

ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ И СРОКА КРОВОПОТЕРИ НА УРОВЕНЬ ТРИГЛИЦЕРИДОВ, ФОСФОЛИПИДОВ, ОБЩЕГО ХОЛЕСТЕРИНА, ХОЛЕСТЕРИНА В ЛИПОПРОТЕИНАХ

Нестеров М.И.¹, Кривохижина Л.В.¹, Ермолаева Е.Н.¹, Кантюков С.А.¹

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, e-mail: kanc@chelsma.ru

В крови исследовали триглицериды, фосфолипиды, общий холестерин, холестерин в липопротеинах с расчетом коэффициента атерогенности при острой кровопотере разной степени тяжести на 24-й, 48-й, 72-й и 120-й час постгеморрагического периода. На основе дисперсионного анализа определяли влияние степени, срока кровопотери, а также их сочетанного действия. Острую массивную кровопотерю моделировали по методике Луценко (1961) в объеме 0,5%, 1%, 2% от массы тела. При кровопотере любой степени тяжести в постгеморрагическом периоде развивается дислипидемия. Любая кровопотеря обладает проатерогенными свойствами. Динамика коэффициента атерогенности (КА) в постгеморрагический период не соответствует динамике изменений ОХ в крови. Проявления дислипидемии зависят от степени, срока кровопотери, сочетания их действия, вида липидов. Наибольшее влияние на изменение липидного профиля крови оказывает суммарное действие организованных факторов (степень, срок кровопотери, их сочетанное действие): для фосфолипидов 59%, для общего холестерина 55%, для триглицеридов 32%. Из них в большей мере влияют: на фосфолипиды степень кровопотери — 44%; на общий холестерин в равной мере степень и срок кровопотери — по 16%, их сочетанное действие составляет 24%; на триглицериды сочетанное действие степени и срока кровопотери составляет 22%.

Ключевые слова: критическое состояние, кровопотеря, липидный обмен

THE INFLUENCE DURATION AND DEGREE BLOOD LOSS ON TRIGLYCERIDES, PHOSPHOLIPIDS, TOTAL CHOLESTEROL, CHOLESTEROL IN LIPOPROTEINS

Nesterov M.I.¹, Krivohizhina L.V.¹, Ermolaeva E.N.¹, Kantyukov S.A.¹

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «South-Ural State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Chelyabinsk, e-mail: kanc@chelsma.ru

The blood was investigated: triglycerides, phospholipids, total cholesterol, cholesterol in lipoproteins and atherogenic factor in acute hemorrhage of varying severity by 24, 48, 72 and 120 hours post-hemorrhagic period. On the basis of analysis of variance determined the effect of degree, the term of blood loss and their combined action. The massive acute blood loss modeled by the method Lutsenko (1961) in the amount of 0,5%, 1%, 2% of body weight. When hemorrhage of any severity in posthemorrhagic period develop dyslipidemia. Any blood loss has a pro-atherogenic properties. Dynamics atherogenic ratio (KA) to posthemorrhagic period does not match the dynamic changes in blood OX. Manifestations of dyslipidemia depending on the extent of blood loss period, the combination of their actions, the kind of lipids. The greatest impact on the change in blood lipid profile has a cumulative effect of organized factors (the degree of blood loss period, their combined effect) to phospholipids - 59%, for total cholesterol — 55% to 32% triglycerides. From them a greater extent is influenced by the degree of bleeding on phospholipids — 44%; on total cholesterol in equal measure the degree and duration of blood loss — at 16%, their combined effect is 24%; triglycerides combined effect of the degree and duration of blood loss — 22%.

Keywords: critical state, blood loss, lipid metabolism

Современная клиническая классификация кровопотери, используемая в практике, основана на зависимости от объема циркулирующей крови (ОЦК): малая кровопотеря — 5–10%, средняя — от 10% до 30%, большая — от 30% до 40%, массивная — более 40%, смертельная — более 70% ОЦК. Различают несколько стадий острой кровопотери: сосудисто-рефлекторная — первые 24 ч; гидремическая — вторые сутки; костномозговая — с 5-х

суток постгеморрагического периода. Следствием острой кровопотери является гипоксия смешанного характера, сочетающая наличие анемии, гиповолемию, нарушение циркуляции и формирование бионергетической гипоксии. При кровопотере особенности метаболизма липидов не выдвигаются на первый план, хотя их роль в механизмах адаптации, компенсации и повреждения чрезвычайно велика. Идея о том, что клетки в стрессовой ситуации, такой как кислородное голодание, способны временно реагировать анаболическими процессами, в частности усилением биосинтеза липидов, является новой. По-видимому, это способ сохранения питательных веществ в организме для последующего использования в качестве источника энергии. Показано, что гипоксия стимулирует хранение и ингибирует катаболизм липидов в культивируемых кардиомиоцитах и макрофагах [3]. Одним из основных изменений в ответ на гипоксию является HIF – опосредованное перепрограммирование клеточного метаболизма. Индуцированная активация передачи сигналов HIF в гепатоцитах приводит к изменению липидного обмена и увеличивает в них накопление липидов [5, 7]. К сожалению, имеется малое количество работ по влиянию степени и срока кровопотери на изменения липидного обмена и их взаимодействие в динамике патологического процесса.

Цель исследования

Определить влияние степени и срока кровопотери на уровень триглицеридов, фосфолипидов, общего холестерина, холестерина в липопротеинах.

Материалы и методы

Исследование проведено на 98 лабораторных крысах массой 150–250 г. Острую кровопотерю осуществляли путем одномоментного забора крови по методике Луценко (1961) в объеме 0,5% от массы тела (10% ОЦК); 1% от массы тела (20% ОЦК); 2% от массы тела (40% ОЦК). Согласно стадийности постгеморрагического периода были определены сроки исследования — 24-й, 48-й, 72-й и 120-й час. В крови определяли: триацилглицериды (энзиматический колориметрический метод, наборы реагентов Ольвекс-диагностикум, Россия), общий холестерин (энзиматический колориметрический метод, наборы реагентов фирмы Ольвекс-диагностикум, Россия); холестерин в липопротеидах высокой плотности (энзиматический колориметрический метод, наборы реагентов Ольвекс-диагностикум, Россия); фосфолипиды (прямой ферментативный колориметрический метод, наборы реагентов фирмы Sentinel, Италия); холестерин в липопротеидах очень низкой плотности и липопротеидах низкой плотности рассчитывали по формуле Friedewald W.T. Расчет индекса атерогенности (ИА) проводили по формуле А.И. Климова.

Математические расчеты выполнены с помощью программного обеспечения StatSoft Inc. – Statistica for Windows, версия 8.0 и «мастер диаграмм» Microsoft Excel 2007, пакет

приложений AgCStat [1]. Для определения достоверности различий средних величин применяли критерий непараметрической статистики Манна—Уитни (U). Достоверность рассчитывалась с поправкой Бонферрони.

Результаты исследования и их обсуждение

Следует отметить неоднозначное изменение уровня триглицеридов (ТГ) в крови относительно контроля в постгеморрагический период. Снижение ТГ отмечается лишь при 0,5%-ной кровопотере на 48-й час; при 1%-ной (24-й, 72-й час) и 2%-ной (72-й час) кровопотере их содержание в крови возрастает. Сравнительный анализ динамики ТГ в сыворотке крови при кровопотерях различной степени тяжести показал, что направленность изменений при 0,5%-ной и 1%-ной кровопотерях в первые 24–48 ч одинакова, но отлична при 2%-ной кровопотере. После 0,5%-ной и 1%-ной кровопотери на 48-й час ТГ достоверно снижаются относительно 24-го часа, а при 2%-ной кровопотере имеется тенденция к их повышению. Самый низкий уровень ТГ отмечен на 48-й час постгеморрагического периода при 0,5%-ной кровопотере, что может быть связано с усилением их использования в стрессовой ситуации на фоне слабо представленного гипоксического компонента. При 2%-ной кровопотере на 48-й час отмечаются самый высокий уровень ТГ относительно иных видов кровопотерь, возможно, из-за ограничения их использования в условиях выраженной гипоксии, так как преимущественным источником для энергообеспечения клеток становится глюкоза за счет активации ключевого фермента гликолиза – фосфофруктокиназы (ФФК), и, соответственно, возрастание пропускной способности реакции анаэробного гликолиза. После 48 ч кровопотери динамика изменений ТГ примерно одинакова (рис. 1). Возрастание ТГ в крови на 72-й ч независимо от объема потерянной крови может быть следствием нарастания их синтеза. Ряд авторов показал наличие связи между HIF-1 α , Липин-1 и особенностью метаболического ответа клеток на гипоксию, которая приводит к возрастанию синтеза триглицеридов и формированию липидных капель в клетках [6].

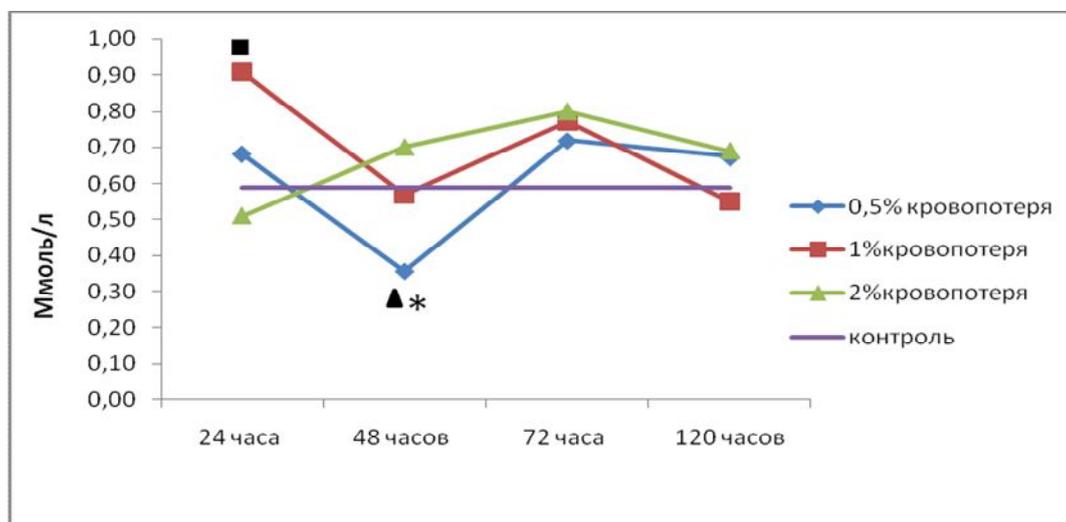


Рис. 1. Триглицериды при 0,5%-ной, 1%-ной и 2%-ной кровопотере

* — достоверность группы 0,5%-ной кровопотери к 1%-ной кровопотере; ▲ — достоверность группы 0,5%-ной кровопотери к 2%-ной кровопотере; ■ — достоверность группы 1%-ной кровопотери к 2%-ной кровопотере; достоверность относительно контроля указана в тексте

В клинической практике при коррекции постгеморрагических ситуаций, в том числе и метаболических, следует учитывать не только степень, но и срок кровопотери, а также их сочетанное действие. Дисперсионный анализ по оценке силы и достоверности влияния степени кровопотери, срока постгеморрагического периода на уровень ТГ показал, что наибольшее влияние оказывает сумма организованных факторов (степень кровопотери, срок кровопотери и их взаимодействие), в среднем — 32%; из них наибольшая сила влияния принадлежит сочетанному действию (взаимодействию) массы и срока кровопотери — 22%; влияние срока постгеморрагического периода — 8%.

Характер изменений фосфолипидов (ФЛ) зависит от степени кровопотери. При кровопотере в объеме 0,5% от массы тела ФЛ достоверно снижены на 24-й, 72-й и 120-й часы относительно контрольных значений; наоборот, при других степенях кровопотери ФЛ постепенно возрастают и приобретают достоверные отличия от контроля: 1% на 72-й час; 2% на 48-й, 72-й час. Наиболее яркие различия в содержании ФЛ и характере их изменений представлены на 72-й ч — при 0,5%-ной кровопотере зарегистрированы самые низкие значения ФЛ относительно контроля и иных видов кровопотерь, при 1%-ной и 2%-ной — самые высокие значения как относительно 0,5%-ной кровопотери, так и относительно контроля (рис. 2).

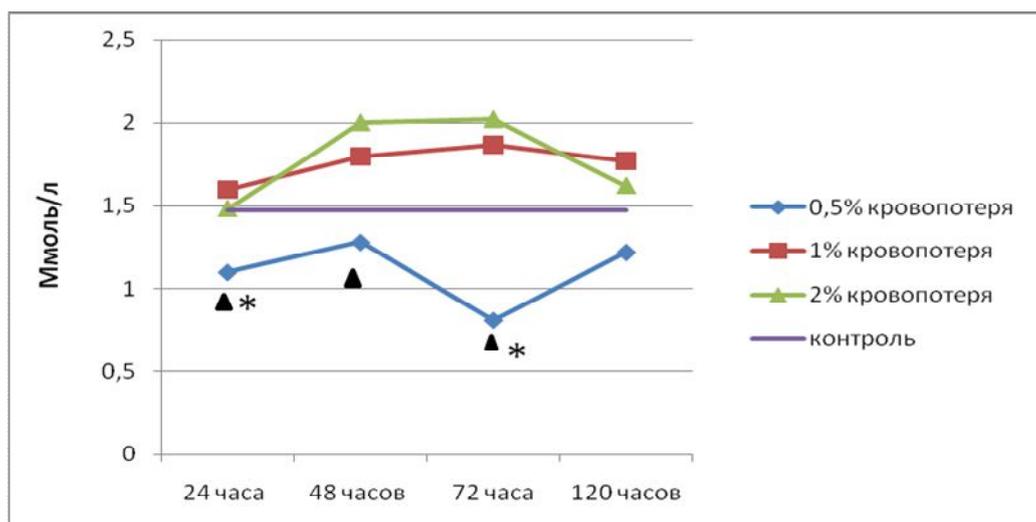


Рис. 2. Изменение уровня фосфолипидов при 0,5%, 1% и 2% кровопотере

* — достоверность группы 0,5%-ной кровопотери к 1%-ной кровопотере; ▲ — достоверность группы 0,5%-ной кровопотери к 2%-ной кровопотере; достоверность относительно контроля указана в тексте

С одной стороны, динамика изменения ФЛ в крови может быть связана с интенсивностью свободнорадикальных процессов в организме, с другой — с адекватной реакцией увеличения их синтеза, направленной на восстановление утраченных клеток крови. Дисперсионный анализ показал, что наибольшее влияние оказывает сумма организованных факторов – 59%; из них основным фактором является степень кровопотери и составляет в среднем 44%; на значение срока кровопотери приходится 5,2% , на сочетание их действия — 9%.

Степень кровопотери влияет на количественные показатели общего холестерина (ОХ) в постгеморрагический период относительно контроля: при 0,5% ОХ достоверно ниже лишь на 72-й час; при 1%-ной кровопотере ОХ достоверно выше на 24-й час и далее достоверно ниже на 72–120-й час; при 2%-ной кровопотере отмечено его достоверное повышение на 24-й и 120-й час. Следует отметить, что уровень ОХ на 24-й час при 0,5%-ной кровопотере ниже, чем при 1%-ной и 2%-ной (рис. 3). Различия в динамике количественных изменений ОХ в зависимости от массы потерянной крови наиболее ярко проявляются на 72–120-й час: при 0,5%-ной и 1%-ной кровопотере уровень ОХ достигает или приближается к контрольным значениям, а при 2%-ной кровопотере он продолжает возрастать относительно контроля и иных степеней кровопотери. Снижение общего холестерина в сыворотке крови на фоне гипоксии отмечено у пациентов с гиперхолестеринемией, подвергавшихся периодической гипоксии в барокамере [2]. В работах по влиянию гипоксии на биосинтез холестерина в клеточных культурах гепатоцитов доказано, что гипоксия подавляет экспрессию HMG-CoA-редуктазы, следствием чего является ограничение биосинтеза холестерина, и это рассматривается как защитный механизм [8]. Но в то же время ряд авторов отмечает, что гипоксия способствует накоплению холестерина главным образом в качестве сложного эфира, в гладкомышечных клетках, культивируемых в гиперлипидемической сыворотке [5].

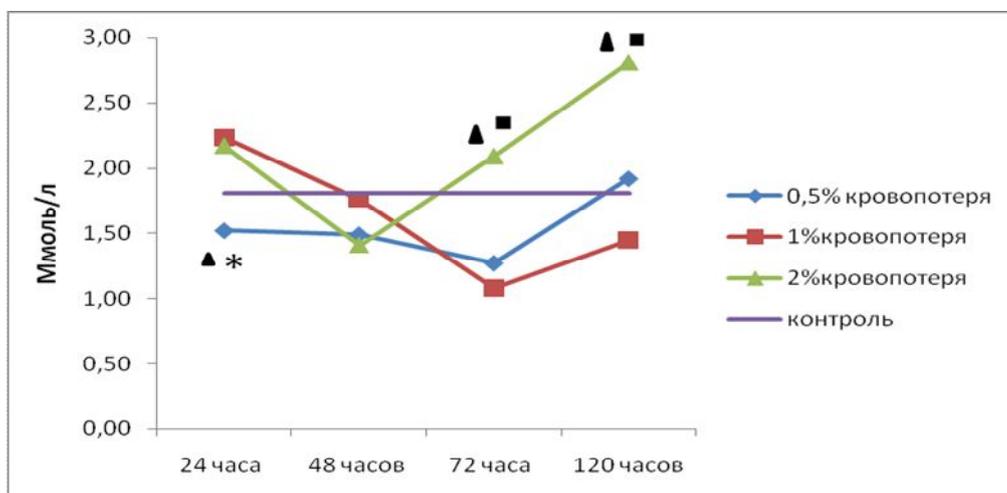


Рис. 3. Общйй холестерин при 0,5%-ной, 1%-ной и 2%-ной кровопотере

* — достоверность группы 0,5%-ной кровопотери к 1%-ной кровопотере; ▲ — достоверность группы 0,5%-ной кровопотери к 2%-ной кровопотере; ■ — достоверность группы 1%-ной кровопотери к 2%-ной кровопотере; достоверность относительно контроля указана в тексте

Дисперсионный анализ показал, что на динамику и количественное представительство ОХ в крови наибольшее влияние оказала сумма организованных факторов и составляет 55,4%, влияние срока кровопотери — 16%, степени кровопотери — 16%, их сочетанное действие — 24%.

Динамика коэффициента атерогенности (КА) не соответствует динамике изменений ОХ в крови. Наиболее значимо КА изменялся относительно контроля при 0,5%-ной и 1%-ной кровопотере: достоверно увеличивался на 24-й час, снижался на 48-й час, вновь возрастал на 72-й час и оставался выше контрольных значений на 120-й час при 0,5%-ной кровопотере. При 2%-ной кровопотере КА достоверно снижался на 48-й час и возрастал к 120-му часу. Отмечается однонаправленное изменение КА при 0,5%-ной и 1%-ной кровопотере, он выше относительно контроля и 2%-ной кровопотери на 48–72-й час. При 2%-ной кровопотере на фоне роста ОХ коэффициент атерогенности возрастает лишь на 120-й ч, в остальные сроки исследования либо сопоставим, либо ниже контрольных значений (рис. 4).

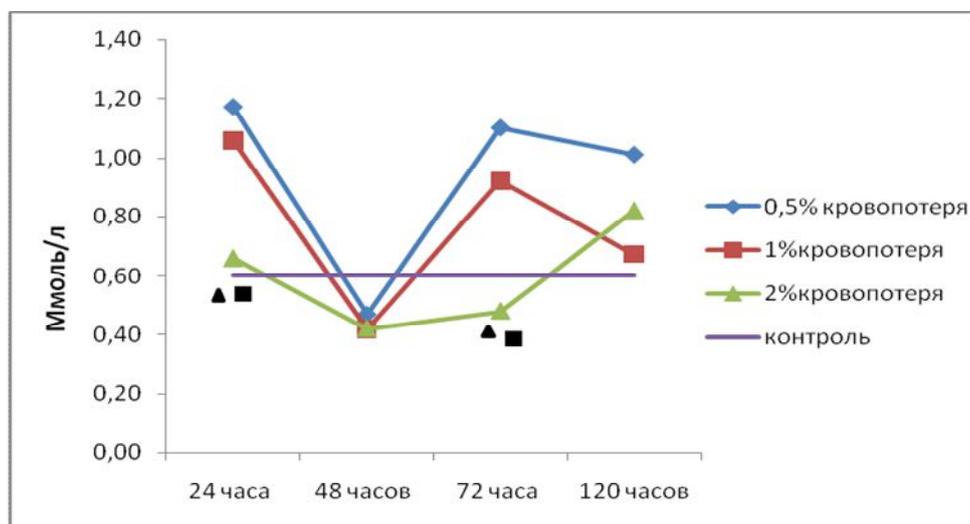


Рис. 4. Динамика коэффициента атерогенности при 0,5%-ной; 1%-ной и 2%-ной кровопотере

▲ — достоверность группы 0,5%-ной кровопотери к 2%-ной кровопотере; ■ — достоверность группы 1%-ной кровопотери к 2%-ной кровопотере; достоверность относительно контроля указана в тексте

Изменения КА обусловлены перераспределением холестерина в липопротеинах (рис. 5). При 0,5%-ной кровопотере рост КА на 24-й, 72-й и 120-й час обусловлен достоверным снижением Х-ЛПВП, при 1%-ной кровопотере КА на 24-й ч и 72-й ч возрастает главным образом за счет достоверного перераспределения в сторону атерогенных липопротеинов.

При 2%-ной кровопотере КА до 120-го часа снижен или нормален за счет достоверного возрастания Х-ЛПВП, что может быть расценено как компенсаторная реакция в ответ на увеличение ОХ. На 120-й час коэффициент возрастает за счет увеличения Х-ЛПОНП и Х-ЛПНП при снижении Х-ЛПВП.

Заключение

Итак, при кровопотере любой степени тяжести в постгеморрагическом периоде развивается дислипидемия. Любая кровопотеря обладает проатерогенными свойствами. Наибольшее влияние на изменение липидного профиля крови оказывает сумма организованных факторов (таких как степень кровопотери, срок кровопотери и их сочетанное действие): для фосфолипидов — 59%, для общего холестерина — 55%, для триглицеридов — 32%. Из них на фосфолипиды в большей мере влияет степень кровопотери и составляет 44%, на общий холестерин в равной мере влияют степень и срок кровопотери — по 16%, на триглицериды влияет сочетание степени и срока кровопотери — 22%.

Список литературы

1. Гончар-Зайкин П.П. Надстройка к Excel для статистической оценки и анализа результатов полевых и лабораторных опытов / П.П. Гончар-Зайкин, В.Г. Чертов // Рациональное природопользование и сельскохозяйственное производство в южных регионах Российской Федерации. – М.: Современные тетради. – 2003. – С. 559–564.
2. Aleshin I.A. The nondrug treatment of hypertension patients by their adaptation to periodic hypoxia in a barochamber / I.A. Aleshin, I.I. Kots, V.P. Tverdokhlib [et al.] // Ter. Arkh. – 1993. – № 65. – P. 23–29.
3. Bostrom P. Hypoxia converts human macrophages into triglyceride-loaded foam cells / P. Boström, B. Magnusson, P.A. Svensson [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2006. – Vol. 26. – P. 1871–1876.
4. Filipe P. Plasma lipoproteins as mediators of the oxidative stress induced by UV light in human skin: a review of biochemical and biophysical studies on mechanisms of apolipoprotein alteration, lipid peroxidation, and associated skin cell responses / P. Filipe, P. Morlière, J.N. Silva [et al.] // Oxid Med Cell Longev. – 2013. – Vol. 2013. – P. 285.
5. Kim, W.Y. Failure to prolyl hydroxylate hypoxia-inducible factor alpha phenocopies VHL inactivation in vivo / W.Y. Kim, M. Safran, M.R. Buckley [et al.] // EMBO J. – 2006. – № 25. – P. 4650–4662.
6. Mylonis, I. Hypoxia causes triglyceride accumulation by HIF-1-mediated stimulation of lipin 1 expression / I. Mylonis, H. Sembongi, C. Befani [et al.] // J Cell Sci. – 2012. – Vol. 125. – P. 3485–3493.

7. Rankin E.B. Hypoxia-inducible factor 2 regulates hepatic lipid metabolism / E.B. Rankin, J. Rha, M.A. Selak [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* – 2009. – Vol. 29. – P. 4527–4538.
8. Yonan T. Inhibition of cholesterol biosynthesis under hypoxia / T. Yonan, Qiulin T. // Submitted to the Office of Graduate Studies of Texas A&M University – 2005 – Vol. 1 – P. 1–26.