

НАРУШЕНИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА

I. Клиническая часть

1. Заболевания сердечно-сосудистой системы и факторы риска

Заболевания сердечно-сосудистой системы являются главной причиной смерти в современных развитых промышленных странах и все нарастающей причиной смерти в развивающихся странах.

Самой частой причиной заболеваний сердечно-сосудистой системы являются атеросклероз и его осложнения – прежде всего ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, ишемические цереброваскулярные заболевания, ишемия нижних конечностей.

В развитии атеросклероза и его осложнений принимает участие целый ряд факторов риска, которые определяют на основе долговременных эпидемиологических исследований. К факторам риска, на которые нельзя оказать влияние, относятся такие факторы, как возраст, пол, наследственная предрасположенность, индивидуальная склонность к сердечно-сосудистым заболеваниям.

Влияние можно оказывать на следующие факторы риска липидного обмена: повышенный уровень LDL (липопротеиды низкой плотности) холестерина, общего холестерина, триглицеридов, низкий уровень HDL (липопротеиды высокой плотности) холестерина, а также на артериальную гипертонию, курение, сахарный диабет, тучность, факторы ведущие к тромбообразованию, недостаток физических упражнений, высокое потребление алкоголя.

2. Факторы риска нарушения липидного обмена

К факторам риска относятся:

- общий холестерин
- HDL холестерин
- LDL холестерин
- триглицериды

В соответствии с рекомендацией Ассоциации по атеросклерозу величинами для лечения являются:

СНОЛ < 5 ммоль/л, LDL < 2,5 ммоль/л, HDL > 0,9 ммоль/л, TG < 2,3 ммоль/л

Рекомендуемые методы

- Частота случаев сердечно-сосудистых заболеваний соответствует уровню общего холестерина и возрасту. Разные исследования, однако, показали, что определение только общего холестерина является недостаточным для прогноза риска ишемической болезни сердца у 90% людей (до 20% с уровнем общего холестерина ниже 5,2 ммоль/л страдало ишемической болезнью сердца).
- Определяющими параметрами являются, прежде всего, величины HDL-холестерина, LDL-холестерина и триглицеридов.

- Для упрощения рекомендуется определять отношение общего холестерина/HDL-холестерину, которое является лучшим прогнозом, прежде всего у пожилых пациентов.

С целью определения риска коронарных заболеваний следует сначала исследовать общий холестерин. В случаях, когда уровень общего холестерина превышает 3,8 ммоль/л и отношение общий холестерин/HDL-холестерин превышает 4, следует провести исследование триглицеридов (максимальный уровень 1,7 ммоль/л) и LDL холестерина, чтобы определить, что необходимо лечить – гипертриацилглицеролемию (фибратаы, ниацин) или гиперхолестеринемию (статины).

Величины, указывающие на риск развития атеросклероза:

CHOL-HDL/HDL: женщины <3 ммоль/л, мужчины < 4,2 ммоль/л

LDL/HDL: женщины 2,3 ммоль/л, мужчины < 2,8 ммоль/л

CHOL/HDL: женщины < 4 ммоль/л, мужчины < 4,8 ммоль/л

3. Патогенез атеросклероза

Атеросклероз является медленным, сложным заболеванием, которое начинается в детстве и полностью развивается, в большинстве случаев, в старости. У некоторых людей этот процесс протекает довольно быстро и атеросклероз у них может развиваться уже в третьем десятилетии их жизни.

Первым симптомом патогенеза атеросклероза является повреждение эндотелиальных клеток, выстилающих внутреннюю поверхность сосудистой стенки и активация макрофагов. Макрофаги – главные клетки, принимающие участие в процессе возникновения атеросклероза.

- **Первая фаза атеросклероза:** в стенке артерии наблюдаются так называемые **жировые полосы**, образованные накопленными пенистыми клетками. Пенистые клетки возникают в результате накопления липопротеиновых частиц, преимущественно модифицированных LDL (окисленных и гликированных) и β -VLDL частиц, имеющих внутри макрофагов.
- Пенистые клетки исчезают в процессе постепенного накопления холестерина, а также в результате действия свободных радикалов и образуется **атеросклеротическая бляшка – вторая фаза атеросклероза.**
- **Третья фаза атеросклероза:** образуются **сложные повреждения** за счет обызвествления и кровоизлияния в бляшку, что приводит к дестабилизации атеросклеротической бляшки, ее разрыву и образованию тромба. В приведенной фазе может уже наблюдаться закупорка артерии.

Более просто говоря – главной причиной развития атеросклероза являются модифицированные LDL частицы. Модификацию – окисление и гликирование LDL вызывают все состояния, отличающиеся повышенным образованием свободных радикалов, а также длительная гипергликемия, курение. Курение, представляет серьезный фактор риска развития атеросклероза, способствуя повреждению стенки кровеносных сосудов и нарастанию концентрации фибриногена.

Модификацию LDL можно предотвратить, например, следующими способами:

- Предотвратить процесс гликирования за счет полной компенсации сахарного диабета;
- Предотвратить образование и действие свободных радикалов – не курить, принимать регулярно лекарственные препараты, обладающие противоокислительным действием, а также улучшать экологию окружающей среды;
- Снижать готовность LDL окисляться – предпочитать прием жирных кислот с одной двойной связью (олеиновая кислота), так как ненасыщенные жирные кислоты больше поддаются окислению свободными радикалами.

Значение HDL- холестерина при развитии атеросклероза

Высокий уровень HDL-холестерина является показателем снижения риска развития атеросклероза:

- HDL частицы обеспечивают реверсный транспорт холестерина из клеток в печень;
- HDL частицы препятствуют окислению LDL частиц и заменяют окисленные составляющие LDL собственными – пока не окисленными.

Уровень HDL - холестерина в крови повышается, например, при регулярных физических нагрузках. Этот уровень физиологически выше у женщин.

Примечание: Теория образования атеросклероза в результате инфекции

В последнее время встречается гипотеза, что некоторые инфекционные агенты играют важную роль в этиологии патогенеза атеросклероза. Проведенные исследования показали, что у пациентов с доказанным атеросклерозом, наблюдается повышенная концентрация С-реактивного белка, который принадлежит к белкам острой фазы, концентрация которого в крови резко возрастает в ответ на воспалительные процессы. Найдена прямая корреляция между уровнем СРБ с факторами риска. Например, концентрация СРБ в сыворотке, превышающая 3 мг/л связана с 3 – 4 кратным риском развития инфаркта миокарда или ишемического инсульта. В других теориях предполагают влияние инфекции на стабилизацию атеросклеротической бляшки.

II. Аналитическая часть

Методы определения липидов

Метод определения HDL и LDL холестерина

В результате нарастания значимости определения липидов и важностью их для прогноза сердечно-сосудистых заболеваний, а именно заболеваний коронарных сосудов, наблюдалось быстрое развитие аналитических методов, направленных на определение аналитов липидного комплекса. Результатом проведенных исследований, в настоящее время, являются прямые методы определения HDL и LDL холестерина, которые можно использовать для работы на автоматических анализаторах. Это обеспечит точность и правильность, с

учетом подавления интерференций. В результате процесс наблюдения за пациентами, страдающими гиперлипидемией и их лечения становится дешевле.

Метод определения холестерина

Рекомендуется проводить определение холестерина ферментативным методом. Холестерин выделяют из липопротеинов при помощи растворителей в форме сложных эфиров, которые гидролизуются при участии холестеринэстеразы до холестерина и свободных жирных кислот. Холестерин далее подвергается каталитическому окислению холестериноксидазой с образованием перекиси водорода. В последней фазе реакции перекись водорода при катализе пероксидазой реагирует с 4-аминоантипирином (ААР) и производным фенола, в результате чего образуется хинониминный краситель. Интенсивность окраски прямо пропорциональна концентрации холестерина в пробе.

Схема реакции



Интерференции во время определения холестерина

- К самым важным влияющим факторам при определении холестерина относится повышенный уровень триглицеридов.
- Липимические пробы содержат частицы богатые триглицеридами, величина которых достаточна, чтобы способствовать рассеянию света. Это часто регистрируется ошибочно старыми монохроматическими аппаратами как поглощение. Современные бихроматические приборы способны проводить коррекцию рассеяния света, вызванного повышенным уровнем триглицеридов, при использовании метода двухволнового измерения.
- Гидролиз триглицеридов в липопротеиновых частицах может вызывать мутность, возникшую в результате образования нерастворимых жирных кислот.
- **Редуцирующие вещества**, например, аскорбиновая кислота или билирубин, влияют на течение окислительной реакции азосочетания, как конкуренты перекиси водорода, что приводит к снижению интенсивности окраски образующегося комплекса.

- **Соединения с поглощением около 500 нм**, например, гемоглобин или билирубин увеличивают поглощение. Данную интерференцию можно устранить используя метод двухволнового измерения. Гемолиз снижает величину поглощения, т.к. концентрация холестерина в эритроцитах ниже, чем в сыворотке.

HDL холестерин

Измерение HDL холестерина очень важно - это определяющий фактор риска сердечно-сосудистого заболевания (CAD). Так как риск выражается в относительно небольшом диапазоне концентраций, правильность играет большую роль. Кроме того – в случае необходимости проводить дополнительный расчет LDL холестерина – ошибка результата HDL холестерина вызывает ошибку расчета LDL холестерина, что может полностью изменить результат клинической классификации.

- Величины HDL холестерина на протяжении многих лет определяли методом преципитации. Этот метод был основан на осаждении всех частиц за исключением HDL-частиц, после центрифугирования пробы и отделения осадка, проводили определение холестерина в надосадочной жидкости. Определение методом преципитации не позволяло применение автоматизированных методов. Высокая доля ручной работы неприемлема для современной лаборатории, так как увеличивается стоимость анализа по сравнению с определениями, проводимыми на автоматическом анализаторе. Определение методом преципитации ограничено довольно большим влиянием интерференций, вызванных главным образом триглицеридами, которые, при повышенных уровнях, препятствуют осаждению преципитата, в результате наблюдается неправильная оценка HDL холестерина.
- В настоящее время рекомендуется применение исключительно прямого однородного метода определения.
- Например, в Чешской Республике приблизительно 85% всех лабораторий применяет прямой метод определения HDL холестерина.

LDL холестерин

- Определение LDL холестерина сложно, потому что LDL представляет собой довольно неоднородное вещество, которое содержит большое количество частиц, отличающихся своим составом, величиной и плотностью.
- Расчет по формуле Фридвальда (ммоль/л) обычно применяемой в лабораториях: $LDL \text{ холестерин} = \text{общий холестерин} - (\text{HDL холестерин} + \text{триглицериды} \times 0,37)$ можно применять только для нормальной сыворотки (стандартные липидемические сыворотки). Приведенный расчет непригоден для сывороток, у которых содержание триглицеридов превышает 4,5 ммоль/л.
- Поэтому рекомендуется применять для определения прямой метод определения LDL холестерина.

Преимущества прямых методов определения HDL и LDL холестерина:

- триглицериды не вызывают интерференцию до 12 ммоль/л;
- они пригодны для применения на аналитических анализаторах
- небольшой объем проб;
- для определения можно применять как сыворотку, так и плазму (цитратная, гепариновая, Na₂EDTA);
- широкий диапазон измерения;
- интерференции билирубина, гемоглобина и аскорбиновой кислоты в значительной степени подавлены.

ПЛИВА-Лахема предлагает наборы, предназначенные для прямого определения HDL и LDL холестерина:**HDL холестерин – метод иммуносепарации**

Метод:

- В первой фазе реакции образуются иммунокомплексы со всеми липопротеиновыми частицами за исключением HDL;
- В следующих фазах определяют холестерин в HDL частицах ферментным методом (См. раздел «Метод определения холестерина»).

LDL холестерин – селективный ферментный метод

Метод:

- В первой фазе реакции «протективный» реактив селективно защищает LDL частицы, при этом холестерин, имеющийся в остальных липопротеиновых частицах, остается свободным;
- После того как весь холестерин за исключением LDL холестерина полностью гидролизован и окислен в ферментативной реакции, происходит разрушение «протективного» реактива, LDL частицы высвобождаются и имеющийся в них холестерин определяют ферментным методом (См. раздел «Метод определения холестерина»).

Интерференции:

Нижеперечисленные вещества не влияют на прямое определение HDL и LDL холестерина при помощи вышеприведенных методов:

- Триглицериды до 13 ммоль/л;
- Аскорбиновая кислота до 2,8 ммоль/л (500 мг/мл);
- Свободный билирубин до 854 мкмоль/л, конъюгированный билирубин до 683 мкмоль/л;
- гемоглобин до 5 г/л.

Перечень диагностических наборов, предназначенных для определения аналитов липидного обмена фирмы ПЛИВА-Лахема:

- HDL Cholesterol Direct Liquid 80 (R1: 60 ml, R2: 20 ml)
- HDL Cholesterol Direct Liquid 240 (R1: 3x60 ml, R2: 3x20 ml)
- HDL Cholesterol Calibrator (1x3 ml)

- LDL Cholesterol Direct Liquid 80 (R1: 60 ml, R2: 20 ml)
- LDL Cholesterol Direct Liquid 240 (R1: 3x60 ml, R2: 3x20 ml)
- LDL Cholesterol Calibrator (1x1 ml)

- Cholesterol Liquid 250 S (R1: 1x250 ml, standard: 1x3 ml)
- Triglycerides Liquid 250 S (R1: 1x250 ml, standard: 1x3 ml)

- Lyonorm LIPID HUM N (3x5 ml)
- Lyonorm LIPID HUM P (3x5 ml)