

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

## **Вопросы медицинской химии**

*ISSN 0042-8809*

1986

**Внимание!** Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

## **Voprosy meditsinskoi khimii**

*ISSN 0042-8809*

1986

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXII

ВЫПУСК 2

МАРТ—АПРЕЛЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

# ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1986



## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

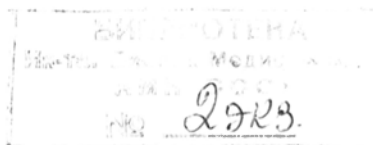
Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА,  
В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОК-  
ШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РО-  
ЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС, С. Е. СЕ-  
ВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)  
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)  
БЫЧКОВ С. М. (Москва)  
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)  
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)  
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)  
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)  
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)  
ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)  
УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)  
ШАПОТ В. С. (Москва)  
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)  
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)



Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

*И. А. Щербакова, Н. В. Перова, В. А. Метельская,  
Н. В. Ануфриева, А. М. Олферьев, А. С. Нечаев*

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДФРАКЦИЙ ЛИПОПРОТЕИДОВ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ ПРИ ИХ РАЗДЕЛЕНИИ В СООТВЕТСТВИИ С ГИДРАТИРОВАННОЙ ПЛОТНОСТЬЮ И РАЗМЕРОМ ЧАСТИЦ

ВКНЦ АМН СССР, Москва

Липопротеиды (ЛП) высокой плотности (ЛПВП) значительно различаются по своим физико-химическим характеристикам, в том числе по гидратированной плотности, размерам частиц и составу белково-липидных компонентов. Методом препаративного ультрацентрифугирования из плазмы крови людей обычно выделяют два подкласса ЛПВП: ЛПВП<sub>2</sub> в границах плотности 1,065—1,125 г/мл и ЛПВП<sub>3</sub> в границах плотности 1,125—1,21 г/мл. Ряд исследователей считают, что функциональная активность ЛПВП, осуществляющих акцепцию и выведение холестерина из организма, связана с их загруженностью холестерином и количеством в плазме частиц ЛПВП, участвующих в его транспорте в печень [4—6, 11]. Ранее нами и другими авторами было показано, что при дисальфалипопротеидемии изменение концентрации в плазме основного апобелка ЛПВП — апо А-1, как и холестерина ЛПВП, происходит в основном за счет изменения концентрации частиц подкласса ЛПВП<sub>2</sub> [3, 6]. В то же время при гипоальфалипопротеидемии было обнаружено снижение показателя загруженности частиц ЛПВП холестерином, т. е. соотношения ХС/апо А-1 [3, 4]. Снижение этого соотношения у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) в большей степени наблюдалось в подклассе ЛПВП<sub>3</sub>, что мы расценивали как показатель сниженной холестеринакцепторной и холестеринтранспортной функций наиболее мелких частиц ЛПВП.

Однако имелись значительные вариации в величинах соотношения ХС/апо А-1 и других параметрах состава частиц отдельных подклассов ЛПВП у лиц с разными видами дислипидемии (ДЛП). Возникал вопрос, не являются ли обнаруженные отклонения белково-липидного состава подфракций ЛПВП только следствием изменений распределения частиц по

гидратированной плотности, так как их выделяли классическим методом в искусственно заданных границах плотности [12].

В настоящей работе поставлена задача охарактеризовать гетерогенность популяции частиц ЛПВП при разных видах ДЛП с помощью двух принципиально различных методов субфракционирования ЛПВП: 1) препаративного ультрацентрифугирования с помощью нового варианта метода [14], в котором разделение подфракций ЛПВП<sub>2б</sub>, ЛПВП<sub>2а</sub> и ЛПВП<sub>3</sub> проходит в системе солевого градиента, естественно создающегося при ультрацентрифугировании; 2) вертикального аналитического электрофореза в слое полнакриламидного геля линейного градиента концентрации (ЭГГ), в котором субфракционирование происходит в соответствии с размером частиц [8].

Нас интересовал вопрос, сопряжены ли разные виды ДЛП, которые считаются атерогенными, с изменениями распределения и (или) состава частиц подфракций ЛПВП, выделение которых происходит с хорошим их разрешением. Исследование ЛПВП проведено у больных ИБС с ангиографически документированным атеросклерозом венечных артерий. Больные были распределены на группы в соответствии с характером спектра ЛП плазмы по результатам исследования липидов, проводимых обычно для диагностики ДЛП.

### Методика

Кровь для исследования брали из локтевой вены палочкой в пробирку, содержащую 1 мг/мл сухой ЭДТА. Плазму крови отделяли центрифугированием при 4 °С. Фракционирование ЛП начинали в тот же или на следующий день; плазму и препараты ЛП хранили в холодильнике при 4 °С не более 10 дней. Исследование проведено у 53 мужчин 30—59 лет, проходивших обследование в стационаре Института профилактической кардиологии ВКНЦ АМН СССР. У 43 больных ИБС был атеросклероз

венечных артерий, документированный ангиографически; контрольную группу составили 10 мужчин того же возраста, у которых отсутствовали типичные клинические признаки ИБС и ангиографически выраженный атеросклероз.

Диагностику вида ДЛП проводили, согласно критериям нормальных значений липидных показателей для популяции мужчин 40—59 лет [1, 2], основываясь на 90 % отрезных точках по уровню холестерина, триглицеридов и 10 % отрезной точки по холестерину ЛПВП (диагностика гипоальфахолестеринемии). За нормальные показатели принимали значения холестерина  $\leq 270$  мг/дл, триглицеридов  $\leq 200$  мг/дл, холестерина ЛПВП  $\geq 35$  мг/дл.

Содержание холестерина, триглицеридов и холестерина ЛПВП после гепарин-марганцевой precipitation определяли на автоанализаторе АА-11 (фирма «Technicon», США) [13].

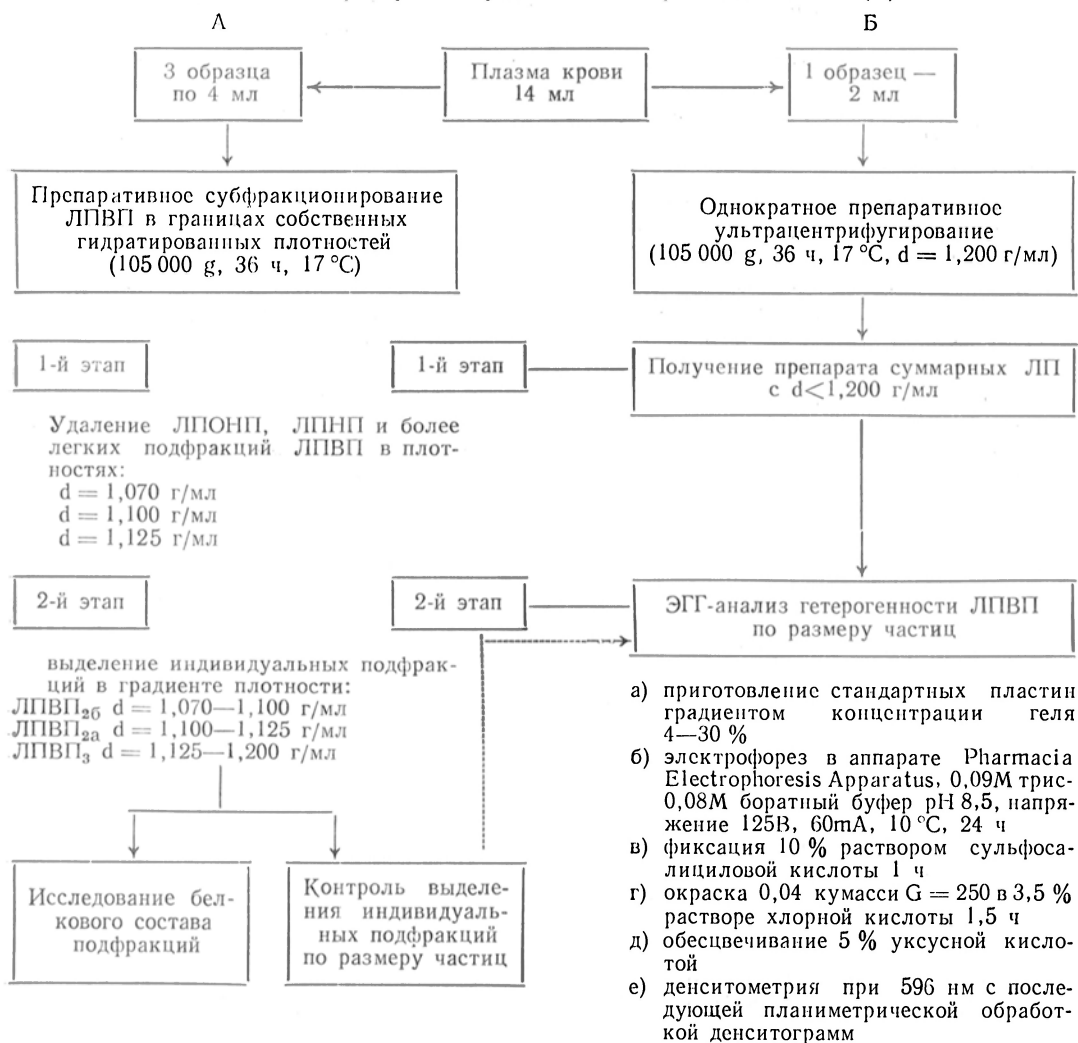
Субфракционирование ЛПВП проводили описанным методом [14] на ультрацентрифуге L8-55 (фирма «Beckman», США) (ротор 40,3, 36 ч, 105 000g, 17 °C). Все солевые растворы содержали в качестве антимикробных агентов

0,05 % азид натрия, 0,05 г/л мертиолата и пенициллина со стрептомицином 10 000 ЕД/мл. В выделенных подфракциях ЛПВП<sub>26</sub>, ЛПВП<sub>2a</sub> и ЛПВП<sub>3</sub> определяли содержание холестерина и апо А-1 [9].

Электрофорез в градиенте полиакриламидного геля с последующей денситометрией проводили по методу Blanche и соавт. [8]. Для электрофореза использовали как препараты подфракций ЛПВП<sub>26</sub>, ЛПВП<sub>2a</sub> и ЛПВП<sub>3</sub>, так и суммарную фракцию ЛП, выделенную в плотности  $d \leq 1,200$  г/мл методом ультрацентрифугирования [12] (1 мл верхней фракции, выделенной из образцов плазмы объемом 2 мл).

На схеме представлены основные этапы анализа образцов плазмы двумя использованными методами. Пластинки с градиентом полиакриламидного геля готовили сами, отработав предварительно оптимальную концентрацию геля; для фракционирования ЛПВП она составила 4—30 % (коммерческие пластинки фирмы «Pharmacia» использовали только для сравнения). Для калибровки размеров частиц

**Этапы анализа гетерогенности ЛПВП по составу препаратов подфракций ЛПВП, выделенных градиентным ультрацентрифугированием (А) и в соответствии с размером частиц методом вертикального электрофореза в градиенте полиакриламидного геля (Б)**



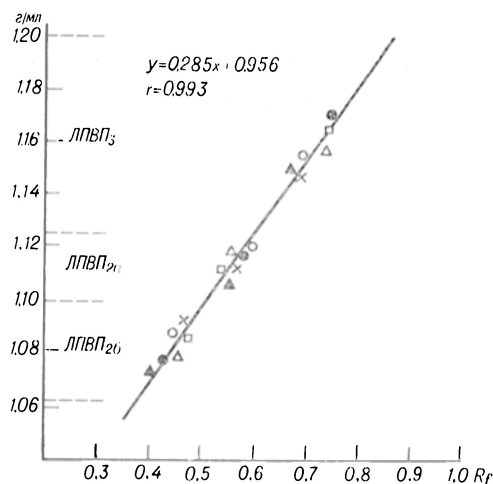


Рис. 1. Зависимость между величинами  $R_f$  электрофоретических пиков индивидуальных подфракций и средними гидратированными плотностями этих подфракций, определенными рефрактометрически в модельных образцах. Подфракции ЛПВП получены из плазмы крови 6 разных лиц.

ЛП использовали стандартную смесь белков с диаметрами частиц от 71 до 170 Å (от 7,1 до 17,0 нм) (HMW Calibration Kit, «Pharmacia»). Для определения средних диаметров частиц индивидуальных подфракций ЛПВП, выделенных методом препаративного ультрацентрифугирования и подвергнутых ЭГГ, строили калибровочную кривую в координатах ( $R_f$ ,  $\bar{\phi}$ ), где  $R_f$  — отношение расстояния миграции анализируемого пика к расстоянию миграции пика бычьего сывороточного альбумина, принятому за 1,  $\bar{\phi}$  — диаметр частиц стандартных белков (в нанометрах).

Границы размеров частиц для каждой подфракции приняты в соответствии с данными Nichols и соавт. [14]. Для подфракции ЛПВП<sub>26</sub> размах величин  $R_f$  был равен 0,300—0,510, что соответствовало размерам частиц в

границах 12,5—9,5 нм, для ЛПВП<sub>2a</sub> — 0,510—0,620 (9,5—8,6 нм), для ЛПВП<sub>3</sub> — 0,620—0,920 (8,6—7,2 нм).

Для проверки возможности использования суммарного препарата ЛП, выделенного однократным ультрацентрифугированием в плотности 1,200 г/мл, для характеристики гетерогенности спектра ЛПВП по размеру частиц с помощью вертикального гель-электрофореза у 6 человек было проведено параллельное определение величин  $R_f$  ( $\bar{\phi}$  частиц) электрофоретических пиков индивидуальных подфракций ЛПВП, выделенных препаративным ультрацентрифугированием, а также суммарных фракций ЛП (рис. 1). Сравнение средних арифметических величин солевой плотности,  $R_f$  и диаметров частиц приведено в табл. 1.

Как видно, получено хорошее соответствие значений  $R_f$  электрофоретических пиков и диаметров частиц одних и тех же подфракций ЛПВП, выделенных разными методами (разница для  $R_f$  и  $\bar{\phi}$  незначительна во всех случаях;  $P > 0,1$ ). Это позволило нам в дальнейшем для анализа субфракционного спектра ЛПВП по размеру частиц использовать только суммарную фракцию ЛП ( $d \leq 1,200$  г/мл). Хотя электрофорезу подвергалась суммарная фракция ЛП, содержащая все классы ЛП, это не мешало субфракционированию ЛПВП, так как была подобрана такая концентрация геля, при которой все частицы крупнее ЛПВП, т. е. липопротенды низкой (ЛПНП) и очень низкой (ЛПОНП) плотности, оставались на старте до пика тиреоглобулина, вносимого в качестве внутреннего стандарта в каждый опытный образец.

На рис. 2 в качестве примера представлены денситограммы индивидуальных подфракций и суммарного пика ЛП одного и того же человека. Как видно, подфракции ЛПВП<sub>26</sub> и ЛПВП<sub>3</sub> выделены практически без загрязнений пограничным материалом подфракции ЛПВП<sub>2a</sub> (примеси не превышали 10 %), в то время как промежуточная подфракция ЛПВП<sub>2a</sub> содержала большое количество частиц подфракций ЛПВП<sub>26</sub> и ЛПВП<sub>3</sub>.

Сделано заключение, что использованный метод градиентного ультрацентрифугирования на подфракции позволяет получить адекват-

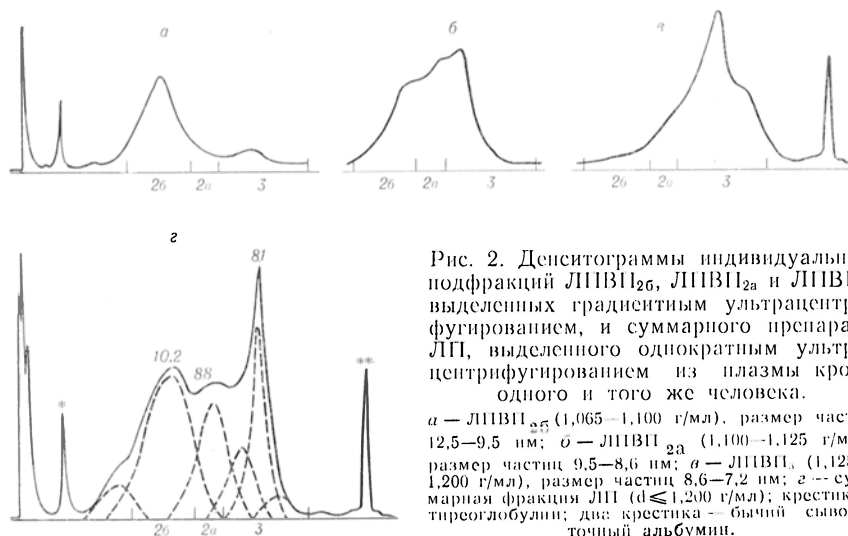


Рис. 2. Денситограммы индивидуальных подфракций ЛПВП<sub>26</sub>, ЛПВП<sub>2a</sub> и ЛПВП<sub>3</sub>, выделенных градиентным ультрацентрифугированием, и суммарного препарата ЛП, выделенного однократным ультрацентрифугированием из плазмы крови одного и того же человека.

а — ЛПВП<sub>26</sub> (1,065—1,100 г/мл), размер частиц 12,5—9,5 нм; б — ЛПВП<sub>2a</sub> (1,100—1,125 г/мл), размер частиц 9,5—8,6 нм; в — ЛПВП<sub>3</sub> (1,125—1,200 г/мл), размер частиц 8,6—7,2 нм; г — суммарная фракция ЛП ( $d \leq 1,200$  г/мл); крестик — тиреоглобулин; две крестика — бычий сывороточный альбумин.

Таблица 1

Сравнительная характеристика физико-химических параметров индивидуальных подфракций ЛПВП, полученных методом градиентного ультрацентрифугирования (А), и суммарных фракций ЛП, полученных однократным ультрацентрифугированием (Б), по данным электрофореза в градиенте геля

Подфракции ЛП	А			Б		
	d, г/мл	R <sub>f</sub>	φ, нм	d, г/мл	R <sub>f</sub>	φ, нм
ЛПВП <sub>2б</sub> (1,065—1,100 г/мл)	1,082±0,0029	0,443±0,0062	10,1±0,06	1,200	0,451±0,0023	10,0±0,04
ЛПВП <sub>2а</sub> (1,100—1,125 г/мл)	1,116±0,0015	0,582±0,0045	8,8±0,02		0,581±0,0046	8,8±0,03
ЛПВП <sub>3</sub> (1,125—1,200 г/мл)	1,157±0,0040	0,703±0,0128	8,0±0,08		0,692±0,0151	8,1±0,08

ное отделение подфракции ЛПВП<sub>2б</sub> от ЛПВП<sub>3</sub>, поэтому получаемые индивидуальные подфракции можно использовать для характеристики их белково-липидного состава.

Данные сканирования денситограмм суммарного препарата ЛПВП обрабатывали планметрически, показав (рис. 2), что регистрируемая кривая представляет собой сумму нескольких перекрывающихся симметричных пиков, при этом максимум каждого отдельного пика располагается под локальным максимумом суммарной кривой. Каждый последующий пик получали путем вычитания предыдущего пика из суммарной кривой и достраивания данного пика симметрично относительно перпендикуляра, опущенного из его максимума. Каждая денситограмма была разложена на ряд пиков, представляющих собой распределение частиц подфракций ЛПВП<sub>2б</sub>, ЛПВП<sub>2а</sub>, ЛПВП<sub>3</sub> (подфракция ЛПВП<sub>3</sub> была представлена 3 пиками, соответствующими 3 субпопу-

ляциям частиц). Затем вычисляли процент вклада каждого пика в суммарную площадь и принимали его за относительную долю идентифицируемых подфракций.

## Результаты и обсуждение

Анализ содержания липидов в плазме крови, проведенный у всех обследуемых лиц, показал, что у 15 из 43 больных ИБС с документированным ангиографически атеросклерозом венечных артерий величины липидных показателей не выходили за пределы возрастной нормы и в среднем не отличались от таковых в контрольной группе лиц без ИБС и атеросклероза. У 28 больных ИБС имелись отклоне-

Таблица 2

Средний уровень липидов плазмы крови и величина холестеринового индекса атерогенности у больных ИБС

Группа обследованных	Число обследованных	Липиды плазмы, мг/дл			Индекс атерогенности
		холестерин	триглицериды	холестерин ЛПВП	
1. Контрольная	10	229±13,1	142±18,2	43±2,2	4,33±0,420
Больные ИБС:					
2. С нормолипидемией	15	202±9,5	105±8,0	49±3,1	3,43±0,372
3. Со II типом ГЛП	10	301±4,9	229±21,0	41±3,2	6,60±0,511
4. С IV типом ГЛП	11	235±10,5	325±51,5	32±1,5	6,65±0,561
5. С гипоальфахолестеринемией (триглицериды ≤200)	7	224±14,6	168±6,8	31±0,5	5,61±0,742
<i>P</i> <sub>1,2</sub>		н. д.	н. д.	н. д.	н. д.
<i>P</i> <sub>1,3</sub>		<0,01	<0,01	н. д.	<0,05
<i>P</i> <sub>1,4</sub>		н. д.	<0,01	<0,01	<0,01
<i>P</i> <sub>1,5</sub>		н. д.	н. д.	<0,001	н. д.
<i>P</i> <sub>2,3</sub>		<0,001	<0,001	0,05< <i>P</i> <0,1	<0,001
<i>P</i> <sub>2,4</sub>		<0,05	<0,05	<0,01	<0,01
<i>P</i> <sub>2,5</sub>		н. д.	<0,001	<0,001	<0,05
<i>P</i> <sub>3,4</sub>		<0,01	0,05< <i>P</i> <0,1	<0,05	н. д.
<i>P</i> <sub>3,5</sub>		<0,01	<0,05	<0,05	н. д.
<i>P</i> <sub>4,5</sub>		н. д.	<0,01	н. д.	н. д.

Примечание. Здесь и в табл. 3 и 4 н. д. — различия недостоверны.

ния в одном или нескольких липидных показателях от принятых границ нормы, т. е. были диагностированы различные типы ДЛП (было увеличено либо содержание холестерина ЛПОНП и ЛПНП, либо снижено содержание холестерина ЛПВП). Изменения содержания липидов по II типу гиперлипидотензии (ГЛП) по классификации Фредриксона [7, 10] наблюдались у 10 больных ИБС: по IV типу ГЛП — у 11 человек, у 7 больных была выявлена гипоальфахолестеринемия при нормальном общем уровне холестерина и триглицеридов плазмы (табл. 2).

Как видно из табл. 2, в группе больных ИБС со II типом ГЛП повышен средний уровень холестерина и триглицеридов плазмы по сравнению с контрольной группой и группой больных ИБС с нормолипидемией; уровень холестерина ЛПВП не изменен по сравнению с контрольной группой. У больных с IV типом ГЛП средний уровень триглицеридов плазмы, естественно, был высоким.

В группе больных с гипоальфахолестеринемией уровень холестерина и триглицеридов был в пределах нормы, однако, средний уровень триглицеридов плазмы оказался все-таки выше, чем в группе больных с нормолипидемией. Средний уровень холестерина ЛПВП в двух последних группах (IV тип ГЛП и гипоальфахолестеринемия) был резко снижен по сравнению с группой больных с нормолипидемией и в контрольной группе.

Холестериновый индекс атерогенности, где числитель представляет собой суммарный уровень холестерина ЛПНП и ЛПОНП, а знаменатель — уровень холестерина ЛПВП, в группе больных ИБС с нормолипидемией был таким же, как в контрольной группе, в то время как во всех группах больных ИБС с ДЛП индекс атерогенности оказался резко повышенным.

Результаты определения содержания холестерина и апо А-I во фракциях ЛПВП<sub>26</sub>, ЛПВП<sub>2a</sub> и ЛПВП<sub>3</sub>, выделенных из плазмы крови 10 мужчин контрольной группы (табл. 3), соответствовали данным, полученным для 6 здоровых мужчин Anderson и соавт. с использованием более сложного метода градиентного ультрацентрифугирования [6].

Как видно из табл. 3, во всех груп-

пах больных ИБС как с нормолипидемией, так и с нарушенным спектром липидов (т. е. с разными типами ДЛП) во фракции ЛПВП<sub>3</sub> было снижено содержание холестерина и соотношение ХС/апо А-I по сравнению с этими показателями в контрольной группе, тогда как уровень апо А-I был одинаковым.

В группе со II типом ГЛП в подфракции ЛПВП<sub>26</sub> было отмечено достоверное снижение содержания апо А-I, а в подфракции ЛПВП<sub>2a</sub> — содержания холестерина.

В группе с IV типом ГЛП как в подфракции ЛПВП<sub>26</sub>, так и в ЛПВП<sub>2a</sub> оказалось достоверно сниженным содержание холестерина и апо А-I по сравнению с контрольной группой и больными ИБС с нормолипидемией.

Одновременное снижение содержания холестерина и апо А-I в подфракциях ЛПВП мы рассматривали как показатель сниженного количества липопротеидных частиц, а сниженное соотношение ХС/апо А-I — очевидно, как показатель сниженной загрузки частиц холестерином на единицу белка.

Таким образом, у всех больных ИБС с документированным атеросклерозом венечных артерий при разном спектре ЛП было выражено обеднение холестерином частиц подфракции ЛПВП<sub>3</sub>, что может свидетельствовать о сниженной холестеринакцепторной функции мелких частиц ЛПВП. Аналогичные данные были получены ранее в нашей лаборатории при использовании стандартного метода [12] для выделения подкласса ЛПВП<sub>3</sub> в заданном промежутке плотности [3, 4].

Известны два возможных источника холестерина, пополняющих уровень холестерина ЛПВП: с одной стороны, акцепция холестерина с клеточных мембран, с другой — переход на липопротеидные частицы подфракций ЛПВП поверхностных фрагментов ЛПОНП, образовавшихся в процессе липопротеидного обмена последних. Очевидно, частицы ЛПВП<sub>2a</sub> и ЛПВП<sub>26</sub> могут быть продуктами либо обоих этих процессов, либо одного из них [5].

Обнаруженные у больных ИБС с IV типом ГЛП изменения количества белковых и липидных компонентов ЛПВП<sub>26</sub> и загрузки частиц ЛПВП<sub>3</sub> свидетельствуют о

Группа обследованных	Число обследо- ванных	ЛПВП <sub>2б</sub>			ЛПВП <sub>2а</sub>			ЛПВП <sub>3</sub>		
		холестерин	апо А-1	холесте- рин/апо А-1	холестерин	апо А-1	холестерин/апо А-1	холестерин	апо А-1	холестерин/апо А-1
1. Контрольная Больные ИБС: 2. С нормолипиде- мией 3. Со II типом ГЛП 4. С IV типом ГЛП 5. С гипоальфахо- лестеринемией (триглицериды ≤ 200 мг/дл)	10	12 ± 1,1	15 ± 1,6	0,80 ± 0,033	17 ± 1,3	41 ± 1,2	0,41 ± 0,018	22 ± 0,6	64 ± 6,6	0,38 ± 0,008
	15	12 ± 1,4	16 ± 3,8	0,92 ± 0,158	16 ± 1,0	41 ± 3,1	0,41 ± 0,039	18 ± 1,0	61 ± 4,4	0,31 ± 0,020
	10	10 ± 1,2	10 ± 1,8	1,04 ± 0,220	12 ± 0,8	35 ± 4,45	0,36 ± 0,090	18 ± 1,3	64 ± 3,6	0,29 ± 0,024
	11	7,2 ± 0,5	7,6 ± 0,7	1,02 ± 0,130	11 ± 0,76	34 ± 2,02	0,33 ± 0,030	17 ± 1,70	61 ± 2,5	0,29 ± 0,017
	7	10 ± 1,5	11 ± 1,3	1,0 ± 0,212	10 ± 1,6	38 ± 3,7	0,29 ± 0,057	16 ± 2,4	58 ± 4,7	0,27 ± 0,022
P <sub>1,2</sub> P <sub>1,3</sub> P <sub>1,4</sub> P <sub>1,5</sub> P <sub>2,3</sub> P <sub>2,4</sub> P <sub>2,5</sub> P <sub>3,4</sub> P <sub>3,5</sub> P <sub>4,5</sub>		н. д. н. д. ≤ 0,001 н. д. н. д. ≤ 0,001 н. д. ≤ 0,05 н. д. н. д. н. д. н. д.	н. д. 0,05 ≤ 0,001 н. д. н. д. ≤ 0,05 н. д. н. д. н. д. н. д. 0,05	н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д.	н. д. ≤ 0,01 ≤ 0,001 ≤ 0,01 ≤ 0,01 ≤ 0,05 ≤ 0,01 н. д. н. д. н. д. н. д.	н. д. н. д. ≤ 0,01 н. д. н. д. ≤ 0,01 н. д. н. д. н. д. н. д. н. д.	н. д. н. д. ≤ 0,05 н. д. н. д. ≤ 0,05 н. д. н. д. н. д. н. д. н. д.	≤ 0,05 ≤ 0,05 ≤ 0,05 ≤ 0,05 н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д.	н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д.	≤ 0,01 ≤ 0,05 ≤ 0,001 ≤ 0,001 н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д. н. д.



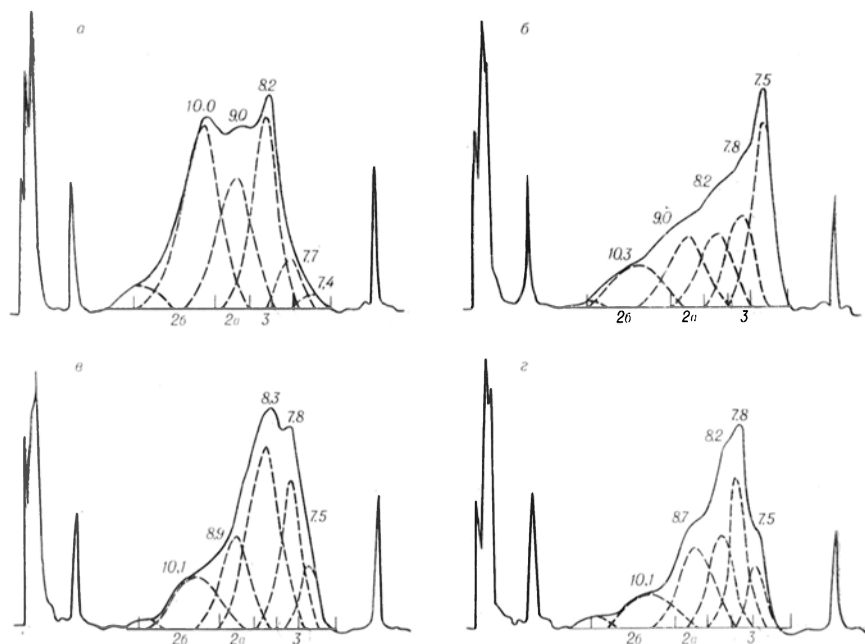


Рис. 3. Характерные денситограммы ЛПВП плазмы лиц с разным спектром липопротеидов (после их разделения методом ЭГГ).

а — нормальный спектр ЛП; б — II тип ГЛП; в — IV тип ГЛП; г — гипоальфалипипротенемия. Размеры частиц подфракций ЛПВП приведены в нанометрах.

нарушении обоих указанных выше процессов обогащения ЛПВП холестерином.

При сравнении белково-липидного состава подфракций ЛПВП в группе с IV типом ГЛП и в группе с гипоальфахолестеринемией (которые характеризовались одинаково низким уровнем холестерина ЛПВП, но различались средним уровнем триглицеридов в плазме) обращает на себя внимание достоверно более низкое количество апо А-I в подфракции ЛПВП<sub>26</sub> у больных с IV типом ГЛП. Можно полагать, что это является следствием снижения липопротеидполиза обогащенных триглицеридами апо А-I содержащих частиц (хиломикронов), синтезированных в кишечнике, что влечет за собой недостаточное поступление не только холестерина, но и апо А-I для формирования частиц ЛПВП<sub>26</sub>.

При анализе количества основных компонентов ЛПВП — холестерина и апо А-I (см. табл. 3) видно, что группа больных ИБС с нормолипидемией отличалась от контрольной группы не по одному из показателей, характеризующих количество частиц ЛПВП. В связи с этим характеристику гетерогенности подфракций по процентному распределению частиц в подфракциях к суммарного содержания всего клас-

са ЛПВП (по данным ЭГГ) у больных ИБС с нормолипидемией мы считаем близкой к распределению частиц в контрольной группе.

На рис. 3 представлены денситограммы ЛПВП, выделенных из плазмы крови лиц с ДЛП, которые принято считать атерогенными, т. е. с гипоальфахолестеринемией, II и IV типом ГЛП. По сравнению с нормальным спектром частиц ЛПВП у лиц с ДЛП был обнаружен сдвиг в распределении частиц в сторону снижения количества крупных частиц подфракции ЛПВП<sub>26</sub> (9,5—10,0 нм) и увеличения в составе подфракции ЛПВП<sub>3</sub> доли наиболее мелких частиц с диаметром 7,5—7,8 нм.

Результаты определения процентной доли или относительной концентрации частиц индивидуальных подфракций ЛПВП (в соответствии с размерами частиц) приведены в табл. 4. Как видно из табл. 4, в группе больных ИБС с нормолипидемией распределение подфракций ЛПВП было таковым, что на долю подкласса ЛПВП<sub>2</sub> (ЛПВП<sub>26</sub> + ЛПВП<sub>20</sub>) приходилось около 60 % от всей суммы частиц ЛПВП, а на долю ЛПВП<sub>3</sub> — около 40 %.

У всех больных ИБС с дислипидемиями по сравнению с больными с нормолипидемией обнаружено сни-

Распределение липопротеидных частиц индивидуальных подфракций (в % от общего количества) частиц ЛПВП) по данным ЭГГ

Группа обследованных	Число обследованных	Холестерин ЛПВП, мг/дл	% от общего количества частиц ЛПВП		
			ЛПВП <sub>2б</sub> (12,5—9,5)	ЛПВП <sub>2а</sub> (9,5—8,6)	ЛПВП <sub>3</sub> (8,6—7,2)
Больные ИБС	15	49±3,1	35±4,8	26±0,9	39±4,2
1. С нормолипидемией	10	41±3,2	17±5,2	22±3,2	61±6,8
2. Со II типом ГЛП	11	32±1,5	11±2,0	23±2,8	66±3,2
3. С IV типом ГЛП					
4. С гипоальфалипопротемией (триглицериды ≤ 200 мг/дл)	7	31±0,5	19±3,2	23±2,1	58±5,0
$P_{1,2}$	0,05 < P < 0,1		< 0,05	н. д.	< 0,05
$P_{1,3}$	< 0,01		< 0,001	н. д.	< 0,001
$P_{1,4}$	< 0,001		< 0,01	н. д.	< 0,001
$P_{2,3}$	< 0,05		н. д.	н. д.	н. д.
$P_{2,4}$	< 0,05		н. д.	н. д.	н. д.
$P_{3,4}$	н. д.		< 0,05	н. д.	н. д.

Примечание. В скобках указан размер липопротеидных частиц (в нм).

жение в 2—3 раза процентной доли частиц ЛПВП<sub>2б</sub> и повышение доли частиц ЛПВП<sub>3</sub> (при постоянно неизменной процентной доле частиц ЛПВП<sub>2а</sub>). Наиболее резкие изменения субфракционного спектра ЛПВП обнаружены при IV типе ГЛП: соотношение процентной доли частиц подфракции ЛПВП<sub>2б</sub> и ЛПВП<sub>3</sub> составляло 1:6, в то время как в группе с нормолипидемией оно равнялось 1:1. Снижение в спектре ЛПВП доли крупных частиц подфракции ЛПВП<sub>2б</sub> в 6 раз, очевидно, подтверждает предположение о сниженном вкладе поверхностных компонентов ЛПОНП, которые образуются при липопротеидлиполизе и используются для дотранспортировки частиц ЛПВП при трансформации мелких частиц ЛПВП<sub>3</sub> через ЛПВП<sub>2а</sub> в ЛПВП<sub>2б</sub> [15].

Низкий уровень холестерина ЛПВП может быть связан и со сниженным синтезом частиц ЛПВП<sub>3</sub> и как следствие этого со сниженной трансформацией частиц ЛПВП<sub>3</sub> в частицы ЛПВП<sub>2б</sub>.

Заслуживает внимание тот факт, что при II типе ГЛП уровень холестерина ЛПВП находится в пределах нормы, но, несмотря на это, субфракционный спектр ЛПВП сдвинут в сторону снижения количества частиц ЛПВП<sub>2б</sub>, а частицы ЛПВП<sub>3</sub> обеднены холестерином. Такие изменения в системе ЛПВП при II типе ГЛП, оче-

видно, вносят свой вклад в детерминацию атерогенности системы ЛП.

Таким образом, исследование гетерогенности частиц ЛПВП, проведенное двумя методами, основанными на различных принципах субфракционирования, позволило показать, что у больных ИБС с документированным атеросклерозом венечных артерий с различными типами атерогенных ДЛП имеются изменения в характере распределения липопротеидных частиц в белково-липидном составе подфракций ЛПВП. Это позволяет полагать, что выявление изменений в субфракционном спектре ЛПВП может быть качественным индикатором атерогенных нарушений в системе оттока холестерина из тканей.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Климов А. Н., Герасимова Е. Н., Шестов Д. Б. и др. — Кардиология, 1979, № 4 с. 61—67.
2. Никульчева Н. Г., Перова Н. В. — В кн. Дислипидемии и ишемическая болезнь сердца. М., 1980, с. 179—192.
3. Перова Н. В., Метельская В. А., Озерова И. Н. и др. — Вopr. мед. химии, 1980, № 5, с. 688—693.
4. Перова Н. В. Аполипопротеины при дислипидемиях и атеросклероз. Дис. докт. мед. наук. М., 1982.
5. Фортэ Т. — В кн.: Липопротеиды высокой плотности и атеросклероз. М., 1982, с. 51—67.
6. Anderson D. W., Nichols A. V., Pan S. S. — Atherosclerosis, 1978, vol. 29, p. 161—176.

7. Beaumont J. L., Carlson L. A., Cooper J. R. et al. — Bull. Wld Hlth Org., 1970, vol. 43, p. 891—915.
8. Blanche P. J., Gong E. L., Forte T. M., Nichols A. V. — Biochim. biophys. Acta, 1981, vol. 665, p. 409—419.
9. Curry M. D., Alaupovic P., Suernam C. A. — Clin. Chem., 1976, vol. 22, p. 315—322.
10. Fredrickson D. S., Less R. S. — Circulation, 1965, vol. 31, p. 321—327.
11. Gjomset J. A. — J. Lipid Res., 1968, vol. 9, p. 155—167.
12. Lindgren F. T. — In: Analysis of Lipids and lipoproteins / Ed E. C. Perkins. Champaign, 1975, p. 204—224.
13. Manual of Laboratory Operations: Lipid Research Clinics Program. Washington, 1974, vol. 1.
14. Nichols A. V., Blanche P. J., Krauss R. M. et al. — In: Report of the High Density Lipoprotein Methodology Workshop. Bethesda, 1979, p. 303—309.
15. Tall A. R., Green P. H. R., Glickman R. et al. — J. clin. Invest., 1979, vol. 64, p. 977—989.

Поступила 13.12.81

# DISTRIBUTION OF HIGH DENSITY LIPO- PROTEIN SUBFRACTIONS DEPENDING ON THE HYDRATION DENSITY AND THE PARTICLES SIZE

I. A. Scherbakova, N. V. Perova, V. A. Metel's-  
kaya, N. Y. Anufrieva, A. M. Olferev, A. S. Ne-  
chaev

All-Union Cardiological Research Centre, Aca-  
demy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Distribution of high density lipoprotein (HDL) subfractions was studied by means of gradient ultracentrifugation depending on their hydration density and using electrophoresis in gradient polyacrylamide gel according to the particles size. 53 men were examined, where 43 patients were impaired with ischemic heart disease and with atherosclerosis of coronary arteries documented by angiography. In all the patients with ischemic heart disease and dislipoproteinemias distribution of the HDL particles was altered towards a decrease in amount of HDL<sub>2b</sub> particles; at the same time, loading with cholesterol of the HDL<sub>3</sub> subfraction was lowered. The alterations in the subfraction spectrum and composition of HDL observed in the patients with the ischemia and coronary atherosclerosis appear to exhibit the atherogenic impairments in cholesterol elimination from arterial wall.

УДК 616.12-005.4-07:[616.155.1-008.939.22:616.153:577.112.856]-074

Т. И. Торховская, Е. А. Горбатенкова, В. А. Дудаев,  
Я. М. Чеснокова, О. А. Азизова, Э. М. Халилов

## ХОЛЕСТЕРИН-АКЦЕПТОРНЫЕ СВОЙСТВА ЛИПОПРОТЕИДОВ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПО ОТНОШЕНИЮ К МЕМБРАНАМ ЭРИТРОЦИТОВ

II ММИ им. Н. И. Пирогова, Москва

В настоящее время при изучении атерогенеза большое внимание уделяют липопротенидам высокой плотности (ЛПВП) как основным структурам, способным удалять холестерин из клеточных мембран [8, 18] и следовательно препятствовать морфологическим изменениям сосудистой стенки, начальным этапам которых и является, по-видимому, индуцированное холестерином повреждение мембран гладкомышечных клеток [17]. Низкая концентрация ЛПВП, особенно из легкой подфракции ЛПВП<sub>2</sub> (с плотностью до 1,125 г/мл) в плазме крови больных ишемической болезнью сердца (ИБС) и лиц, предрасположенных к этому заболеванию [15], сопряжена, естественно, с ослаблением суммарной интенсивности удаления холестерина из мембран и соответствующим сни-

жением транспорта его в печень для катаболизма. Это и лежит в основе одного из объяснений молекулярного механизма роли гипоальфалиппротеидемии как независимого риск-фактора ИБС [20]. В связи с появляющимися в последние годы сообщениями об особенностях состава и физико-химических свойств ЛПВП при дислиппротеидемиях и ИБС [9—14] в литературе высказывают предположения и о возможности изменения холестерин-акцепторных свойств индивидуальных комплексов этого класса липопротенидов [5, 11—13]. Так, в качестве одного из косвенных подтверждений этого рассматривают снижение отношения содержания холестерина подфракций ЛПВП к уровню их преобладающего белка апоА<sub>1</sub> при ИБС и гипоальфалиппротеиде-