

Субфракционный спектр липопротеинов высокой плотности у больных с коронарным атеросклерозом

Озерова И. Н., Метельская В. А., Перова Н. В., Гаврилова Н. Е., Бойцов С. А.

ФГБУ “Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины” Минздрава России. Москва, Россия

Цель. Провести анализ распределения частиц липопротеинов высокой плотности (ЛВП) у больных с коронарным атеросклерозом и выяснить, сопряжены ли особенности субфракционного спектра ЛВП со степенью поражения коронарных артерий.

Материалы и методы. В исследование включены 130 пациентов (М/Ж 84/46) 30-80 лет (средний возраст $61,1 \pm 9,9$ года), которым была проведена коронароангиография. Субфракционный спектр ЛВП определяли с помощью “Липопринт системы” (Quantimetrix Lipoprint System, США).

Результаты. Пациенты были разделены на три группы по шкале Gensini: 1 группа ($n=40$) — коронарное поражение 0-20% — нет клинических проявлений коронарной болезни сердца (0 баллов); 2 группа ($n=40$) — с умеренным поражением коронарных артерий 21-70% (1-34 балла); 3 группа ($n=50$) — с выраженным поражением коронарных артерий (>35 баллов, 35-176). Пациенты 2 и 3 групп по сравнению с пациентами без коронарного атеросклероза (1 группа) имели более низкие уровни холестерина (ХС), ХС липопротеинов низкой плотности (ЛНП), аполипопротеина (апо) AI и апо B, а уровень ХС ЛВП и триглицеридов, показатели углеводного обмена (концентрация глюкозы, инсулина и индекс инсулинорези-

стентности) и высокочувствительный С-реактивный белок не различались в трех группах, при этом имели более высокую долю мелких плотных ЛВП и промежуточных ЛВП, и более низкую долю крупных ЛВП. Различия в характере распределения частиц ЛВП между пациентами 2 и 3 групп отсутствовали.

Заключение. Характер распределения частиц ЛВП, а именно: более высокое относительное содержание мелких плотных и промежуточных частиц ЛВП и более низкая доля крупных частиц ЛВП, ассоциирован с поражением коронарных артерий. Сдвиг в субфракционном спектре ЛВП в сторону накопления потенциально проатерогенных частиц ЛВП обнаруживается у пациентов уже на ранних стадиях атеросклероза.

Ключевые слова: коронарный атеросклероз, шкала Gensini, субфракционный спектр липопротеинов высокой плотности, Липопринт система.

Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2015; 14(2): 31–34
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2015-2-31-34>

Поступила 19/02-2015

Принята к публикации 24/02-2015

Subfractional spectrum of high density lipoproteids in coronary atherosclerosis patients

Ozerova I. N., Metelskaya V. A., Perova N. V., Gavrilova N. E., Boytsov S. A.

FSBI “State Scientific-Research Center for Preventive Medicine” of the Healthcare Ministry. Moscow, Russia

Aim. To analyze a dispersion of high density lipoprotein (HDL) particles in patients with coronary atherosclerosis and to find out whether there is a relation of HDL subfractional specifics and severity of coronary lesion.

Material and methods. Totally 130 patients included (M/F 84/46) 30-80 y.o. (mean age $61,1 \pm 9,9$ y.o.), who underwent coronary arteriography. Subfractional spectrum of HDL was assessed by “Lipoprint System” (Quantimetrix Lipoprint System, US).

Results. Patients were selected into 3 groups according to Gensini score: 1 group ($n=40$) — coronary lesion 0-20% — no clinical signs of coronary heart disease (0 points); 2 group ($n=40$) — moderate lesion 21-70% (1-34 points); 3 group ($n=50$) — significant lesion (>35 points; 35-176). Patients of the 2 and 3 groups comparing to those without coronary atherosclerosis (1 group) had lower levels of cholesterol (C); C of low density lipoproteids (LDL), apolipoprotein (apo) AI and apo B, and the level of HDL-C and triglycerides, carbohydrate metabolism

parameters (glucose level, insulin and insulin resistance index) and high-sensitivity C-reactive protein did not differ in three groups, and had higher portion of smaller dense HDL and intermediate HDL, and less amount of large HDL. The differences in HDL dispersion among 2 and 3 groups patients were not found.

Conclusion. A pattern of HDL dispersion, i.e. the higher relative amount of smaller dense particles of HDL and less amount of larger HDL is associated with coronary arteries lesion. Shift in subfractional spectrum of HDL to the side of potentially proatherogenic HDL particles can be found in patients even at earlier stages of atherosclerosis.

Key words: coronary atherosclerosis, Gensini score, subfractional spectrum of high density lipoproteids, Lipoprint system.

Cardiovascular Therapy and Prevention, 2015; 14(2): 31–34
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2015-2-31-34>

апо — аполипопротеины, вЧРБ — высокочувствительный белок, КА — коронарные артерии, ЛВП — липопротеины высокой плотности, ЛНП — липопротеины низкой плотности, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ТГ — триглицериды, ХС — холестерин, НОМА-IR — индекс инсулинорезистентности.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

Тел.: +7 (499) 553-68-51

e-mail: iozerova@gnicpm.ru

[Озерова И. Н.* — к.б.н., в.н.с. отдела изучения биохимических маркеров риска ХНИЗ, Метельская В. А. — д.б.н., профессор, руководитель отдела, Перова Н. В. — д.м.н., профессор, в.н.с. отдела, Гаврилова Н. Е. — к.м.н., с.н.с. отдела клинической кардиологии и молекулярной генетики, Бойцов С. А. — д.м.н., профессор, директор].

Повышенный уровень холестерина (ХС) липопротеинов низкой плотности (ЛНП), увеличенная концентрация триглицеридов (ТГ) и низкое содержание ХС липопротеинов высокой плотности (ЛВП) ассоциированы с высоким риском сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Терапия статинами приводит к снижению уровня ХС ЛНП и снижению риска ССЗ. Однако часто даже при достижении целевых значений ХС ЛНП сохраняется так называемый резидуальный или остаточный риск развития ССЗ, связанных с атеросклерозом, и одной из причин тому может быть низкий уровень ХС ЛВП, сопряженный с повышенной концентрацией ТГ [1, 2].

Основной функцией ЛВП является их участие в обратном транспорте ХС из периферических тканей, в т.ч. артериальной стенки, в печень для его утилизации и выведения из организма. Наряду с этим ЛВП осуществляют ряд других атеропротективных функций, включая антиокислительное, противовоспалительное, вазодилататорное и антитромботическое действия, увеличивают секрецию инсулина и повышают инсулиночувствительность [3].

ЛВП представляют собой гетерогенный класс частиц, различающихся по размеру, плотности, поверхностному заряду, белково-липидному составу и функциональной активности [3]. В ряде исследований было показано, что мелкие плотные ЛВП обладают значительно более высокой атеропротективной активностью, чем крупные частицы ЛВП, а в других работах, напротив, было продемонстрировано, что мелкие плотные ЛВП могут быть менее атеропротективными, и даже демонстрируют проатерогенные свойства, увеличивая риск развития атеросклероза [3-5]. На основании этих данных было высказано предположение о том, что важную роль в детерминации атеропротективного действия ЛВП играет не столько концентрация входящего в их состав холестерина (ХС ЛВП), сколько их функциональная активность, которая в значительной мере сопряжена с особенностями спектра ЛВП, в частности, с распределением частиц по размеру и плотности и их количеством [5-7].

Для определения спектра липопротеинов крови используют различные методы такие, как градиентное ультрацентрифугирование, ядерный магнитный резонанс, неденатурированный электрофорез в градиентном полиакриламидном геле. Необходимость дорогостоящего оборудования и реактивов, длительное время для выполнения анализов делают применение этих методов в клинических исследованиях весьма затруднительным [4-6]. В последние годы разработан метод [8, 9] электрофореза высокого разрешения с использованием 3% полиакриламидного геля, позволяющий разделить фракции липопротеинов и их субфракции по размеру и заряду частиц (Липопринт система), который можно использовать в исследовательских и клинических целях [8-12].

Цель настоящего исследования — провести анализ распределения частиц ЛВП у больных коронарной болезнью сердца и выяснить, сопряжены ли особенности субфракционного спектра ЛВП со степенью выраженности ангиографически документированного коронарного атеросклероза.

Материал и методы

В исследование включены 130 пациентов обоего пола (М/Ж 84/46) 30-80 лет (средний возраст составил $61,1 \pm 9,9$ года), обследованных в стационаре ФГБУ “ГНИЦ ПМ” Минздрава России, которым по показаниям была выполнена коронароангиография по методике Judkins с использованием, как правило, трансфеморального доступа в условиях рентгеноперационной с помощью ангиографической установки “Philips Integrity Allura” и “General Electric Innova 4100”. Для количественной оценки стенозов использовали компьютерную программу установки “General Innova”. Степень поражения коронарных артерий (КА) оценивали в баллах по шкале Gensini.

Пациенты до госпитализации и во время пребывания в стационаре получали необходимые лекарственные препараты в соответствии с их диагнозом и клиническим состоянием, включая гиполипидемические статины.

Забор крови осуществляли из локтевой вены утром натощак после 12-14 ч голодания. В сыворотке крови определяли концентрацию общего ХС, ТГ и ХС ЛВП (после осаждения ЛНП фосфорновольфраматом натрия в присутствии хлористого магния) ферментными методами с использованием диагностических наборов фирмы “Human” (Германия) на автоанализаторе “Konelab 20i” (Финляндия). Концентрацию ХС ЛНП рассчитывали по формуле Фридлянда. Концентрацию основных белков ЛНП и ЛВП — аполипоротеинов (апо) В и АI, а также уровень высокочувствительного С-реактивного белка (вЧСРБ) определяли с помощью диагностических наборов “DiaSys” на автоанализаторе “Sapphire-400” (Япония). Концентрацию глюкозы в сыворотке крови измеряли глюкозооксидазным методом, а уровень инсулина — иммунохемилюминесцентным методом на приборе “Architect i 2000_{SR}” (Abbot Diagnostics, США).

Индекс инсулинорезистентности тканей (НОМА-IR) оценивали, используя НОМА-модель, и рассчитывали его по формуле: $\text{НОМА-IR} = [\text{ГлН (ммоль/л)} \times \text{ИнсН (мкЕд/мл)}]: 22,5$; где ГлН — концентрация глюкозы в сыворотке крови натощак, ИнсН — концентрация инсулина натощак.

Субфракционный спектр ЛВП определяли с помощью “Липопринт-системы” (Quantimetrix Lipoprint System, США), которая включает электрофорез в готовых трубочках с 3% полиакриламидным гелем, сканирование гелей и компьютерную обработку данных. Метод позволяет идентифицировать до 10 подфракций ЛВП из сыворотки без предварительной ее обработки (рисунок 1): крупные (ЛВП 1-3), промежуточные (ЛВП 4-7), мелкие (ЛВП 8-10). Согласно компьютерной программе, результаты представлены как площадь под кривой каждой субфракции ЛВП в % (процентное содержание, или доля).

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета статистических программ STATISTICA 7.0. Полученные результаты представлены как медиана (Ме) и размах (мин-мах). Манн-Уитни U-тест был использован для сравнения параметров между группами. Для оценки корреляционных взаимосвязей были рассчитаны коэффициенты корреляции Спирмана. Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Таблица 1

Липид-белковый профиль и показатели углеводного обмена у больных с коронарным атеросклерозом (Me; min-max)

Параметры	Степень поражения КА (по шкале Gensini)		
	1 группа (0) n=40	2 группа (1-34) n=40	3 группа (35-176) n=50
Шкала Gensini, баллы	0	12,5 (1,0-34,0)	71,0 (35,0-76,0)
ХС, ммоль/л	5,3 (3,6-7,8)	4,9 (3,1-7,2)*	4,6 (3,1-7,7)*
ХС ЛНП, ммоль/л	3,6 (2,0-5,8)	3,0 (0,9-4,8)**	2,8 (1,3-5,6)**
ХС ЛВП, ммоль/л	1,08 (0,59-1,76)	0,96 (0,55-1,5)*	0,96 (0,62-1,76)
ТГ, ммоль/л	1,5 (0,7-4,9)	1,74 (0,64-3,68)	1,56 (0,74-5,51)
апо AI, мг/дл	172 (120-237)	156 (87-233)*	150 (53-137)**
апо В, мг/дл	95 (53-192)	83 (51-142)*	80 (53-137)**
апо AI/АпоВ	0,54 (0,26-1,18)	0,56 (0,31-1,09)	0,54 (0,37-1,47)
вчСРБ, мг/л	3,2 (0-33,3)	2,8 (0-197,4)	4,3 (0,2-72,0)
Глюкоза, ммоль/л	5,4 (4,1-9,4)	5,5 (4,6-9,8)	5,6 (4,5-11,7)
Инсулин, мкЕд/мл	9,5 (1,8-48,0)	11,0 (4,0-100,0)	12,0 (2,4-117,0)
НОМА-IR	2,6 (0,5-12,4)	2,8 (0,9-43,6)	3,0 (0,62-25,0)

Примечание: достоверность различий по сравнению с 1 группой по U test Манн-Уитни: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$.

Таблица 2

Субфракционный спектр ЛВП у больных с коронарным атеросклерозом (Me; min-max)

Параметры	Степень поражения КА (по шкале Gensini)		
	1 группа (0) n=40	2 группа (1-34) n=40	3 группа (35-176) n=50
Шкала Gensini, баллы	0	12,5 (1,0-34,0)	71,0 (35,0-76,0)
ЛВП субфракции, %			
ЛВП крупные	38,6 (14,8-55,4)	34,2 (13,2-45,3)**	34,3 (14,8-53,9)**
ЛВП промежуточные	44,5 (38,3-56,2)	46,6 (33,7-53,9)*	46,9 (35,9-54,6)*
ЛВП мелкие	16,8 (4,3-28,9)	19,4 (9,6-50,0)**	19,4 (4,6-40,8)*
ХС ЛВП субфракции, мг/дл			
ЛВП крупные	14,5 (5,0-32,0)	11,5 (6,0-23,0)***	13,5 (5,0-31,0)**
ЛВП промежуточные	18,0 (10,0-39,0)	16,0 (8,0-29,0)	17,0 (11,0-33,0)
ЛВП мелкие	6,5 (2,0-16,0)	7,0 (3,0-21,0)	7,0 (2,0-18,0)

Примечание: достоверность различий по сравнению с 1 группой по U test Манн-Уитни: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$.

Результаты и обсуждение

При сравнении ряда ангиографических шкал для оценки степени выраженности атеросклеротического поражения КА в клинической практике ранее была выбрана шкала Gensini и предложены отрезные точки, позволяющие разделить пациентов по степени поражения КА [13]. Включенные в настоящее исследование пациенты были разделены по шкале Gensini на три группы: 1 группа — коронарное поражение 0-20% — нет клинических проявлений коронарной болезни сердца; 0 баллов (n=40); 2 группа — с умеренным поражением КА 21-70%; 1-34 балла (n=40); 3 группа — с выраженным поражением КА; >35 баллов — 35-176 (n=50). Сформированные группы пациентов не различались по возрасту, индексу массы тела и окружности талии.

Пациенты с поражением КА (2 и 3 группы) по сравнению с пациентами без коронарного атеросклероза (1 группа) характеризовались более низкими уровнями общего ХС, ХС ЛНП, апо AI и апо В (таблица 1). Более низкий уровень общего ХС и ХС ЛНП у пациентов с поражением КА был обусловлен, скорее всего, приемом статинов большим числом пациентов и в больших дозах. Обращает на себя внимание тот факт, что уровни ХС ЛВП и ТГ в трех группах были одинаковыми. Различия в показателях метаболических систем, нарушения в которых вовлечены в патогенез атеросклероза, вклю-

чая концентрацию глюкозы, инсулина и показателя НОМА-IR, а также концентрацию вчСРБ у больных трех групп, также отсутствовали.

При анализе субфракционного спектра ЛВП были обнаружены следующие различия в распределении частиц ЛВП: больные с коронарным атеросклерозом по сравнению с пациентами 1 группы при одном и том же уровне ХС ЛВП имели более высокую долю мелких плотных ЛВП и промежуточных ЛВП, и более низкую долю крупных ЛВП (таблица 2). Иными словами, отношение ЛВП крупных к ЛВП мелким было ниже у больных с коронарным атеросклерозом (2 и 3 группы больных) по сравнению с пациентами 1 группы — $1,91 \pm 0,97$ и $2,37 \pm 1,77$ vs $3,20 \pm 2,48$ ($p < 0,0030$ и $p < 0,0674$, соответственно). Тот факт, что различия в характере распределения частиц ЛВП между пациентами 2 и 3 групп отсутствовали, свидетельствует, вероятно, о том, что сдвиги в распределении частиц ЛВП в сторону накопления мелких плотных и промежуточных частиц ЛВП происходят уже на ранних стадиях атеросклероза (2 группа, поражение по шкале Gensini <34 баллов). Данные, полученные другими исследователями при определении спектра ЛВП у больных с коронарным атеросклерозом, также указывают на увеличение доли мелких и/или промежуточных частиц ЛВП [6, 9, 11].

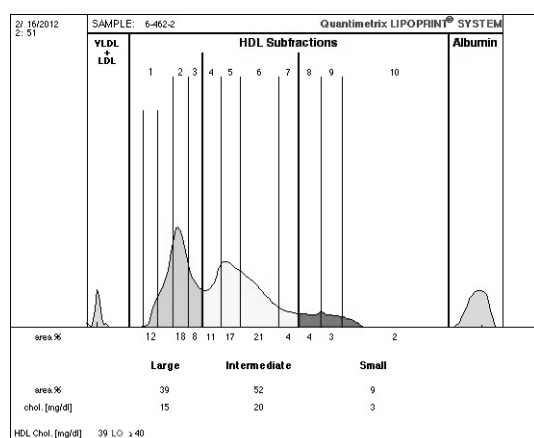


Рис. 1 Субфракционный профиль ЛВП.

Следует отметить, что у больных с коронарным атеросклерозом (2 и 3 группы), несмотря на более низкую долю крупных частиц ЛВП, концентрация ХС в них была ниже, чем у пациентов 1 группы (таблица 2). Концентрация ХС в промежуточных и мелких частицах ЛВП в трех группах оказалась одинаковой, при этом во 2 и 3 группах доли этих частиц были выше. Известно, что в трансформации крупных частиц ЛВП в мелкие частицы ЛВП участвует печеночная липаза, которая обладает способностью гидролизовать входящие в состав ЛВП ТГ и фосфолипиды, что приводит к уменьшению размера частиц. Установлено, что повышенная активность печеночной липазы ассоциирована с коронарным атеросклерозом [14], поэтому можно полагать, что у больных 2 и 3 групп активность печеночной липазы повышена по сравнению с 1 группой. Это приводит у таких больных к более активному гидролизу ТГ и фосфолипидов и трансформации крупных частиц ЛВП в мелкие. При этом функциональная активность обедненных по фосфолипидам мелких частиц ЛВП по акцепции ХС — первого этапа обратного транспорта ХС, нарушается.

Литература

- Barter P. HDL-C: role as a risk modifier. *Atheroscler Suppl.* 2011; 12(3): 267-70.
- Karol E. Watson, Beyond LDL-Cholesterol. The Role of Low HDL-Cholesterol and Elevated TG in Residual Cardiovascular Risk Remaining After Statin Therapy. *J Manag Care Pharm* 2008; 14(8-Suppl): S6-15.
- Wijtske Annema, Arnold von Eckard. High-density lipoproteins. Multifunctional but vulnerable protections from atherosclerosis. *Circ J* 2013; 77: 2432-48.
- Krauss RM. Lipoprotein subfractions and cardiovascular disease risk. *Curr Opin lipidol* 2010; 21(4): 305-11.
- Rizzo M, Berneis K, Zeljkovic A, Vekic J. Should we routinely measure low-density and high-density lipoprotein subclasses? *Clin Lab* 2009; 55(11-12): 421-9.
- Krychtiuk KA, Kastl SP, Pfaffenberger S, et al. Small high-density lipoprotein is associated with monocyte subsets in stable coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2014; 237(2): 589-96.
- deGoma EM, Rader DJ. High-density lipoprotein particle number: a better measure to quantify high-density lipoprotein? *JACC* 2012; 60(6): 517-20.
- Banuls C, Bellod L, Jover A, et al. Comparability of two different polyacrylamide gel electrophoresis methods for the classification of LDL pattern type. *Clin Chim Acta* 2012; 413(1-2): 251-7.
- Oravec S, Dostal E, Dukát A, et al. HDL subfractions analysis: a new laboratory diagnostic assay for patients with cardiovascular diseases and dyslipoproteinemia. *Neuro Endocrinol Lett* 2011; 32(4): 502-9.
- Xu RX, Guo YL, Li XL, et al. Impact of short-term low-dose atorvastatin on low-density lipoprotein and high-density lipoprotein subfraction phenotype. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2014; 41(7): 475-81.
- Utkina EA, Afanasyeva OI, Yezhov MV, et al. Association between different lipoprotein subfractions and coronary atherosclerosis in middle-aged men on statin therapy. *Cardiovestnik* 2014; 1: 68-76. Russian (Уткина Е.А., Афанасьева О.И., Ежов М.В. и др. Связь различных подфракций липопротеидов с коронарным атеросклерозом у мужчин среднего возраста, получавших терапию статинами. *Кардиологический вестник* 2014; 1: 68-76).
- Ozerova IN, Metelskaya VA, Perova NV, et al. Relationship of lipoprotein subfractions with triglycerides level in patients with of different grade of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis and dislipidemias* 2014; 2(15): 33-7. Russian (Озерова И.Н., Метельская В.А., Перова Н.В. и др. Связь субфракционного спектра липопротеинов низких плотностей с уровнем триглицеридов в крови при разной степени стенозов коронарных артерий. *Атеросклероз и дислипидемии* 2014; 2(15): 33-7).
- Gavrilova NE, Metelskaya VA, Perova NV, et al. Selection for the quantitative evaluation method of coronary arteries based upon comparative analysis of angiographic scales. *Russ J Cardiol* 2014; 6(110): 24-9. Russian (Гаврилова Н.Е., Метельская В.А., Перова Н.В. и др. Выбор метода количественной оценки поражения коронарных артерий на основе сравнительного анализа ангиографических шкал. *Российский кардиологический журнал* 2014; 6(110): 24-9).
- Brunzell JD, Zambon A, Deeb SS. The effect of hepatic lipase on coronary artery disease in humans is influenced by the underlying lipoprotein phenotype. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1821(3): 365-72.
- Kannel WB, Vassan RS. Triglycerides as vascular risk factors: new epidemiologic insights. *Curr Opin Cardiol* 2009; 24(4): 345-50.