопротеїнемія, цукровий діабет, гіперурикемія,) або як наслідок дії чинників зовнішнього середовища та способу життя

Атеросклеротичні зміни полягають у накопиченні ліпідів у судинній стінці та її ущільнення внаслідок фіброзу. Сформована атеросклеротична бляшка зумовлює критичне звуження артерій та створюються передумови для повного закриття просвіту судини.

Насьогодні уявлення про те, що атеросклероз - хвороба людей переважно старшого віку, змінюється. Атеросклероз як захворювання ліпідного обміну починається ще в дитячому й підлітковому віці. Фактори ризику в дитячому, підлітковому та дорослому віці включають гіперліпидемію,

артеріальну гіпертензію, куріння, ожиріння, розумовий та емоційний стрес, гіподинамію, гормональні порушення.

Тому, метою роботи було проаналізувати показники ліпідного профілю крові при атеросклерозі у різних вікових групах.

Для досягнення даної мети були поставлені такі **завдання**:

- Проаналізувати рівень триацилгліцеролів в крові пацієнтів чотирьох вікових груп (40-49 років; 50-59 рр., 60-69 рр. та 70+ р.), хворих на атеросклероз, до та після проведеної комплексної терапії
- Оцінити вміст загального холестеролу в сироватці крові при атеросклеротичній серцево-судинній хворобі у пацієнтів різних вікових груп
- Проаналізувати рівні ліпопротеїдів високої та низької щільності, а також розрахувати індекс атерогенності при атеросклеротичній серцево-судинній хворобі у пацієнтів різних вікових груп

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Патогенез атеросклеротичного ураження та фактори, що його спричиняють

Атеросклероз - хронічне серцево-судинне захворювання, що завдає шкоди здоров'ю людини і є однією з найпоширеніших причин смерті в літньому віці. Основні ураження при атеросклерозі характеризуються відкладенням ліпідів в окремих ділянках артерій з проліферацією гладком'язових клітин і волокнистого матриксу [2].

Це захворювання поширене в усьому світі і зазвичай не має видимих симптомів, доки не виникнуть проблеми зі здоров'ям серця або судин. Ішемічна хвороба серця, інсульт та інфаркт міокарда є одними з найпоширеніших прикладів. Тому існує нагальна потреба у дослідженні причин захворювання та способів зупинити його поширення.

У структурі смертності від серцево-судинних захворювань на ішемічну хворобу серця (ІХС), інсульт та хвороби периферичних артерій припадає близько 90% усіх смертей. Основною етіологією смерті від цих захворювань є поєднання атеросклерозу церебральних, коронарних і периферичних артерій. Зниження смертності та збереження працездатності можна досягти за рахунок профілактичних заходів, зокрема, запобігання прогресуванню атеросклерозу. Багато вчених вважають, що вирішення цієї проблеми може збільшити тривалість життя людини на 7,5 років.

Атеросклероз - це хронічне запальне захворювання, що характеризується нестабільним розривом атеросклеротичних бляшок, звуженням і закупоркою судин внаслідок агрегації тромбоцитів і тромбозу, що призводить до гострих серцево-судинних захворювань [15].

Це призводить до серцево-судинних захворювань. Атеросклероз безпосередньо пов'язаний із запаленням і активується запальними цитокінами, запальними сигнальними шляхами, біологічно активними ліпідами та молекулами адгезії.

Обговорюється безпосередній вплив запалення та системних запальних сигнальних шляхів на атеросклероз, роль відповідних сигнальних шляхів у запаленні, формуванні атеросклеротичної бляшки та перспективи лікування атеросклерозу шляхом пригнічення запалення [1].

Фактори ризику атеросклерозу включають високий рівень холестеролу в крові, діабет, високий кров'яний тиск, куріння, ожиріння, сидячий спосіб життя, старіння і генетику.

Атеросклероз може виникнути у будь-кого, але є певні групи людей, які мають значно підвищений ризик його розвитку. Це люди, які:

1. Мають надмірну вагу або ожирінням;
2. Мають високий рівень холестеролу або інших ліпідів у крові;
3. Ведуть сидячий спосіб життя, або люди зі зниженою фізичною активністю;
4. Мають звичку палити;
5. Хворіють на цукровий діабет;
6. Мають високий кров'яний тиск.

Особливо важливо звернути увагу на профілактику артеріосклерозу, оскільки люди, які схильні до ризику розвитку артеріосклерозу, піддаються більшому ризику, ніж інші. Також бажано проходити регулярні медичні огляди, щоб своєчасно виявляти і лікувати серцево-судинні захворювання [6].

Лікування атеросклерозу передбачає контроль факторів ризику, таких як дієта, фізична активність і прийом ліків, щоб знизити рівень холестерину в крові та зменшити ризик ускладнень. Якщо атеросклероз вже спричиняє ускладнення, може знадобитися інтервенційне лікування, наприклад, ангіопластика або стентування.

Ця комбінована процедура є безпечною, робить лікування більш ефективним і запобігає рецидиву стенозу. Балонна ангіопластика характеризується введенням катетера з балоном у судину.

Коли балон досягає місця стенозу, його надувають під тиском, щоб відновити прохідність судини. Хірургічні втручання, такі як артеріальне шунтування, також використовуються в лікуванні [13].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), у 2024 році приблизно 17,9 мільйона людей у світі помруть від серцево-судинних захворювань, серед яких атеросклероз є однією з найпоширеніших причин.

За даними Національного інституту серцево-судинних захворювань імені академіка М.Д. Стражеска, атеросклероз є однією з найпоширеніших причин серцево-судинних захворювань в Україні. На атеросклероз припадає понад 50% від загальної кількості випадків серцево-судинних захворювань в Україні.

За даними Національної служби здоров'я України, з 2015 по 2019 рік від серцево-судинних захворювань померло понад 340 000 людей, значна частина з яких - від атеросклерозу.

Україна активно працює над запобіганням розвитку атеросклерозу та інших серцево-судинних захворювань. З цією метою вживаються заходи з просвітництва, зменшення кількості насичених жирів і цукру в раціоні харчування, популяризації фізичної активності та заборони куріння. Крім того, медичні програми та проекти підтримують раннє виявлення та лікування атеросклерозу [11].

До п'ятдесятих років 20 століття атеросклероз вважався ознакою старіння; після проспективних досліджень, проведених протягом 10-20-30 років у людей віком 30-59 років, зокрема Фрамінгемського дослідження (США), були виявлені фактори, пов'язані з підвищеним ризиком розвитку ішемічної хвороби серця, цереброваскулярних захворювань і захворювань периферичних артерій. Зараз вони відомі як фактори ризику атеросклерозу. Уявлення про те, що атеросклероз - це хвороба людей середнього і старшого віку, змінюється.

Інші фактори ризику включають тривалі розумові та емоційні перевантаження. Багато кардіологів стверджують, що люди з психологічним

типом особистості А більш схильні до ішемічної хвороби серця. Як правило, ці люди амбітні, честолюбні, нетерплячі і агресивні, постійно незадоволені тим, чого досягли в житті і роботі. Вони завжди хочуть бути лідерами. Водночас ми добре знаємо, що тривала важка праця і негативні емоції не призводять у деяких людей до стенокардії чи інфаркту міокарда. Очевидно, що тут важливим є не лише розумове та емоційне навантаження, але й реакція людини на ситуацію [18,9].

Вже на другому десятилітті життя з'являються ліпідні відкладення в аорті та жовті ліпідні смуги. Атеросклероз як захворювання обміну ліпопротеїдів (ЛП) починається в дитячому та підлітковому віці. Фактори ризику в дитячому, підлітковому та дорослому віці включають гіперліпідемію (ГЛП), артеріальну гіпертензію, куріння, ожиріння, розумовий та емоційний стрес, гіподинамію, гормональні порушення, вік, стать, використання контрацептивів та порушення реології крові. Хоча фактори ризику не є причинами захворювання, вони створюють сприятливі умови для розвитку атеросклерозу. Поєднання декількох факторів ризику підвищує ймовірність розвитку та прогресування захворювання в молодому віці. Діагностика цих факторів ризику в кожному конкретному випадку має вирішальне значення для індивідуалізованої дієтотерапії та профілактики атеросклерозу [11].

Морфогенез атеросклерозу безпосередньо пов'язаний з особливостями будови артерій. Як відомо, артерії можуть бути еластичними, еластично-м'язовими або м'язовими і складаються з трьох морфологічних шарів.

Внутрішня оболонка артерії називається інтимою. Вона вкрита з боку просвіту артерії ендотеліальними клітинами, під якими знаходиться шар пухкої сполучної тканини. З віком в інтимі збільшується кількість гладком'язових клітин (*immac*). Середній шар артерії називається *tunica media* і відокремлений від інтими еластичною мембраною з переплетеними волокнами. Серцевина складається переважно з гладких м'язів, оточених колагеновими та еластичними волокнами. Зовнішній шар (зовнішня оболонка) відокремлений від м'язової оболонки еластичною мембраною. Зовнішня

мембрана містить гладкі м'язи і фібробласти, оточені пучками колагену і мукополісахаридів [7].

Атеросклероз як патологічний процес спочатку локалізується в інтимі, а потім охоплює туніку. Це супроводжується проліферацією гладких м'язів, накопиченням внутрішньо- і позаклітинних ліпідів та інтенсивним синтезом колагену. На різних стадіях розвитку атеросклерозу переважає одне з вищезгаданих явищ.

В останні десятиліття атеросклеротичні зміни виявляють і вивчають у дитячому віці. В аорті дітей виявляють жовтуваті плями або смуги. Це одна зі стадій атеросклерозу. Близько 95% ліпідних бляшок розвиваються оборотно і лише невеликий відсоток з часом трансформується в атеросклеротичні бляшки. Дослідження показали, що на розтині дітей, які померли від різних захворювань і травм, сині бляшки в аорті виявляються в 92% випадків у віці до 10 років (А.М. Віхерт, І.П. Дробкова) [20, 3, 4] .

У місцях накопичення ліпідів інтима аорти потовщується і посилюється метаболізм. У ліпідних плямах збільшується кількість гладком'язових клітин, посилюється процес проліферації та міграції цих клітин з медії туніки в інтиму. Холестерин накопичується в пінистих клітинах, які є макрофагами. З віком у бляшках і стріях збільшується кількість пінистих клітин, багатих на ефіри холестерину, тоді як вміст еластину зменшується.

Існує гіпотеза, що дитяча гепатомегалія генетично запрограмована і є передвісником атеросклерозу. ЛПНЩ є головним гравцем у її патогенезі. Розрізняють "ювенільну" та "проміжну" форми гепатомегалії. Перша характеризується віковим накопиченням внутрішньоклітинних ліпідів, з різним клітинним складом, еластину та ефірів холестерину. При "проміжному" типі мелази кількість пінистих клітин збільшена, а міжклітинні простори містять більше ліпідів і колагену. Цей "проміжний" тип ліпідної бляшки є плацдармом для розвитку атеросклерозу [2, 8].

На другій стадії утворюються білуваті атеросклеротичні бляшки, які називають ліпосклерозом. На місці відкладення ліпідів відбувається

розростання сполучної тканини і проліферація гладких м'язів. Фіброзні бляшки складаються з пінистих клітин, насичених ліпідами, з вакуолями, що займають більшу частину цитоплазми, і ядрами, що мігрують на периферію. Пінисті клітини вкриті ліпідними, колагеновими та еластичними волокнами. Вони утворюють так звані фіброзні чашечки і вкриті позаклітинними ліпідами та продуктами клітинного розпаду. Наявність великої кількості жовтуватого гранульованого матеріалу, що утворюється в пінистих клітинах, дала назву терміну "атеросклероз" (від лат. *ather* - коагуляція, *sclerosis* - ущільнення). На відміну від бляшок і стрий, атеросклеротичні бляшки виступають в просвіт артерії і звужують її. Це основний механізм клінічного прояву атеросклерозу. Деякі атеросклеротичні бляшки регресують в процесі прогресування. У коронарних артеріях серця атеросклеротичні бляшки локалізуються у великих екстрамуральних судинах. Ішемія виникає, коли звужується 50% просвіту артерії.

Третя стадія атеросклерозу називається атеросклерозом. У центрі бляшки під фіброзною капсулою відбувається некроз з кристалами холестерину. З пінистих клітин вивільняються протеолітичні ферменти, які пошкоджують захисний ендотелій. На атеросклеротичних бляшках утворюються виразки, а на периферії - крововиливи. Кашоподібна некротична маса змивається кровотоком і може викликати тромбоемболічні ускладнення. Поверхня пошкоджених ендотелієм атеросклеротичних бляшок стає тромбоутворюючою, що призводить до пристінкового тромбозу. Прогресуючий атеросклероз може призвести до серйозних ускладнень, таких як інфаркт міокарда, нестабільна стенокардія, інсульт, гангрена і тромбоз. Утворення фіброзних бляшок та їх розпад відбувається хвилеподібно.

На четвертій стадії в атеросклеротичній бляшці відкладаються солі кальцію і відбувається кальцифікація. Артерії тверднуть і стають особливо жорсткими. Фіброз і кальцифікація призводять до потовщення і звуження стінок судин, що спричиняє порушення кровообігу і розвиток ішемії. Виникають ішемічна дистрофія та некроз [15].

1.2. Порушення ліпідного обміну в патогенезі атеросклеротичної хвороби

Одним з основних факторів ризику атеросклерозу вважаються порушення рівня ліпопротеїдів. Це порушення ліпідного обміну, що призводить до розвитку і прогресування атеросклерозу. Доцільно зупинитися на структурі та функціях основних класів ліпідів, присутніх у плазмі крові людини [7].

Ліпіди і білки є основними компонентами ЛПНЩ; специфічність ЛПНЩ визначається вмістом спеціалізованих білків, які називаються апопротеїнами. Ліпіди включають неетерифіковані жирні кислоти, холестерин (ХС), тригліцериди (ТГ) і фосфоліпіди (ФЛ). У плазмі крові людини присутні хіломікрони (ХМ), ліпопротеїни дуже низької щільності (ЛПДНЩ) або пре-бета ліпопротеїни, ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ) або бета ліпопротеїни, ліпопротеїни високої щільності (ЛПВЩ) або альфа ліпопротеїни. Кожен ліпід виконує певну функцію в організмі.

Найбільші ліпопротеїни, хіломікрони, утворюються в кишечнику, коли жир всмоктується з їжі. Ці ліпопротеїни містять до 80-85% ТГ. Саме ТГ надають плазмі крові молочно-білого кольору. Холестерин транспортує ТГ в організмі. При взаємодії з ліпопротеїнліпазою вони розчиняються і плазма стає прозорою. До складу ХС крім ТГ входять невеликі кількості холестерину і ФЛ. Роль ЛПДНЩ у розвитку атеросклерозу не доведена [6].

Ліпопротеїни наднизької щільності відрізняються від ЛПДНЩ тим, що містять більше білка, ЛПВЩ і ФЛ; ЛПДНЩ синтезуються в печінці і виконують функцію транспорту ендогенних ТГ; ЛПДНЩ беруть участь у пошкодженні інтими артерій; ЛПДНЩ також беруть участь у розвитку атеросклерозу, оскільки є найбільш частою причиною атеросклерозу. Під впливом ліпопротеїнліпаз ЛПДНЩ перетворюються на багаті на холестерин ЛПНЩ; на ЛПНЩ припадає 2/3 холестерину плазми крові; ЛПНЩ відіграють важливу роль у формуванні атеросклерозу; ЛПНЩ є основним джерелом холестерину в артеріях і є основним джерелом ТГ [1].

Як показали лауреати Нобелівської премії 1985 року американські вчені Браун і Гольдштейн, ЛПНЩ потрапляють у периферичні клітини через ліпопротеїнові рецептори на поверхні клітин. Під впливом ферментів ЛПНЩ розщеплюється, а продукти його розпаду потрапляють в артеріальну стінку шляхом піноцитозу, фільтрації та вільної дифузії. Продукти розпаду використовуються для виробництва енергії та утворення нових клітин. Надходження вільного холестерину в клітини регулюється взаємодією ЛПНЩ з рецепторами. Коли цей механізм порушується, зокрема при ГЛП, надлишок ЛПНЩ потрапляє в інтиму артерій і відкладається у вигляді кристалів. Накопичення холестерину в інтимі артерій запускає розвиток атеросклерозу.

Захворюванню сприяє підвищена проникність судинної стінки. Накопичення холестерину стимулює проліферацію гладких м'язів у внутрішньому та середньому шарах артерій. Прискорюється мітоз і відбувається міграція гладких м'язів в інтиму. Інтенсивна проліферація призводить до нестачі кисню для клітин, які з часом стають осередком пошкодження і некрозу [21].

Апопротеїни відіграють важливу роль у розвитку атеросклерозу і є індикаторами ризику ішемічної хвороби серця. Рівні апопротеїну В (апоВ) та апопротеїну Аі (апоАі) в крові та співвідношення апоВ/ апоАі вказують на кількість частинок ЛПНЩ та ЛПВЩ, а також на силу транспорту холестерину до периферичних тканин та від тканин до печінки. співвідношення апоВ/ апоАі вище 1 вказує на коронарний атеросклероз та інші захворювання. Апопротеїновий індекс 1,7 або вище вказує на несприятливий прогноз після інфаркту міокарда або нестабільної стенокардії. Більш низькі рівні апоАі у молодих людей є предиктором атеросклерозу і мають більшу діагностичну цінність, ніж рівні холестерину або ТГ. Дослідження апоА II і апоЕ та їх зв'язку з генетичними факторами тривають [8, 14].

Запобігання накопиченню надлишкового холестерину в клітинах пов'язане з функцією ЛПВЩ. В апараті Гольджі гепатоцитів утворюються дискоїдні неопластичні ЛПВЩ, які транспортуються кровотоком до органів і

тканин. Вони містять апоАі, який захоплює холестерин і виводить його з клітин. Потім фермент лецитинхолестеринацилтрансфераза (ЛХАТ) діє на новоутворену форму ЛПВЩ, етерифікуючи його з утворенням ефірів ЛПВЩ. Простагландин Е взаємодіє з апопротеїнами і чинить антиатеросклеротичну дію; підвищення гідрофобності частинок ЛПВЩ сприяє перетворенню дискоїдної форми ЛПВЩ, що зароджується, в сферичну; етерифікований ЛПВЩ в ЛПВЩ потрапляє в печінку, окислюється і перетворюється в жовчні кислоти, які виводяться з організму через кишечник [8].

Одним із факторів ризику атеросклерозу є куріння. Сигаретний дим містить близько 600 токсичних речовин, в основному нікотин, чадний газ, радіоактивні стронцій і цезій, сірководень і канцерогенні смоли. Під впливом чадного газу судинні стінки стають більш проникними і розтягнутими, що призводить до пошкодження судинного ендотелію. Нікотин стимулює симпатичні ганглії і викликає гіперкатехонемію, що супроводжується погіршенням ЛПВЩ і реологічних властивостей крові. Холестерин відкладається в стінках артерій, створюючи умови, сприятливі для розвитку атеросклерозу. Пасивне куріння залишається шкідливим. У курців атеросклеротичні бляшки розвиваються переважно в артеріях ніг ("ноги курця").

У старших класах курять 50% хлопців і частина дівчат. У нашій країні курять 60-70% чоловіків. Найсильніший вплив на дітей та молодь, які починають курити, мають батьки та однолітки. Це необхідно враховувати при проведенні профілактичних заходів.

Коли два з перерахованих вище факторів ризику перекриваються, частота коронарного атеросклерозу та інфаркту міокарда в чотири рази вища, ніж у контролі без цих факторів ризику, і у вісім разів вища, коли перекриваються три з них. Приблизно 25% випадків ішемічної хвороби серця спричинені курінням [7].

Ожиріння є наслідком дисбалансу між споживанням енергії та її витратами. Ожиріння часто асоціюється з гіпотонією, діабетом, артеріальною

гіпертензією, гіперхолестеринемією, гіповентиляцією та ін. За даними М. Корніцера, ожиріння корелює з діабетом і не є незалежним фактором ризику атеросклерозу.

Гіпогонадизм (гіпокаліємія) є поширеним явищем. Малорухливий спосіб життя призводить до метаболічних порушень, які часто асоціюються з ГЛШ, гіпертензією та ожирінням. При гіпокінезі переважає симпатична нервова система і спостерігається схильність до тахікардії та гіпертонії. Ризик раптової смерті у таких людей втричі вищий, ніж у фізично здорових. Висока фізична активність сприяє нормалізації маси тіла, підвищенню рівня альфа-холестерину та зниженню артеріального тиску [11].

Гормональні порушення вважаються фактором ризику, оскільки вони впливають на атерогенні та антиатерогенні ЛПНЩ. В основному це стосується ендогенної секреції інсуліну та діабету. Діабет підвищує рівень ТГ в крові і часто асоціюється з ожирінням і гіпертензією. У пацієнтів з важким і прогресуючим діабетом швидко розвивається атеросклероз, особливо в коронарних артеріях. Відомо, що інфаркт міокарда при діабеті протікає важче. Ліпідний обмін порушується у здорових людей, які споживають понад 100 г цукру щодня.

Гіпотиреоз сприяє ранньому виникненню та прогресуванню атеросклерозу. Гіпотиреоз підвищує рівень ТГ і холестерину в крові. Система гіпоталамус - гіпофіз - щитовидна залоза викликає ліпопротеїнемію і пошкодження інтими артерій. Атеросклероз розвивається під впливом високого рівня кортизолу та АКТГ у крові [5].

Факторами ризику є стать і вік. У порівнянні з чоловіками, у жінок атеросклероз розвивається рідше і в більш старшому віці. Жіночі гормони (естрогени) мають антиатеросклеротичну дію. Існує приказка: "Коронарні артерії жіночого серця на 10-15 років молодші за чоловічі". Дійсно, чоловічі гормони тестостерон і метилтестостерон підвищують рівень холестерину ЛПНЩ і знижують рівень холестерину ЛПВЩ. Синтетичні естрогенні контрацептиви (прогестини) також є фактором ризику. Коли дівчата та жінки

приймають їх протягом тривалого часу, у молодому віці відзначається атеросклероз периферичних судин, інфаркт міокарда, гіпертонія та синдром підвищеної тривожності. Прийом контрацептивів призводить до активації процесів ПОЛ і згортання крові, які відіграють важливу роль у розвитку атеросклерозу [19].

Особливу роль в етіології атеросклерозу відіграють зміни реології крові. У багатьох випадках захворювання індукується порушеннями простациклін-тромбоксанової системи. Пошкодження судинного ендотелію токсинами, імунними комплексами і гормонами призводить до підвищення проникності інтими і зниження ендотеліального синтезу простацикліну, що викликає вазодилатацію. Це призводить до збільшення вироблення тромбоксану A₂ та інших вазоактивних речовин. Підвищується агрегація та адгезія тромбоцитів. Порушення тромбоутворення виявляється на пізніх стадіях захворювання і відповідає за розвиток пристінкового тромбозу, коли атеросклеротичні бляшки руйнуються. Такі судини схильні до спазму і виникає ішемія органів. Як правило, під час розвитку ВАС підвищується згортання крові. Важливе значення має накопичення холестерину в мембранах тромбоцитів та еритроцитів. Підвищений вміст холестерину в мембранах тромбоцитів та еритроцитів погіршує мікрореологічні властивості крові [15].

Погіршення реологічних властивостей крові негативно впливає на функціонування мікроциркуляторного русла. Накопичення холестерину в стінках дрібних кровоносних судин призводить до утворення мікроаневризм і зміни мікроциркуляції. Тромбоцити і лейкоцити прилипають до інтими, просвіт судин звужується і збільшується опір кровотоку. Погіршення реологічних властивостей крові певною мірою залежить від гіперхолестеринемії та концентрації холестерину в мембранах клітин крові.

Існує прямий зв'язок між утворенням атеросклеротичної бляшки та запаленням. Вчені довели, що запалення відіграє важливу роль у розвитку та прогресуванні атеросклеротичних бляшок.

Пошкодження ендотелію, порушення ліпідного обміну та гемодинаміки відповідають за ранні стадії атеросклерозу, а атеросклеротичний процес, як вважають, включає запальні зміни через потік ендотеліальних клітин (ЕК). У цьому процесі беруть участь багато клітин і цитокінів, включаючи макрофаги, лімфоцити (Т- і В-клітини), дендритні клітини, ЕК, гладком'язові клітини судин, молекули адгезії і фактори некрозу пухлин. Багато ліпопротеїнів низької щільності перетворюються на окислені ліпопротеїни наднизької щільності, які накопичуються в судинній стінці і сприяють утворенню атеросклеротичних бляшок. Моноцити диференціюються в макрофаги, які поглинають відкладення ліпопротеїдів наднизької щільності і перетворюються на пінисті клітини. Запальні моноцити переважно накопичуються в атеросклеротичних бляшках і прилипають до стимульованих цитокінами ендотеліальних клітин *in vitro*; інші імунні клітини, такі як ДК, Т-клітини, В-клітини і нейтрофіли, також беруть участь у внутрішньобляшковому запаленні [11].

Міелоїдні клітини становлять інтерес, оскільки вони змінюють вроджену імунну відповідь, а дослідження на кроликах також показали докази проліферації міелоїдних клітин в атеросклеротичних ураженнях.

На пізніх стадіях атеросклерозу велика кількість макрофагів та інших запальних цитокінів вторгаються в стінку судини, виділяють матриксні металопротеїнази і руйнують колагенові волокна в позаклітинному матриксі бляшки, викликаючи розрив бляшки, кровотечу і тромбоз. Інфільтруючі тучні клітини сприяють виникненню запального середовища. Після активації ці клітини вивільняють різноманітні медіатори та ферменти, які мають глибокий вплив на атеросклеротичне ураження [9].

У 1912-1913 роках М.М. Анічков і С.С. Каратов створили теорію холестеринової інфільтрації в розвитку атеросклерозу. В експериментах на кроликах ліпоїдоз аорти виникав в результаті тривалого введення великої кількості холестерину (ХС).

Це була перша експериментальна модель атеросклерозу, яка продемонструвала важливість первинної інфільтрації інтими ліпідами. Згодом особливу увагу було приділено підвищенню проникності ендотеліального шару (W. Rafflenbeil). Відомо, що ендотелій бере активну участь у гомеостазі, виконує бар'єрну функцію, має антитромбогенні властивості та синтезує вазоконстриктори і вазодилататори. Згідно з моноклональною гіпотезою, в основі розвитку атеросклерозу лежить той факт, що гладком'язові клітини атеросклеротичних бляшок мають моноклональне походження [21, 1, 7].

Насправді ж атеросклеротичні бляшки є доброякісними пухлинами, що виникають з однієї клітини, а мутації викликані вірусними інфекціями (наприклад, вірусами герпесу, цитомегаловірусу) або хімічними сполуками. Активація перекису ліпідів, імунопатологічні реакції та підвищене згортання крові відіграють важливу роль у їх розвитку та прогресуванні. Без шкоди для вищезгаданих теорій і гіпотез слід зазначити, що етіологія атеросклерозу досі невідома. Що стосується етіології, то вчені щороку отримують нові дані про складний патогенез цього досить поширеного і небезпечного захворювання.

Дж.Голдштейн і М.Браун першими продемонстрували існування рецепторів клітинної поверхні для ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ) і ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) ЛПНЩ і ЛПДНЩ потрапляють в ендотеліальні клітини шляхом ендоцитозу, зв'язуючись з рецепторами клітинної поверхні мембрани, де відбувається їх подальша трансформація.

Дещо іншу точку зору, що атеросклеротичні бляшки складаються з речовин крові, переважно фібрину, висловив К. Рокитанський понад 100 років тому. Він вважав відкладення фібрину на поверхні артерій причиною утворення бляшок і звуження судин. Цю точку зору згодом підтримали багато вчених, які вказували на важливу роль підвищеної здатності крові до згортання в розвитку атеросклеротичного ураження [13].

Згодом виникла так звана тромболіпідна теорія етіології атеросклерозу, яка постулює, що накопичення ліпідів в артеріальній стінці певним чином

"притягує" фібрин, а фібрин затримує ліпіди. Прихильники цієї теорії також допускали можливість інвазії ліпідів тромбоцитами, що потрапили між ланцюгами фібрину на поверхні судин.

Згідно з інфільтраційною теорією, принаймні до розвитку дисліпідемії артеріальна стінка відіграє пасивну, в кращому випадку другорядну роль. З іншого боку, швидкість інвазії залежить не тільки від того, що фільтрується, але й від того, що фільтрується [10].

У цьому сенсі артеріальна стінка є морфологічно складною тканиною зі специфічними фізіологічними функціями та особливостями метаболізму, і саме в ній виникає атеросклероз.

1.3. Біохімічні маркери розвитку атеросклерозу

За всієї різноманітності етіології атеросклерозу найважливішими є два чинники: порушення ліпідно-білкового обміну і порушення проникності стінки судин [3]. В другому випадку значення мають усі можливі причини первинних ушкоджень і деградації судинної стінки: гіпертонія, цукровий діабет, вікові зміни та інші [20]. Спільне в них те, що усі вони провокують порушення обміну ліпідів, що сприяє ураженню стінок судин [4].

На сьогоднішній день важливим елементом діагностики атеросклерозу є дослідження ліпідного профілю. Ліпідний профіль в рутинному використанні включає визначення вмісту загального холестерину (ЗХС), вмісту ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), тригліцеридів (ТГ) сироватки та індексу атерогенності (ІА). При цьому прямо визначають ЗХС, ХС ЛПВЩ, ТГ, ХС ЛПНЩ, а ІА є розрахунковими показниками. Для адекватної оцінки ліпідного профілю сироватки дуже важливим є забір крові натще, та останній прийом їжі має бути не менше ніж 12-14 год.

Нормальним рівнем ЗХС є $\leq 5,2$ ммоль/л, високим рівнем вважається $> 6,2$ ммоль/л. Для пацієнтів атеросклерозом – $\leq 4,15$ ммоль/л. Доведено, що у пацієнтів з нормальним рівнем холестерину також може розвиватись атеросклероз. Оптимальним рівнем ХС ЛПВЩ є $\geq 1,3$ ммоль/л. Нормальний рівень ТГ для чоловіків вважається $< 1,8$ ммоль/л, а для жінок $< 1,5$ ммоль/л. Оптимальний рівень ХС ЛПНЩ для загальної популяції – $\leq 2,6$ ммоль/л, для хворих на атеросклеротичну хворобу – $\leq 1,9$ ммоль/л.

Чим менший вміст ЗХС та ХС ЛПНЩ у сироватці, тим менша вірогідність серцево-судинних ускладнень. Результати багатьох досліджень підтверджено, що нижньої межі „норми” для ЗХС та ХС ЛПНЩ не існує.

Індекс атерогенності (ІА) відображає співвідношення ХС ЛПНЩ та ХС ЛПВЩ. Його визначають за формулою: $IA = (ЗХС - ХС ЛПВЩ) / ХС ЛПВЩ$. У нормі він $\leq 3,0$. Якщо індекс атерогенності більше > 3 , то це свідчить про високий ризик розвитку атеросклерозу.

С-реактивний білок - виробляється шляхом стимуляції інтерлейкіну-6, інтерлейкіну 1β та фактора некрозу пухлин у печінці. При пошкодженні тканини активується система запальної відповіді і макрофаги накопичуються в пошкодженій тканині, вивільняючи велику кількість інтерлейкіну-6 і фактора некрозу пухлин, стимулюючи печінку до синтезу великої кількості С-реактивного білка. Рівень С-реактивного білка часто надає корисну інформацію для діагностики, лікування і моніторингу пацієнтів з атеросклерозом, а також може надавати інформацію про різноманітні стимулюючі фактори і підтверджувати реакцію пацієнта на різні подразники. факторів і може підтвердити реакцію пацієнта на різні подразники. Таким чином, С-реактивний білок є показником схильності до запалення, а виникнення і прогресування атеросклерозу безпосередньо пов'язане з ризиком розвитку атеросклеротичних показників [18].

Інтерлейкін-6 є частиною вродженої та адаптивної імунної системи і є багатогранним цитокіном, який відіграє важливу роль у регуляції гострофазових реакцій та хронічного запалення. Доведено, що рівень

інтерлейкіну-6 значно підвищується у випадках розриву бляшок, а генетичний інтерлейкін-6 може також збільшувати утворення атеросклеротичних бляшок, пов'язане з дієтою. Таким чином, інтерлейкін-6 може бути прогностичним маркером вразливості до атеросклеротичних бляшок.

Молекули адгезії відіграють важливу роль у формуванні атеросклеротичних бляшок. Це білки, які забезпечують контакт та адгезію між клітинами та позаклітинним матриксом. Вони беруть участь у розпізнаванні, активації, сигналізації, проліферації, диференціації та метастазуванні клітин, опосередковуючи взаємодію з відповідними лігандами. В атеросклерозі беруть участь три типи молекул адгезії: ендотеліальні селектини (E-селектини), тромбоцитарні селектини (P-селектини) та лейкоцитарні селектини (L-селектини).

P-селектини відіграють важливу роль у процесі атеросклерозу і беруть участь в активації лейкоцитів, коагуляції та адгезії, а також у зв'язуванні з ендотеліальними клітинами через ліганд-лігандну взаємодію. Клінічні дослідження показали, що рівень експресії P-селектину позитивно корелює зі ступенем атеросклеротичного ураження і наявністю бляшок [10].

Таким чином, різні запальні клітини і фактори запалення відіграють важливу роль у розвитку атеросклерозу; виявлення біомаркерів запалення, таких як С-реактивний білок і молекули адгезії, такі як інтерлейкін-6 і молекули адгезії, може стати ефективним інструментом для діагностики атеросклерозу і серцево-судинних захворювань.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріали дослідження

Для досягнення мети дослідження та для виконання його завдань робота виконувалась в декілька етапів. На першому етапі в дослідження було включено 40 пацієнтів у віці від 40 до 84 років (середній вік 61,3 роки, серед них 15 чоловіків та 25 жінок) з різними формами атеросклерозу, що перебували на лікуванні в кардіологічному відділенні Сєвєродонецької міської багатопрофільної лікарні у 2023 році.

Другий етап включав в себе збір даних про супутні захворювання пацієнтів, та оцінка стану ліпідтранспортної системи протягом всього курсу лікування. На даному етапі було виявлено, що 92,5 % атеросклеротична хвороба поєднується з гіпертонічною хворобою серця, у 7,5 % у поєднанні зі стенокардією, а у 7,5 % в поєднанні із цукровим діабетом.

Об'єктом дослідження була венозна кров, взята з ліктьової вени за допомогою двосторонньої голки, голкотримача та вакуумної пробірки з активатором згортання крові. Сироватку крові отримали шляхом центрифугування крові протягом 15 хвилин при 3500 об./хв при температурі 22°C.

2.2 Біохімічні методи дослідження

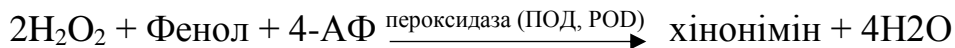
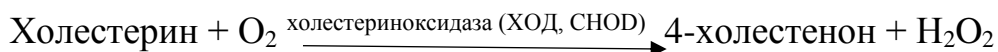
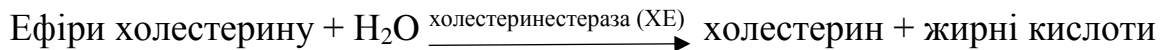
2.2.1. Дослідження рівня холестеролу.

Вміст холестеролу в сироватці крові визначали ферментативним методом за Клімовим (1999). Дослідження проводили на напівавтоматичному аналізаторі LabAnalyt-880 (Китай) з використання набору реагентів "Холестерин СпЛ" (Україна). До набору входить Реагент 1, який складається з PIPES рН 6.9 - 90 mmol/l (ммоль/л); фенол - 26 mmol/l (ммоль/л); ХЕ - 1000

U/l (Од/л); ХО - 300 U/l (Од/л), пероксидаза - 650 U/l (Од/л); 4-амінофеназон – 0.4 mmol/l (ммоль/л).

До пластикової одноразової пробірки додали 1,0 мл Реагенту 1 та 0,01 мл сироватки крові, перемішали та інкубували при 10 хв. при 15-25°C.

Принцип реакції, холестерол утворює кольоровий комплекс, відповідно наступним реакціям:



Після інкубації помістили досліджуваний зразок в вимірювальну кювету аналізатора, та провели вимірювання оптичної щільності, інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації холестеролу в сироватці крові.

Значення холестеролу визначили в ммоль/л. Для даного набору нормальними показниками є рівень холестеролу < 5.2 ммоль/л.

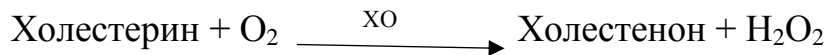
2.2.2. Дослідження рівня ліпопротеїдів високої щільності

Вміст ліпопротеїдів високої щільності проводили прямим визначенням, який не вимагає будь-якої попередньої обробки. Дослідження проводили на напівавтоматичному аналізаторі LabAnalyt-880 (Китай) з використання набору реагентів “Холестерин ЛПВЩ СпЛ” (Україна). До набору входить Реагент 1 та Реагент 2. Реагент 1 складається з Буфер: N, N-біс (2-гідроксиетил)-2-аміноетансульфо кислота - 100 mmol/l (ммоль/л); HDAOS - 0.7 mmol/l (ммоль/л); холестеринестераза ≥ 800 U/l (Од/л); холестериноксидаза ≥ 500 U/l (Од/л); каталаза ≥ 8300 KU/l (КОд/л); оксидаза аскорбінової кислоти ≥ 3000 U/l (Од/л). Реагент 2 складається з Буфер: N, N-біс (2-гідроксиетил) -2-аміноетансульфо кислота 100 mmol/l (ммоль/л); 4-аміноантипирин (4-АА) - 4 mmol/l (ммоль/л); пероксидаза ≥ 30500 U/l (Од/л).

Аналіз проводиться в два етапи: ферментативний гідроліз та окислення (реакція Триндера). В пластикову одноразову пробірку додається 0,3 мл. Реагенту 1 та 0,003 мл. сироватки крові інкубується 5 хв. при 37°C в термостаті.

Після інкубації додається 0,1 мл. реагенту 1 та інкубується 5 хв. при 37°C в термостаті. Принцип реакцій:

1. Гідроліз ефірів холестерину за допомогою холестеролестерази.



2. Окислення 4-аміноантипірину під дією перекису водню та пероксидази з утворенням індикатору хіноніміму.



Після інкубації помістили досліджуваний зразок в вимірювальну кювету аналізатора, та провели вимірювання оптичної щільності, інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації ЛПВЩ в сироватці крові.

Значення ЛПВЩ визначили в ммоль/л. Для даного набору нормальними показниками ЛПВЩ для жінок є >1.554 ммоль/л, а для чоловіків > 1,295 ммоль/л.

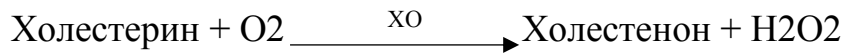
2.2.3. Дослідження рівня ліпопротеїдів низької щільності

Вміст ліпопротеїдів низької щільності проводили прямим визначенням, який не вимагає будь-якої попередньої обробки. Дослідження проводили на напівавтоматичному аналізаторі LabAnalyt-880 (Китай) з використання набору реагентів “Холестерин ЛПНЩ СпЛ” (Україна). До набору входить Реагент 1 та Реагент 2. Реагент 1 складається з Буфер: PIPES - 50 mmol/l (ммоль/л); холестеринестераза ≥ 600 U/l (Од/л); холестериноксидаза ≥ 500 U/l (Од/л); каталаза ≥ 600 U/l (Од/л); N-етил-N-(2-гідрокси-3-сульфопропіл)-3-метилаланін (TOOS) - 2 mmol/l (ммоль/л). Реагент 2 складається з Буфер: PIPES - 50 mmol/l (ммоль/л); 4-аміноантипурин (4-АА) - 4 mmol/l (ммоль/л); пероксидаза ≥ 4000 U/l (Од/л).

Аналіз проводився в два етапи: ферментативний гідроліз та окислення (реакція Триндера). В пластикову одноразову пробірку додається 0,3 мл. Реагенту 1 та 0,004 мл. сироватки крові інкубується 5 хв. при 37°C в термостаті.

Після інкубації додається 0,1 мл. реагенту 1 та інкубується 5 хв. при 37°C в термостаті. Принцип реакції:

1. Гідроліз ефірів холестерину за допомогою холестеролестерази.



2. Окислення 4-аміноантипірину під дією перекису водню та пероксидази з утворенням індикатора хіноніміму.



Після інкубації помістили досліджуваний зразок в вимірювальну кювету аналізатора, та провели вимірювання оптичної щільності, інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації ЛПНЩ в сироватці крові.

Значення ЛПНЩ визначили в ммоль/л. Для даного набору нормальними показниками є рівень ЛПНЩ < 2,59 ммоль/л.

2.2.4. Дослідження рівня тригліцеридів.

Концентрацію тригліцеридів в сироватці крові визначали ферментативним методом. Дослідження проводили на напівавтоматичному аналізаторі LabAnalyt-880 (Китай) з використання набору реагентів “Тригліцериди СпЛ” (Україна). До набору входить Реагент 1, який складається з GOOD pH 6.3 -50 mmol/l (ммоль/л); р-хлорофенол -2 mmol/l (ммоль/л); ЛПЛ -150000 U/l (Од/л); гліцеролкіназа - 500 U/l (Од/л); гліцерол-3-оксидаза - 3500 U/l (Од/л); 4-АФ - 0.1 mmol/l (ммоль/л); АТФ - 0.1 mmol/l (ммоль/л).

До пластикової одноразової пробірки додали 1,0 мл Реагенту 1 та 0,01 мл сироватки крові, перемішали та інкубували при 10 хв. при 15-25°C.

Принцип методу: при інкубації зразка тригліцеридів з ліпопротеїнліпазою (ЛПЛ) відбувається реакція з утворенням вільного гліцерину та вільних жирних кислот. Гліцерин та АТФ, в присутності гліцеролкінази перетворюються в гліцерин-3-фосфат (ГЗФ) і аденозин-5-дифосфат (АДФ). Гліцерин-3-фосфат (ГЗФ) потім окислюється в присутності гліцеринфосфатдегідрогенази (ГФД, GPO) в дегідроксиацетонфосфат (ДАФ) і

пероксид водню (H₂O₂). В останній реакції, перекис водню (H₂O₂) реагує з 4-амінофеназоном (4-АФ) і р-хлорфенолом в присутності пероксидази (ПОД, POD) з утворенням забарвленого продукту (червоного кольору).

Після інкубації помістили досліджуваний зразок в вимірювальну кювету аналізатора, та провели вимірювання оптичної щільності, інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації триліцеридів в сироватці крові.

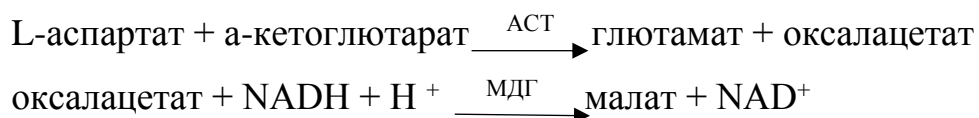
Значення тригліцеридів визначили в ммоль/л. Нормальний рівень тригліцеридів в сироватці для даного набору: чоловіки 0.45 – 1.8 ммоль/л, жінки 0.4 – 1.5 ммоль/л.

2.2.5. Визначення активності аспаратамінотрансферази.

Визначення активності аспаратамінотрансферази (АСТ) методом трис-буфер без піридоксальфосфату (IFCC). Дослідження проводили на напівавтоматичному аналізаторі LabAnalyt-880 (Китай) з використання набору реагентів “АСТ-кін. СпЛ” (Україна). До складу набору входить Реагент 1 та Реагент 2. Реагент 1 складається з буферу: трис рН 7.8 - 80 mmol/l (ммоль/л); ЛДГ - 800 U/l (Од/л); МДГ - 600 U/l (Од/л); L-аспартат - 200 mmol/l (ммоль/л). Реагент 2 складається з субстрату: NADH – 0.18 mmol/l (ммоль/л); а-кетоглутарат - 15 mmol/l (ммоль/л).

Для проведення дослідження потрібно приготувати робочий розчин. До пластикової одноразової пробірки внести 0,8 мл. Реагенту 1 та 0,2 мл. Реагенту 2. До робочого розчину додати 0,1 мл сироватки крові та одразу помісти до вимірювальної кювети.

Принцип методу: під дією ферменту АСТ в результаті переамінування відбувається перенос аміногрупи з аспартату на α-кетоглутарат. Утворений в даній реакції оксалоацетат при участі ферменту малатдегідрогенази (МДГ) і коферменту НАДН₂ перетворюється на малат.



Швидкість окислення НАДН₂ в ході другої реакції визначається по зменшенню оптичної щільності реакційного середовища при 340 nm (нм) і пропорційна активності АСТ.

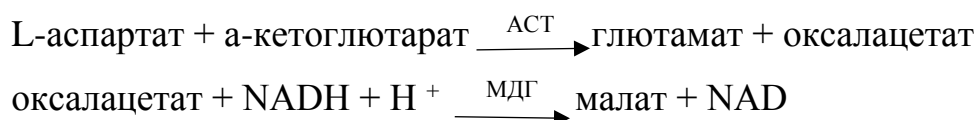
Значення аспаратамінотрансферази визначали в Од/л. Нормальними показниками для чоловіків є < 38 Од/л, а для жінок < 31 Од/л.

2.2.6. Визначення активності аланінамінотрансферази.

Активність аланінамінотрансферази (АЛТ) проводили методом трис-буфер без піридоксальфосфату (IFCC). Дослідження проводили на напівавтоматичному аналізаторі LabAnalyt-880 (Китай) з використання набору реагентів “АСТ-кін. СпЛ” (Україна). До складу набору входить Реагент 1 та Реагент 2. Реагент 1 складається з буферу: трис рН 7.8 - 80 mmol/l (ммоль/л); ЛДГ - 800 U/l (Од/л); МДГ - 600 U/l (Од/л); L-аспартат - 200 mmol/l (ммоль/л). Реагент 2 складається з субстрату: NADH – 0.18 mmol/l (ммоль/л); а-кетоглутарат - 15 mmol/l (ммоль/л).

Для проведення дослідження потрібно приготувати робочий розчин. До пластикової одноразової пробірки внести 0,8 мл. Реагенту 1 та 0,2 мл. Реагенту 2. До робочого розчину додати 0,1 мл сироватки крові та одразу помісти до вимірювальної кювети.

Принцип методу: під дією ферменту АЛТ в результаті переамінування відбувається перенос аміногрупи з аланіну на α-кетоглутарат. Утворений в даній реакції піруват за участю ферменту лактатдегідрогенази (ЛДГ) і коферменту НАДН₂ перетворюється в лактат.



Швидкість окислення НАДН₂ в ході другої реакції визначається по зменшенню оптичної щільності реакційного середовища при 340 nm (нм) і пропорційна активності АСТ.

Значення аланінамінотрансферази визначали в Од/л. Нормальними показниками для чоловіків є < 40 Од/л, а для жінок < 32 Од/л.

2.2.7. Розрахунок індексу атерогенності

Індекс атерогенності (ІА) - це розрахунковий показник, що характеризує співвідношення атерогенних фракцій ліпопротеїдів до неатерогенних. Визначається за формулою:

$$IA = (\text{загальний ХС} - \text{ЛПВЩ}) / \text{ЛПВЩ}.$$

Статистичний аналіз результатів здійснювали за допомогою програми “Microsoft Excel 10.0 для Windows” [16,17]. Дані представлені у вигляді середніх значень \pm стандартна похибка середнього ($M \pm m$). Статистична оцінка проводилась за t-критерієм Ст’юдента при рівні значимості 95% ($p \pm 0,05$).

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Протягом 2023 року в клініко-діагностичній лабораторії КНП “Севєродонецька міська багатопрофільна лікарня” проводились дослідження біохімічних показників сироватки крові у пацієнтів різних вікових груп з атеросклеротичною хворобою. До дослідження було включено 40 пацієнтів різних вікових груп. Перша група пацієнти у віці від 40 до 49 років, до неї ввійшло 9 пацієнтів. Друга група пацієнти у віці від 50 до 59 років, до неї ввійшло 9 пацієнтів. Третя група пацієнти у віці від 60 до 69 років до неї ввійшло 11 пацієнтів. Четверта група пацієнти старше 70 років до неї ввійшло 11 пацієнтів.

Були проведені дослідження у три етапи. Першим етапом було дослідження біохімічних показників пацієнтів до проходження курсу лікування. На другому етапі було дослідження біохімічних показників через 4-6 тижнів від початку проходження лікування. На третьому етапі було проведення дослідження біохімічних показників через 6 місяців від початку проходження лікування.

Одним з основних показників в складі ліпідограми – комплексного дослідження ліпідного профілю крові – є вміст триацилгліцеролів (тригліцеридів). Найпоширенішим видом гіперліпідемії та одним з найважливіших факторів кардіоваскулярного ризику є гіпертригліцеридемія. Відсутність специфічних клінічних ознак є причиною того, що основним методом діагностики цього порушення до початку розвитку серцево-судинних ускладнень є аналіз крові на вміст триацилгліцеролів.

Тригліцериди є енергетичним резервом клітини та головним компонентом жирових відкладень. Вони синтезуються в печінці, кишечнику та жировій тканині, поступаючи в організм з їжею. Надлишок тригліцеридів не виводиться з організму, а відкладається у жировій тканині. Тригліцериди, циркулюючи в крові, можуть поглинатися макрофагами, клітинами у складі атеросклеротичних бляшок, що формуються. Це є основним, ключовим

етапом розвитку атеросклерозу. Відомо, що ризик цього захворювання підвищується в осіб, які ведуть малорухливий спосіб життя та мають надмірну вагу тіла.

Аналіз результатів визначення вмісту триацилгліцеролів в крові пацієнтів з атеросклеротичною серцево-судинною хворобою показав, що істотні відхилення від норми зареєстровані у 1ї групи, вік яких складає 40-49 років (рис. 3.1.) Рівень досліджуваного показника у них більше як у півтори рази перевищує верхні межі норми, яка складає 0,7-1,7 ммоль/л.

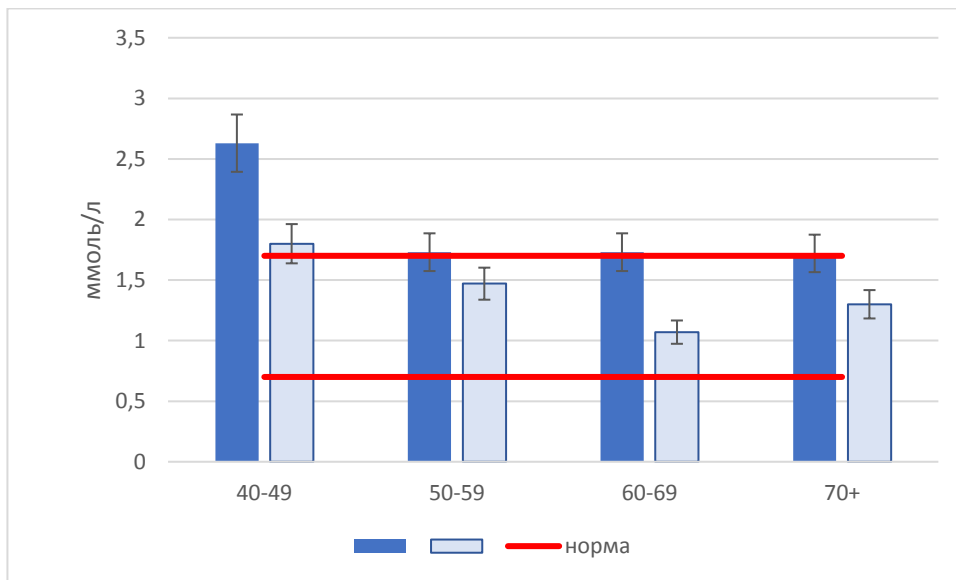


Рис. 3.1. Вміст триацилгліцеролів в крові при атеросклеротичній серцево-судинній хворобі у пацієнтів різних вікових груп

Зауважимо, що для всіх інших дослідних груп рівень тригліцеридів сягає близько 1,7 ммоль/л та знаходиться на верхній межі нормативного значення.

Насьогодні уявлення про те, що атеросклероз - хвороба людей переважно старшого віку, змінюється. Атеросклероз як захворювання ліпідного обміну починається ще в дитячому й підлітковому віці. Фактори ризику в дитячому, підлітковому та дорослому віці включають гіперліпідемію, артеріальну гіпертензію, куріння, ожиріння, розумовий та емоційний стрес, гіподинамію, гормональні порушення.

Схильність до порушень ліпідного обміну, які супроводжуються підвищенням вмісту триацилгліцеролів, є спадковою, проте випадки

вродженої гіпертригліцеридемії зустрічаються вкрай рідко. Найчастіше цей розлад вторинний, зумовлений способом життя (переважно харчуванням), розладами метаболізму при ендокринних порушеннях, захворюваннях нирок та печінки, прийомі деяких медикаментів.

Необхідно відмітити, що проведене лікування позитивно вплинуло на рівень даного показника – вміст триацилгліцеролів досяг нормативних значень у всіх дослідних групах (рис. 3.1.) Комплексна терапія включала перехід на раціональне харчування та підтримання нормальної ваги тіла, відмову від шкідливих звичок та медикаментозне лікування, переважно з використанням статинів та фібрів, а також омега-3-поліненасичених жирних кислот. характеризуються антисклеротичною, антиаритмічною, антифібриляторною, антиоксидантною дією, а також підвищують синтез оксиду азоту.

Ще одним важливим біохімічним показником, що оцінюється при підозрі на атеросклеротичну серцево-судинну хворобу, є вміст загального холестеролу у крові. Холестерол - важливий елемент клітинних мембран, який регулює її проникність, а також бере участь в синтезі жовчних кислот, гормонів, деяких жиророзчинних вітамінів, функціонуванні імунної, нервової та репродуктивної систем.

Аналіз результатів дослідження загального холестеролу в крові хворих на атеросклероз показав збільшення величини даного показника порівняно з нормативним значенням у всіх досліджуваних вікових групах (рис. 3.2.).

Загальний рівень холестеролу в організмі включає холестерол ліпопротеїдів високої, низької і особливо низької щільності, він повинен коливатись в межах 2,8-5,2 ммоль/л. Основною складовою загального рівня холестерину є холестерин ліпопротеїдів низької щільності. Для всіх пацієнтів середнє значення вмісту загального холестеролу перевищувало значення 6,2 ммоль/л, що слід розцінювати як високий ризик. Причому найбільше відхилення ми знову ж таки спостерігали у 1й, наймолодшій з дослідних груп. Так, у пацієнтів у віці від 40 до 49 років рівень холестерину в середньому вищий від нормальних показників на 23,4 %, у пацієнтів у віці від 50 до 59 років

на 16,1 %, у пацієнтів у віці від 60 до 69 років на 16,2 %, у пацієнтів старше 70 років на 18,75 %.

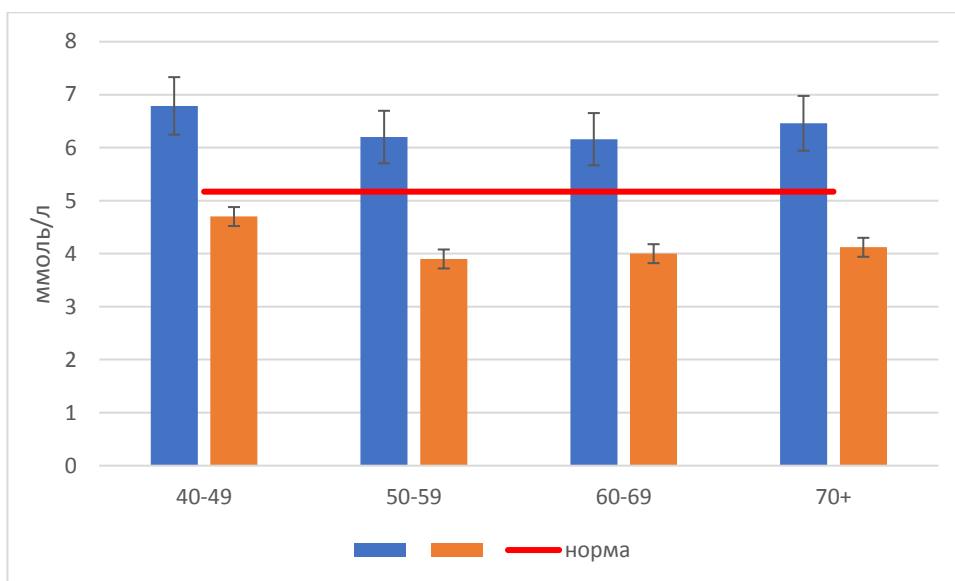


Рис. 3.2. Вміст загального холестеролу в крові при атеросклеротичній серцево-судинній хворобі у пацієнтів різних вікових груп

За даними проведеного дослідження на другому етапі після проведеного лікування встановили, що у пацієнтів у віці від 40 до 49 років рівень холестерину в середньому знизився на 28,7%, у пацієнтів у віці від 50 до 59 років на 24,7 %, у пацієнтів у віці від 60 до 69 років на 32,7%, у пацієнтів старше 70 років на 36,5 %. Спостерігали інтенсивніше зниження вмісту загального холестеролу у пацієнтів старших вікових груп.

Оскільки ліпіди є водонерозчинними, для їх транспортування в крові вони створюють комплекси з білками, які називаються ліпопротеїдами або ліпопротеїнами. Транспорт холестеролу та триацилгліцеролів в крові забезпечують ліпопротеїни. Як відомо, ЛПНЩ – головні переносники холестеролу з класу ліпопротеїнів плазми. В складі ЛПНЩ міститься приблизно дві третини усього холестеролу плазми, переважно у вигляді ефірів холестеролу.

ЛПНЩ – найбільш атерогенні ліпопротеїди, оскільки вони транспортують холестерол до тканин і, проникаючи в судинну стінку, можуть

бути первинним субстратом для атеросклеротичного ушкодження артерій, утворення атеросклеротичних бляшок, які звужують просвіт кровоносних судин та спричиняють тромбоутворення.

Вважається, що показник холестеролу ЛПНЩ більш інформативний щодо ризику атеросклерозу, ніж показник загального холестеролу, оскільки саме ця фракція ліпопротеїнів забезпечує транспорт холестеролу до судин і органів.

На рисунку 3.3. продемонстровані результати визначення вмісту ЛПНЩ за атеросклерозу.

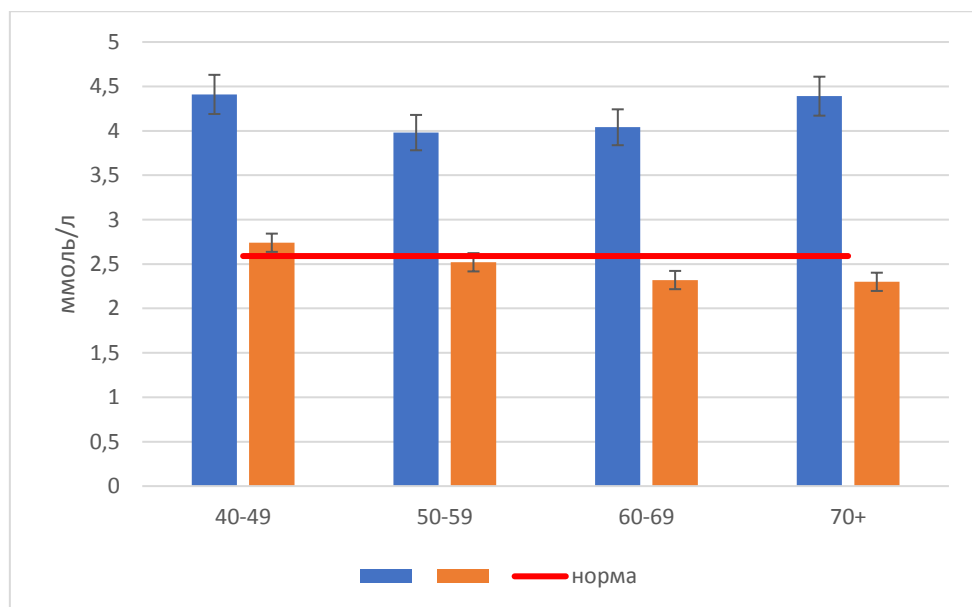


Рис. 3.3. Рівень ЛПНЩ в крові при атеросклеротичній серцево-судинній хворобі у пацієнтів різних вікових груп

За даними проведеного дослідження встановили, що рівень ЛПНЩ є підвищеним у порівнянні з нормою ($< 2,59$ ммоль/л) у всіх досліджуваних вікових групах. Отримані показники є збільшеними в 1,5-1,7 рази. Максимальні рівні ЛПНЩ відмічені у крові пацієнтів 1ї групи (від 40 до 49 років) та 4ї групи (старше 70 років) (рис. 3.2.).

Встановлений підвищений рівень ЛПНЩ може трактуватися як фактор ризику розвитку атеросклерозу, а істотне підвищення даного показника можна

розцінювати як високий ступінь ризику розвитку атеросклеротичної серцево-судинної хвороби та ішемічної хвороби серця.

Через 4-6 тижнів інтенсивної терапії рівень ЛПНЩ знижується до верхніх значень межі норми у всіх досліджуваних групах. Однією з груп лікарських препаратів, які використані в даному випадку, є статини (інгібітори ГМГ-КоА-редуктази), які знижують рівень ліпопротеїнів, багатих на холестерол. Механізмом дії цих препаратів є пригнічення синтезу ензиму ГМГ-КоА-редуктази, яка каталізує проміжні стадії синтезу холестеролу в печінці (перетворення ГМГ-КоА на меволат) та призводить до зниження рівня холестеролу та ЛПНЩ в крові та зростання рівня ЛПВЩ. Застосовували один із препаратів: симвастатин — 20–40 мг/добу; аторвастатин — 10–80 мг/добу; розувастатин — 20–40 мг/добу; пітавастатин — 1–4 мг/добу.

Транспорт холестеролу від клітин периферичних органів, в тому числі кровоносних судин серця, мозку тощо, до печінки, де іде його перетворення та виведення з організму, забезпечується ліпопротеїнами високої щільності. ЛПВЩ дуже дрібні та щільні, їх вміст у плазмі крові через антиатерогенні властивості має дуже важливе значення та обернено пропорційний імовірності швидкого розвитку раннього атеросклерозу.

Показник рівня ліпопротеїнів високої щільності у пацієнтів всіх вікових груп знаходиться на рівні 1,3 ммоль/л (рис. 3.4.) Нормальним діапазоном значень для даного показника є 0,9-1,55 ммоль/л. Таким чином, показник рівня ліпопротеїнів високої щільності у пацієнтів різних вікових груп знаходився в межах норми.

Відомо, що чим нижча концентрація в плазмі ЛПВЩ, тим вищий ризик розвитку атеросклерозу. Прийнято вважати, що рівень до 0,91 ммоль/л ЛПВЩ корелює з високим ризиком, більше 1,56 – з низьким ризиком. У наших результатах рівень ЛПВЩ був близько 1,3 ммоль/л. Зауважимо, що проведене лікування практично не вплинуло на величину цього показника.

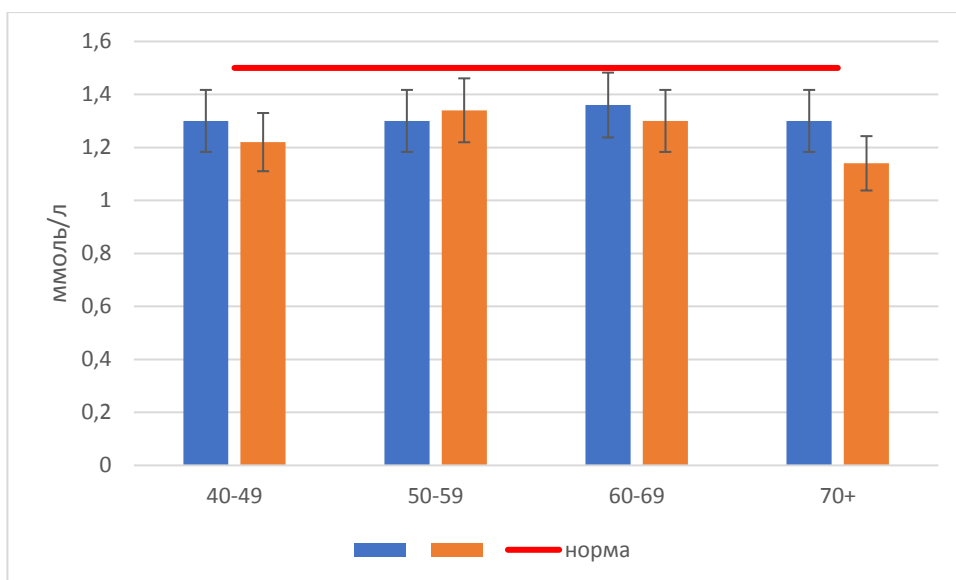


Рис. 3.4. Рівень ЛПВЩ в крові при атеросклеротичній серцево-судинній хворобі у пацієнтів різних вікових груп

Одним з маркерів ризику розвитку атеросклеротичного процесу є індекс атерогенності (ІА) - це розрахунковий показник, що характеризує співвідношення атерогенних фракцій ліпопротеїдів до неатерогенних. Визначається він за формулою: $IA = (\text{загальний ХС} - \text{ЛПВЩ}) / \text{ЛПВЩ}$.

Даний показник, насамперед, дозволяє оцінити ризики атеросклеротичного процесу, а вже при діагностованому атеросклерозі – оцінити ефективність терапії за зменшенням рівня холестеролу ЛПНЩ.

Результати обчислення індексу атерогенності представлені на рис. 3.5.

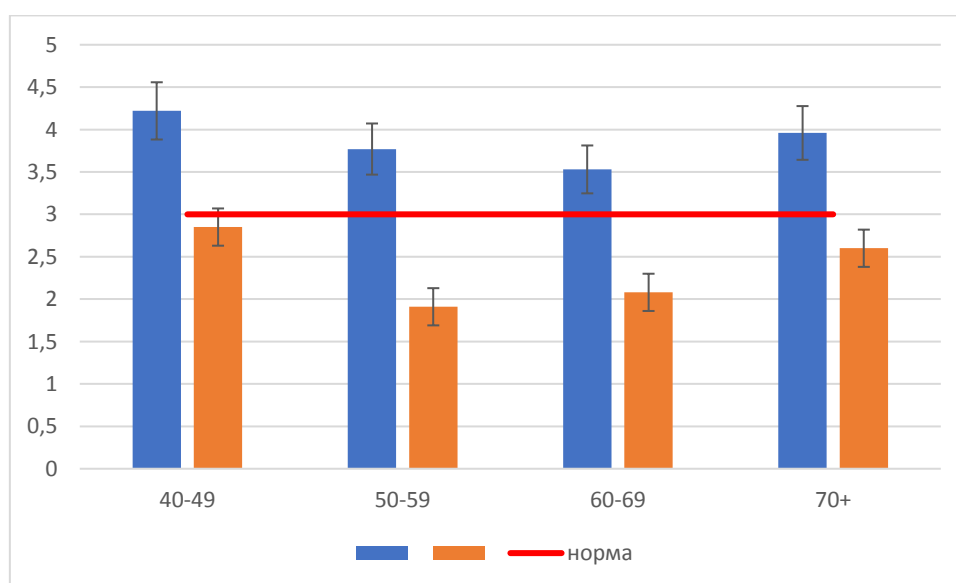


Рис. 3.5. Індекс атерогенності у пацієнтів різних вікових груп

Встановлено, що найвищий індекс атерогенності притаманний 1ій групі (від 40 до 49 років) та 4ій групі (старше 70 років). Значення цього показника у них складало 4,22 та 3,96 відповідно (норма 2- 3). Комплексна гіполіпідемічна терапія призвела до зниження індексу атерогенності у всіх дослідних групах до нормативних значень.

Головна мета гіполіпідемічної терапії - нормалізація ліпідного профілю (зниження рівня холестеролу та рівня ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), тригліцеридів (ТГ) з метою зниження ризику розвитку ускладнень атеросклерозу - ішемічної хвороби серця, інсульту, інфаркту та їх рецидивів, яка обов'язково включає прийом гіполіпідемічних препаратів із групи статинів. Обов'язково перед призначенням статинів необхідно визначити у крові активність амінотрансфераз. Підвищення рівня трансаміназ після відміни статинів може реєструватись навіть протягом кількох тижнів. Через 4–6 тижнів після початку гіполіпідемічної терапії слід повторно провести аналізи.

Результати визначення активності аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази в крові не показали відхилень від норми у всіх досліджуваних групах хворих на атеросклероз (рис. 3.6,3.7.)

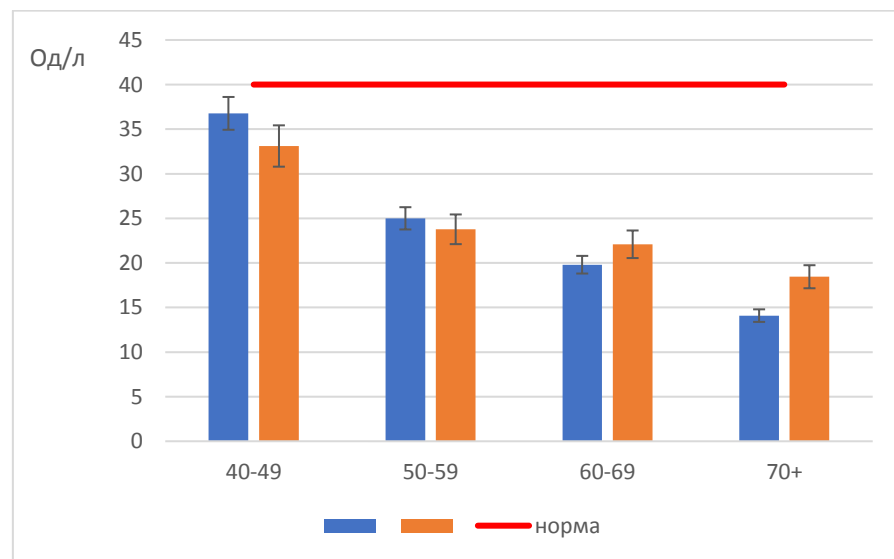


Рис. 3.6. Активність аланінамінотрансферази в сироватці крові при атеросклеротичній серцево-судинній хворобі у пацієнтів різних вікових груп

Слід зауважити, що найвищі показники активності АлАТ в сироватці крові, які в найбільшій мірі наближались до верхньої межі нормативних значень, відмічені в групі пацієнтів 40-49 років та склали 36,8 Од/л. На противагу, найменші показники встановлені у 4й групі (70+) – 14 Од/л.

Стабільні значення активності у всіх вікових групах встановлено для аспартатамінотрансферази (рис. 3.7.)

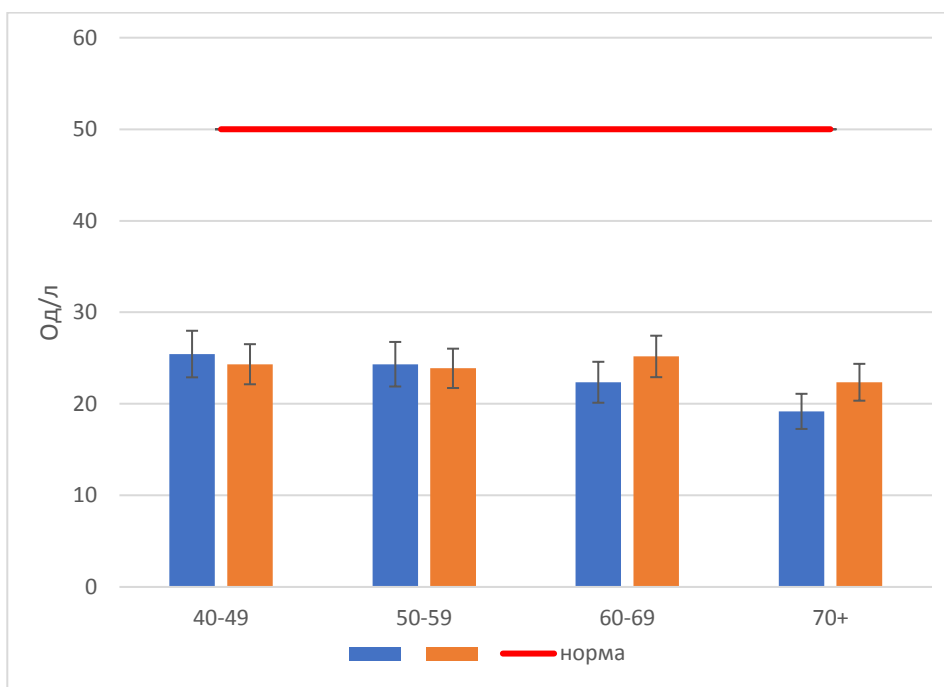


Рис. 3.7. Активність аспартатамінотрансферази в сироватці крові при атеросклеротичній серцево-судинній хворобі у пацієнтів різних вікових груп

Значення активності АсАТ перебували в межах норми як на початку захворювання, так і впродовж терапії, що зумовило можливість досягнути ефекту застосуванням гіполіпідемічних препаратів при атеросклерозі.

ВИСНОВКИ

1. Рівень загального холестеролу та ліпопротеїнів низької щільності в крові збільшений при атеросклерозі у всіх досліджуваних вікових групах. Вміст ЛПНЩ збільшений у порівнянні з нормою у 1,5-1,7 рази.
2. Найвищий рівень триацилгліцеролів, загального холестеролу, ліпопротеїнів низької щільності та значення індексу атерогенності встановлено у пацієнтів віком від 40 до 49 років.
3. Показник рівня ліпопротеїнів високої щільності у пацієнтів всіх вікових груп при атеросклеротичній серцево-судинній хворобі знаходився в межах норми на рівні 1,3 ммоль/л.
4. Комплексна терапія із застосуванням статинів мала гіполіпідемічний ефект та проявилась зниженням рівня триацилгліцеролів, загального холестеролу та ЛПНЩ у всіх досліджуваних вікових групах.