

Особенности нарушений липидного обмена у больных ревматоидным артритом

¹ А.Э.Сизиков, ²Ф.В.Тузиков, ²Н. А.Тузикова, ²Р.В.Галимов,

¹Л.П. Коненкова, ¹О.А.Герцог, ¹В.А.Козлов

¹Институт клинической иммунологии СО РАМН

²Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» МЗ РФ,
г. Новосибирск

Резюме

Цель. Охарактеризовать (фенотипировать) спектры общих и модифицированных липопротеинов (ЛП) сыворотки крови больных ревматоидным артритом (РА) в зависимости от пола и возраста больных, а также провести сравнение со здоровыми донорами (с нормолипемией).

Материал и методы. Обследовано 103 пациента с РА (88 жен. и 15 муж.) в возрасте от 21 до 69 лет. Изучены спектры общих и модифицированных липидов и ЛП в сыворотке и плазме крови больных РА методом малоуглового рентгеновского рассеяния.

Результаты. У больных РА обоего пола и всех возрастных групп выявлен низкий уровень подфракций ЛП промежуточной плотности (ЛППП) и ЛП очень низкой плотности (ЛПОНП)_{3,5} и высокий уровень подфракции ЛПНП_{1,3}. Средний уровень модификации ЛП составил около 60 %, причем наименее подвержена модификации оказалась подфракция ЛП высокой плотности (ЛПВП)₂, а наиболее — подфракция ЛП ЛППП. Повышение уровня модификации ЛП происходило за счет фракций ЛПНП и ЛПОНП, имелась тенденция к повышению этого уровня от молодых возрастных групп пациентов к более пожилым за счет повышения доли атерогенных ЛП. Не выявлено отличий между средними значениями общих ЛП для половых и возрастных групп больных РА. Особенностью спектра модифицированных ЛП у больных РА явился неожиданно низкий (по сравнению с нормолипемией) уровень модификации ЛП у фракции ЛПВП в целом.

Заключение. Уровень общих и модифицированных ЛП в плазме и сыворотке крови больных РА связан с общим состоянием липидного обмена и баланса факторов иммунной защиты. Возможно, что низкий уровень холестерина (ХС)_{ЛПОНП} и высокий уровень ХС_{ЛПНП}, а также высокая степень модификации ЛП этих фракций могут быть дополнительными маркерами активности РА.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, липиды, липопротеины, модифицированные липопротеины, малоугловое рентгеновское рассеяние

Ревматоидный артрит (РА) — хроническое системное аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, характерной чертой которого является хронический деструктивный полиартрит. РА является классическим аутоиммунным заболеванием, развитие которого связано с преимущественной активацией Т-хелперов 1 типа (Th1). Долгосрочный прогноз заболевания неблагоприятен: около 80% пациентов инвалидизируются в течение первых 5 лет заболевания, а продолжительность жизни пациентов, страдающих РА, сокращается на срок от 3 до 18 лет [36, 39]. Частота РА в популяции колеблется от 0,5 до 1,5%. Как и другие аутоиммунные заболевания, РА чаще встречается у женщин.

Современные представления об иммунопатогенезе РА основываются на нескольких концепциях, учитывающих, во-первых, роль CD4+ Т — лимфоцитов [35], во-вторых, роль моноцитов/макрофагов, синтезирующих цитокины и обладающих провоспалительной активностью [21, 25], в-третьих, роль автономных неиммунных механизмов, определяющих опухолеподобный рост синовиальной ткани, приводящий к деструкции хряща [29, 44].

В последние годы большое внимание уделяется исследованиям нарушений липидного обмена при аутоиммунных заболеваниях, в том числе и при РА. О важности подобных исследований говорит то, что патология сердечно — сосудистой системы является непосредственной причиной смерти больных РА более чем в 50 % случаев [37], причем кардиоваскулярная летальность при РА характерна для больных более раннего возраста (< 55 лет), чем в

общей популяции, и вносит существенный вклад в сокращение продолжительности жизни при данном заболевании [34]. Существуют данные о достоверно более раннем развитии атеросклероза у больных РА, что, по-видимому, обусловлено наличием клинически выраженного или субклинического ревматоидного васкулита [22].

Известно, что различные типы нарушений липидного обмена- дислипидотемий (ДЛП)-сопровождаются изменениями фракционного и субфракционного состава липопротеидов (ЛП) [5]. К ним в первую очередь относится атеросклероз, однако выявлено участие ЛП в механизмах нарушения липидного обмена, сопровождающих развитие целого ряда других патологий (диабет, гепатит, панкреатит и др.) [19, 24, 28]. Поэтому для диагностики и профилактики различных заболеваний, а также для оценки эффективности лечения имеется необходимость точно и экспрессно определять фракционный и субфракционный состав ЛП сыворотки крови. Нами была разработана новая методика определения субфракционного состава ЛП на основе метода малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) [9, 10, 14-19, 43]. Методика не требует применения дорогостоящих реактивов и позволяет определять фракционный состав ЛП в прямой шкале размеров (радиусов) ЛП частиц и в абсолютных единицах концентраций (мг/дл).

Кроме общих (суммарных) ЛП методика позволяет определять и так называемые модифицированные ЛП, имеющие нарушения нативной структуры. Согласно аутоиммунной теории патогенеза атеросклероза, развиваемой А.Н. Климовым с соавт. [2-7], атеросклероз и другие патологии вызывают не сами ЛП, а иммунные комплексы, содержащие ЛП в качестве антигена. Известно, что ЛП могут легко модифицироваться под действием самых разнообразных факторов. В настоящее время к модифицированным ЛП, образующимся в условиях *in vivo*, относят [5] перекисно-модифицированные ЛП; аутоиммунные комплексы ЛП-антител; гликозилированные ЛП; продукты ограниченного протеолиза ЛП; десиалированные ЛП; комплексы ЛП с гликозаминогликанами. При этом ЛП становятся склонными к образованию комплексов. Считается, что при любой модификации ЛП могут образовывать комплексы (с антителами и между собой), превращаясь в более крупные частицы. Также известно, что при добавлении в сыворотку и плазму крови полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 дальтон (ПЭГ-6000) до концентрации 8% образуются преципитирующие иммунные комплексы, включающие в себя и модифицированные ЛП [2-7]. На этом свойстве ПЭГ-6000 и основано препаративное выделение модифицированных ЛП. Следует, правда, отметить, что в научной литературе вопрос о полноте выделения с использованием ПЭГ-6000 модифицированных ЛП всех типов еще не решен. Поэтому более точным было бы называть

выделяемые с помощью ПЭГ ЛП «ЛП из преципитирующих иммунных комплексов». Но мы, по примеру авторов [2-7], сохранили использование термина «модифицированные ЛП» для ЛП, выделяемых с помощью ПЭГ-6000, имея в виду, что, возможно, при этом из плазмы и сыворотки крови выделяются ЛП не всех видов модификаций.

Липидный и липопротеиновый спектры сывороток крови пациентов с РА остаются недостаточно изученными. Совершенно не исследованы детальные субфракционные спектры общих и модифицированных ЛП, что особенно важно для аутоиммунных заболеваний. Поэтому изучение липидного и липопротеинового спектров больных РА представляет значительный интерес и позволит более точно охарактеризовать патогенез как РА, так и иммунопатогенез атеросклероза в целом.

Цель: охарактеризовать (фенотипировать) липидный и липопротеиновый спектры общих и модифицированных ЛП сыворотки крови больных РА в зависимости от пола и возраста пациентов, а также по сравнению со здоровыми донорами.

Материал и методы

Исследование одобрено Этическим комитетом ГУ НИИ КИ СО РАМН. После предварительного получения информированного согласия в исследование включено 103 пациента с РА (15 муж., 88 жен.) в возрасте от 21 до 69 лет (ср. возраст ~ 47 лет) (диагноз РА верифицирован в соответствии с критериями ACR, 1987), госпитализированных в ревматологическое отделение ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН. Длительность заболевания составляла от 2 до 17 (в ср. 7,8 лет) лет. У всех пациентов регистрировалась активность ревматоидного воспаления II – III степени (продолжительность утренней скованности более 60 мин., количество припухших суставов более 9, количество болезненных суставов более 10, уровень боли по визуальной аналоговой шкале более 60мм, СОЭ – более 28 мм/ч и СРБ – более 18 мг/л). У 42 пациентов определялась II рентгенологическая стадия РА, у 31 – III и у 30 – IV. На момент исследования все пациенты получали метотрексат в дозе 10 мг/нед, диклофенак 100 мг/сут, препараты кальция. В качестве контроля использовались сыворотки крови 120 здоровых доноров (с нормолипемией), проживающих в г. Новосибирске. Данные о фракционном и компонентном составе общих ЛП этих доноров получены нами ранее [9, 43], а модифицированных ЛП – в настоящей работе.

Использовались сыворотки крови, приготовленные по стандартным методикам: удаление клеток центрифугированием (10 мин, 2000 об/мин) и добавление к образцам сухого ЭДТА из расчета 1 мг/мл [5-8, 20].

Определение фракционно-компонентного состава общих и модифицированных ЛП проводили с использованием метода МУРР, как описано

ранее [9, 10, 14-19, 43]. Экспериментальные данные МУРР обрабатывали с использованием общей математической модели строения ЛП всех классов и подклассов и специально разработанной компьютерной программы. Рассчитывали процентный состав каждого из пяти основных компонентов ЛП: триглицеридов, эстерифицированного и свободного холестерина, фосфолипидов и аполипопротеидов — и определяли концентрации всех основных липидов и суммарных аполипопротеидов в каждой фракции, подфракции и субфракции ЛП. Для контроля точности анализа сывороточных ЛП методом МУРР использовали стандартные образцы сывороток крови фирм «Промикс» и «Вектор-Бест» (Россия) с известными значениями концентраций общего холестерина, общих триглицеридов и холестерина фракции ЛПВП.

Для анализа модифицированных ЛП предварительно в сыворотки и плазмы крови добавляли 50%-й раствор ПЭГ-6000 до концентрации 8% и инкубировали при 8°C в течение 18 часов [3]. Преципитаты получали центрифугированием при 6000 об/мин в течение 30 мин. Для растворения преципитируемых иммунных комплексов осадок промывали физиологическим раствором (рН 7,4) [2, 3]. Окончательную диссоциацию иммунных комплексов, включающих и модифицированные ЛП, проводили путем добавления сухого NaNO_3 , используемого в качестве контрастёра.

Чтобы исключить рассеяние рентгеновских лучей белками крови, в анализируемые образцы плазмы предварительно вводили нейтральное (для структуры биополимеров) рентгеноконтрастное вещество — NaNO_3 , создавая плотность, равную средней плотности гидратированных белков. Плотность растворителей в образцах рассчитывали с помощью формулы [9, 10, 14-19, 43]: $m = V \cdot (\rho_o - \rho_c) \cdot \rho_k / (\rho_k - \rho_o)$,

где V , ρ_o — объем и требуемая конечная плотность растворителя в образце (в сыворотке, плазме и контрольном буфере); ρ_c — исходная плотность жидкого образца; m , ρ_k — масса и плотность используемого сухого вещества-контрастёра. Плотность растворителей контролировали пикнометрически. В сыворотках крови учитывали их разбавление за счет объема вещества сухого контрастёра и вводили соответствующие поправки на концентрацию.

Измерения малоугловых рентгенограмм проводили на дифрактометре фирмы Siemens (Германия) методом пошагового сканирования с использованием гониометра и рентгеновского сцинтилляционного детектора [11]. Малоугловые рентгенограммы измеряли в угловом диапазоне: $h = 0.013 \div 0.12 \text{ \AA}^{-1}$, где $h = 4 \cdot \pi \cdot \sin(\Theta) / \lambda$; 2Θ — угол рассеяния. Измерения рентгеновского рассеяния проводили при 20°C с использованием кварцевого капилляра диаметром 0.6 мм и с толщиной стенок 0.01 мм. Длина волны (λ) используемого излучения ($\text{CuK}\alpha$) $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$. В рентгенограммы вносились поправки

на фоновое рассеяние, поглощение, коллимацию, проводилось сглаживание точек рентгенограмм. Математическая обработка экспериментальных данных МУРР и вычисление функций распределения частиц ЛП по размерам выполнялись на ЭВМ ПК с использованием алгоритмов [11] и процедур оптимизации [1].

Статистическую обработку результатов проводили методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента для средних арифметических (результаты считали достоверными при $p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

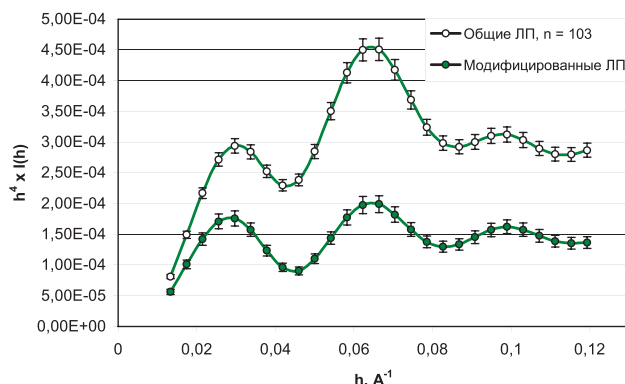
В последние десятилетия выполнено большое число исследований, связанных с определением компонентного состава ЛП всех основных подклассов (подфракций), а также их размеров и молекулярных масс [19, 7, 8, 20, 23, 24, 26-28, 42]. Принято делить ЛП на 4 основных фракции: липопротеины высокой плотности, низкой плотности и очень низкой плотности (ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП) и хиломикроны (ХМ) или на 6 подфракций (ЛПВП₃, ЛПВП₂, ЛПНП, ЛППП, ЛПОНП₃₋₅, ЛПОНП₁₋₂) [7, 8, 20, 23, 24, 26-28, 42]. Фракция частиц ХМ практически «не видна» методом МУРР из-за их больших размеров. Но в крови людей после 12-14ч от последнего приема пищи содержатся ничтожные количества ХМ (кроме очень редких патологий обмена [20]), поэтому концентрацию ХМ определяют редко.

На рис. 1-2 приведены усредненные экспериментальные рентгенограммы МУРР от общих и модифицированных ЛП в образцах сывороток крови больных РА ($n = 103$) в координатах $I(h) \cdot h^4$, h и усредненные гистограммы распределения суммарных липидов в 6-ти подфракциях ЛП (общих и модифицированных), полученные из экспериментальных данных МУРР.

В табл. 1-3 приведены результаты фенотипирования сывороток больных РА в виде средних значений концентраций основных компонентов в подфракциях и фракциях общих и модифицированных ЛП в сравнении с «нормальными» значениями, а также уровни их отклонений (в %) в большую или меньшую сторону (от нормолипемии) (табл. 3). У больных РА были вычислены средние значения концентраций основных компонентов в подфракциях и фракциях общих и модифицированных ЛП отдельно для мужчин, женщин и по возрастным группам (табл. 2). Кроме того, была определена степень модификации фракций и подфракций ЛП (по холестерину) у больных РА по сравнению со здоровыми донорами.

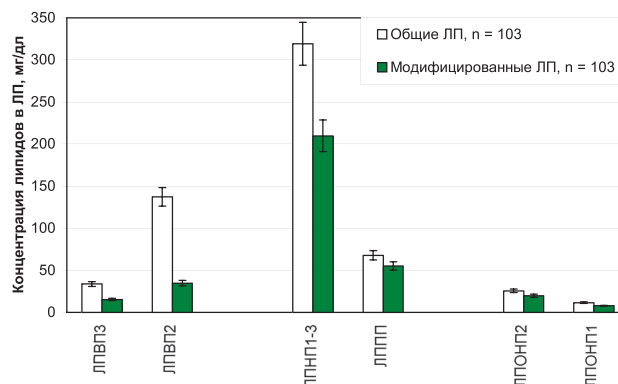
Статистический анализ результатов исследования спектров липидов и ЛП (табл. 1, 3) выявил достоверные различия (с нормолипемией) в концентрациях всех 3-х фракций ЛП (ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП) и некоторых подфракций (ЛПВП₃,

Рисунок 1



Усредненные экспериментальные рентгенограммы МУРР от образцов сывороток крови больных РА (n = 103) в координатах $I(h) \cdot h^4$, h . Рентгеновское рассеяние измерялось от общих и модифицированных ЛП. Измерения рентгенограмм проводили при температуре образцов 20°C. Введены поправки на фоновое рассеяние, коллимацию рентгеновского пучка и проведено сглаживание точек рентгенограмм.

Рисунок 2



Усредненные (n = 103) гистограммы распределения суммарных липидов (ТГ+НЭХС+ЭХС+ФЛ) в 6-ти подфракциях ЛП (общих и модифицированных), полученные из экспериментальных данных МУРР (см. рис. 1) от образцов сывороток крови больных РА.

Таблица 1.

ЛИПИДНЫЕ И ЛП СПЕКТРЫ ОБЩИХ И МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛП КРОВИ В СЫВОРОТКАХ КРОВИ БОЛЬНЫХ РА И ПРИ НОРМОЛИПЕМИИ [9, 43] (В МГ/ДЛ)

ЛП	ЛПВП3	ЛПВП2	ЛПВП1	ЛПНП1-3	ЛППП	ЛПНП	ЛПОНП2	ЛПОНП1	ЛПОНП	ЛП(Все)
Ревматоидный артрит (РА), n = 103, средний возраст 46,8±2,4 года										
Холестерин (Ка = 2,9)										
Общ. ЛП	8,1±1,3	39,0±3,8	47,1±4,0	114,6±7,3	18,2±2,6	132,8±6,9	4,7±1,2	0,9±0,2	5,6±1,2	185,5±7,8
Мод. ЛП	3,6±0,6	9,7±1,8	13,3±2,0	76,8±5,8	15,0±2,7	91,7±6,1	3,7±0,8	0,6±0,1	4,3±0,8	109,3±6,8
Ст. мод.	44,4	24,9	28,2	67,0	82,4	69,1	78,7	66,6	76,8	58,9
Триглицериды										
Общ. ЛП	2,9±0,5	14,3±1,4	17,2±1,5	59,0±5,0	24,2±3,5	83,2±4,5	13,3±2,9	8,8±1,5	22,2±3,6	122,6±6,5
Мод. ЛП	1,3±0,2	3,6±0,7	4,9±0,7	34,6±3,6	19,9±3,6	54,5±4,4	10,1±1,9	5,9±1,3	16,1±2,7	75,3±5,5
Сумма всех компонентов ЛП (холестерин, триглицериды, фосфолипиды, апо-белки)										
Общ. ЛП	91,1±15,0	237,2±23,0	328,3±26,8	391,6±25,4	79,3±11,2	469,9±23,6	28,5±6,6	12,2±2,1	40,9±7,4	838,9±35,0
Мод. ЛП	41,6±6,8	60,0±11,1	101,6±13,6	257,5±19,3	64,3±11,7	321,9±21,3	22,0±4,3	8,2±1,8	30,4±5,4	453,5±28,3
Нормолипемия, n = 120										
Холестерин (Ка = 1,6)										
Общ. ЛП	19,6±3,0	46,7±3,7	66,2±4,1	68,1±5,0	23,3±3,3	91,5±5,1	12,8±1,6	1,2±0,1	14,0±1,6	171,7±6,8
Мод. ЛП	4,5±0,9	19,4±3,6	23,8±3,7	28,2±5,4	14,5±3,4	42,7±6,8	4,3±1,1	0,5±0,1	4,8±1,2	71,2±8,6
Ст. мод.	22,9	41,5	35,9	41,4	62,2	46,6	33,6	41,6	34,3	41,5
Триглицериды										
Общ. ЛП	7,4±1,2	17,8±1,5	25,2±1,6	30,9±2,4	31,1±4,5	62,0±3,9	33,5±3,7	11,2±1,1	44,6±4,4	131,9±6,9
Мод. ЛП	1,6±0,3	7,1±1,3	8,7±1,4	10,8±2,2	19,2±4,5	30,1±5,2	11,9±2,8	4,2±0,9	16,2±3,4	54,8±7,2
Сумма всех компонентов ЛП (холестерин, триглицериды, фосфолипиды, апо-белки)										
Общ. ЛП	208,8±29,5	327,6±29,1	536,4±36,6	227,1±15,9	100,8±14,4	327,8±17,7	74,4±8,6	15,5±1,5	89,9±9,5	954,2±43,1
Мод. ЛП	50,7±10,7	118,2±22,1	168,9±24,7	98,8±19,2	62,4±14,6	161,1±26,1	25,9±6,4	5,5±1,3	31,7±7,1	361,7±42,9

Примечание: Общ.ЛП — общие ЛП; Мод.ЛП — модифицированные ЛП; Ст. мод. — степень модификации ЛП (%); Ка = (ОХС-ХСЛПВП)/ХСЛПВП — индекс атерогенности (по холестерину).

ЛПНП₁₋₃, ЛПОНП₃₋₅). А именно, уровень фракции ЛПВП (за счет подфракции ЛПВП₃) оказался на 29% ниже, уровень фракции ЛПНП (за счет подфракции ЛПНП₁₋₃) на 45 % выше и уровень фракции ЛПОНП (за счет подфракции ЛПОНП₃₋₅) на 60 % ниже «нормативных» значений. В то же время не выявлено достоверных отличий между средними значениями общих ЛП для половых и возрастных групп больных РА. Однако концентрации модифицированных ЛП и, соответственно, степени их модификации имели достоверные отличия у мужчин и женщин и в возрастных группах больных РА (табл. 2).

исходило за счет фракций ЛПНП и ЛПОНП, имелась четкая тенденция к повышению этого уровня от молодых возрастных групп к более пожилым, достигая 90% и даже 100 % (ЛПНП, ЛПОНП₁₋₂, ЛПОНП₃₋₅). Неожиданно низким (даже по сравнению с нормолипемией) оказался уровень модификации ЛП у фракции ЛПВП в целом.

В работе впервые получены результаты фенотипирования (по фракционно-компонентному составу сывороточных ЛП крови) такого сложного иммунного заболевания, как РА. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности применения метода МУРР для определения фракцион-

Таблица 2

СПЕКТРЫ СЫВОРОТОЧНЫХ ЛП (ПО ХОЛЕСТЕРИНУ) У БОЛЬНЫХ РА, УСРЕДНЕННЫЕ ПО ПОЛУ И ВОЗРАСТНЫМ ПЕРИОДАМ (В МГ/ДЛ)

ЛП	ЛПВП ₃	ЛПВП ₂	ЛПВП	ЛПНП ₁₋₃	ЛПНП	ЛПНП	ЛПОНП ₃₋₅	ЛПОНП ₁₋₂	ЛПОНП	ЛП(Все)
Мужчины, n = 15, ср. возраст 42,9±4,8 года (Ка = 3,0)										
Общ. ЛП	7,8±3,1	35,9±9,7	43,7±9,6	100,9±13,1	23,0±6,9	123,9±11,9	6,9±3,1	0,8±0,2	7,7±3,3	175,3±12,0
Мод.ЛП	4,8±1,8	11,7±4,3	16,5±4,0	60,0±13,0	16,9±7,2	76,8±13,8	5,5±2,4	0,7±0,3	6,2±2,5	99,5±15,4
Ст. мод.	61,5	32,6	37,8	59,5	73,5	62,0	79,7	87,5	80,5	56,8
Женщины, n = 88, ср. возраст 47,4±2,6 лет (Ка = 2,9)										
Общ. ЛП	8,2±1,5	39,5±4,1	47,7±4,4	117,0±8,2	17,4±2,8	134,3±7,8	4,3±1,2	0,9±0,2	5,2±1,3	187,2±8,9
Мод.ЛП	3,4±0,6	9,4±2,0	12,8±2,2	79,6±6,2	14,7±2,9	94,2±6,6	3,4±0,8	0,6±0,1	4,0±0,9	110,9±7,4
Ст. мод.	41,5	23,8	26,8	68,0	84,5	70,1	79,1	66,7	76,9	59,2
Возраст 20 – 35 лет, n = 19, ср. возраст 28,7±1,9 лет (Ка = 3,0)										
Общ. ЛП	6,0±2,2	32,8±7,1	38,8±7,8	90,1±10,6	20,7±4,7	110,7±12,8	5,8±2,8	0,9±0,3	6,7±2,9	156,2±15,2
Мод.ЛП	3,5±1,3	6,3±3,4	9,7±4,0	64,4±5,0	13,7±6,2	78,1±8,0	5,5±2,1	0,8±0,3	6,3±2,3	94,0±11,0
Ст. мод.	58,3	19,2	25,0	71,5	66,2	70,6	94,8	88,9	94,0	60,2
Возраст 36 – 50 лет, n = 39, ср. возраст 42,5±1,3 года (Ка = 2,8)										
Общ. ЛП	8,9±2,4	39,8±6,6	48,7±6,3	114,5±12,2	17,5±4,1	132,0±10,9	4,7±2,0	0,9±0,2	5,6±2,1	186,3±12,9
Мод.ЛП	3,4±1,0	10,1±2,9	13,5±3,1	77,7±9,4	16,6±4,4	93,9±10,4	3,7±1,3	0,7±0,2	4,4±1,4	111,7±11,9
Ст. мод.	38,2	25,4	27,7	67,9	94,9	71,1	78,7	77,8	78,6	60,0
Возраст 51 – 65 лет, n = 33, ср. возраст 54,8±1,5 года (Ка = 3,3)										
Общ. ЛП	7,2±1,9	36,6±5,9	43,8±6,4	121,0±11,6	19,3±5,3	140,3±11,4	4,9±2,0	1,0±0,3	6,0±2,1	190,0±11,1
Мод.ЛП	3,9±1,0	9,5±2,8	13,4±2,9	72,7±10,5	15,9±5,1	88,6±10,9	3,0±1,1	0,5±0,2	3,5±1,2	105,4±10,9
Ст. мод.	54,2	26,0	30,6	60,1	82,4	63,2	61,2	50,0	58,3	55,5
Возраст 66 лет и старше, n = 12, ср. возраст 67,4±1,0 лет (Ка = 2,4)										
Общ. ЛП	11,5±4,9	52,7±10,1	64,2±12,9	136,4±24,7	13,3±6,4	149,7±21,9	2,1±0,9	0,7±0,5	2,8±1,0	216,6±22,1
Мод.ЛП	3,9±2,0	14,4±7,3	18,3±8,5	104,6±18,1	9,7±5,2	114,3±16,4	2,8±1,7	0,7±0,5	3,5±2,1	136,0±17,9
Ст. мод.	33,9	27,3	28,5	76,7	72,9	76,4	100	100	100	62,8

Примечание: Общ.ЛП – общие ЛП; Мод.ЛП – модифицированные ЛП; Ст. мод. – степень модификации ЛП (%).

Следует отметить, что и у пациентов с РА с нормолипемией средний уровень модифицированных ЛП составлял около 40 %, причем наименее подвержена модификации была подфракция ЛПВП₃ (22,9 %) а наиболее – подфракция ЛПНП (62,2%). Средний уровень модификации ЛП составил около 60 %, причем наименее подвержена модификации оказалась подфракция ЛПВП₂ (24,9 %) а наиболее – подфракция ЛПНП (82,4 %). Значительное повышение уровня модификации ЛП у больных РА про-

но-компонентного состава ЛП непосредственно в цельных плазмах или сыворотках крови. Впервые детальный фракционно-компонентный состав ЛП определялся как для общих, так и для модифицированных ЛП. Это позволило получить оценки степени модификации каждой из подфракций ЛП: ЛПВП₃, ЛПВП₂, ЛПНП₁₋₃, ЛПНП, ЛПОНП₃₋₅ и ЛПОНП₁₋₂.

Представленные в табл. 1-3 результаты показывают, что получена новая информация о наруше-

Таблица 3

 СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О СПЕКТРЕ ЛП
И ЛИПИДОВ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ
(НОРМОЛИПЕМИЯ [9, 43]) И У БОЛЬНЫХ РА

Фракции ЛП	Нормо- липемия (n = 120) Ср. знач., мг/дл	Д.и. (Норм.)+ Д.и.(РА), %	Ревма- тоидный артрит (n = 103) Ср. знач., мг/дл	Откло- нение ср. зна- чений, %
Холестерин				
ЛПВП3	19,6 ± 3,0	22,2	8,1 ± 1,3	-58,6
ЛПВП2	46,7 ± 3,7	16,0	39,0 ± 3,8	-16,5
ЛПВП	66,2 ± 4,1	12,2	47,1 ± 4,0	-28,8
ЛПНП1-3	68,1 ± 5,0	18,1	114,6 ± 7,3	68,3
ЛПНП	23,3 ± 3,3	25,3	18,2 ± 2,6	-21,9
ЛПНП	91,5 ± 5,1	13,1	132,8 ± 6,9	45,1
ЛПОНП3-5	12,8 ± 1,6	21,5	4,7 ± 1,2	-63,3
ЛПОНП1-2	1,2 ± 0,1	21,0	0,9 ± 0,2	-25,0
ЛПОНП	14,0 ± 1,6	20,0	5,6 ± 1,2	-60,0
ЛП (все)	171,7 ± 6,8	8,5	185,5 ± 7,8	8,0
Триглицериды				
ЛПВП3	7,4 ± 1,2	22,9	2,9 ± 0,5	-60,8
ЛПВП2	17,8 ± 1,5	16,3	14,3 ± 1,4	-19,6
ЛПВП	25,2 ± 1,6	12,3	17,2 ± 1,5	-31,7
ЛПНП1-3	30,9 ± 2,4	23,9	59,0 ± 5,0	90,9
ЛПНП	31,1 ± 4,5	25,7	24,2 ± 3,5	-22,2
ЛПНП	62,0 ± 3,9	13,5	83,2 ± 4,5	34,2
ЛПОНП3-5	33,5 ± 3,7	19,7	13,3 ± 2,9	-60,3
ЛПОНП1-2	11,2 ± 1,1	23,2	8,8 ± 1,5	-21,4
ЛПОНП	44,6 ± 4,4	17,9	22,2 ± 3,6	-50,2
ЛП (все)	131,9 ± 6,9	10,1	122,6 ± 6,5	-7,0
Суммарные ЛП, включающие все компоненты				
ЛПВП3	208,0 ± 29,5	21,4	91,1 ± 15,0	-56,2
ЛПВП2	327,6 ± 29,1	16,0	237,2 ± 23,0	-27,6
ЛПВП	536,4 ± 36,6	11,8	328,3 ± 26,8	-38,8
ЛПНП1-3	227,1 ± 15,9	18,2	391,6 ± 25,4	72,4
ЛПНП	100,8 ± 14,4	25,4	79,3 ± 11,2	-21,3
ЛПНП	327,8 ± 17,7	12,6	469,9 ± 23,6	43,3
ЛПОНП3-5	74,4 ± 8,6	20,4	28,5 ± 6,6	-61,7
ЛПОНП1-2	15,5 ± 1,5	23,2	12,2 ± 2,1	-21,3
ЛПОНП	89,9 ± 9,5	18,8	40,9 ± 7,4	-54,5
ЛП (все)	954,2 ± 43,1	8,2	838,9 ± 35,0	-12,1

Примечание: Д.и. — доверительный интервал (при $p < 0,05$); выделены достоверные отклонения значений параметров от нормолипемии

ниях липопротеинового обмена при РА, поскольку определены концентрации всех пяти компонентов во всех основных классах и подклассах общих и

модифицированных ЛП. Полученные результаты могут быть использованы в клинической практике для разработки новых подходов к лечению РА, а также для проведения научных исследований. Перспективным представляется применение новой методики анализа ЛП по определению фракционно-компонентного состава общих и модифицированных ЛП для улучшения диагностики РА, путем сравнения получаемой аналитической информации с показателями липопротеинового спектра у здоровых доноров и при других типах ДЛП. Требуется также изучения возможность использования высокоинформативного метода анализа сывороточных ЛП крови для оценки эффективности лечения РА.

Выводы

1. Липидный и ЛП спектры больных РА характеризуются низким уровнем подфракций ЛПНП и ЛПОНП₃₋₅, но высоким уровнем подфракции ЛПНП₁₋₃ у мужчин и женщин всех возрастных групп.

2. У больных РА средний уровень модификации ЛП составил около 60%, причем наименее подвержена модификации оказалась подфракция ЛПВП₂, а наиболее — подфракция ЛПНП.

3. Повышение уровня модификации ЛП у больных РА происходит за счет фракций ЛПНП и ЛПОНП, имеется тенденция к повышению этого уровня от молодых возрастных групп к более пожилым, что связано с повышением доли атерогенных ЛП.

4. Не выявлено достоверных отличий между средними значениями параметров спектров общих ЛП для половых и возрастных групп больных РА.

5. Особенностью спектра модифицированных ЛП у больных РА является неожиданно низкий (по сравнению с нормолипемией) уровень модификации ЛП у фракции ЛПВП в целом.

6. Определение ЛП и липопротеинового спектра общих и модифицированных липопротеинов сыворотки крови больных РА может иметь важное диагностическое и прогностическое значение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гилл Ф., Мюррей У., Райт М. Практическая оптимизация. М., Мир, 1985, 509с
2. Канская Н.В., Карпов Р.С. Способ определения модифицированных липопротеидов крови. А. С. №1720015А1. МКИ G01N 33/92. Приоритет от 25.10.89. Оpubл. 15.03.92. Бюлл. №10.
3. Канская Н.В., Карпов Р.С. Способ выявления лиц с фактором риска ишемической болезни сердца. А. С. №1327007, МКИ G01N 33/564, Приоритет от 26.07.85, Оpubл. 3.07.88г., Бюлл. №28.
4. Карпов Р.С., Канская Н.В., Осипов С.Г. Роль иммунной системы в развитии гиперлипидемий. Томск, Изд-во Томского университета, 1990, 165.
5. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. Рук-во для врачей. М., Харьков, Минск, Изд-во "Питер", 1999, 505.
6. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липопротеиды, дислипидемии и атеросклероз. Л., Медицина, 1984, 1-168.
7. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. С.-Петербург, Питер, 1995, 304.
8. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. М., Мир, 1993, 1, 225-98.
9. Невинский Г.А., Коровкина Е.С., Тузиков ФВ и соавт. Новый метод анализа сывороточных

- липопротеидов крови человека — новые возможности в диагностике дислипотеинемий. Наука — производству, 2003, 3(59), 20-5.
10. Невинский Г.А., Осипова Л.П., Коровкина Е.С., и соавт. Оценка состояния биологического здоровья популяции тундровых ненцев ямало-ненецкого автономного округа по данным анализа аутоантител и липопротеидов крови доноров. Радиационная биология. Радиоэкология, 2002, 42 (6), 726-32.
 11. Свергун Д.И., Фейгин Л.А. Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние. М., Наука, 1986, 280.
 12. Сердюк А.П., Шахов Ю.А., Нечаев А.С. и соавт. Субфракционные переходы липопротеидов высокой плотности *in vitro* в сыворотках с различными липидными спектрами. Биохимия, 1989, 54(10), 1686-92.
 13. Творогова М.Г., Перова Н.В. Основные реакции обмена липопротеидов в плазме крови. Кардиология, 1986, 24(4-6), 119-25.
 14. Тузиков Ф.В., Тузикова Н.А., Галимов Р.В., Панин Л.Е. Способ препаративного выделения фракции липопротеинов высокой плотности из плазмы или сыворотки крови. Патент РФ №2211040. МПК 7 A61 K 35/14, Приоритет от 4.10.2001г., Бюлл. изобретений №24 от 27.08.03г., Положит. решение о выдаче патента от 11.03.2003г.
 15. Тузиков Ф.В., Тузикова Н.А., Мистюрин Ю.Н. Способ анализа липопротеидов в плазме крови методом малоуглового рентгеновского рассеяния. Патент РФ №2099693, МКИ G01N 33/53, Приоритет от 22.12.93, Оpubл. 20.12.97, Бюлл. №35.
 16. Тузиков Ф.В., Тузикова Н.А., Анисимова Т.И., Галимов Р.В. Способ анализа липопротеинов в плазме или сыворотке крови методом малоуглового рентгеновского рассеяния. Патент РФ №2115121, МКИ G01N 33/49, Приоритет от 03.04.97, Оpubл. 10.07.97, Бюлл. №19.
 17. Тузиков Ф.В., Панин Л.Е., Тузикова Н.А., Поляков Л.М. Применение метода малоуглового рентгеновского рассеяния для оценки структурных изменений в липопротеинах высокой плотности. Биол. мембраны, 1996, 13(1), 71-8.
 18. Тузиков Ф.В., Тузикова Н.А., Панин Л.Е. и соавт. Определение фракционного состава липопротеинов крови методом малоуглового рентгеновского рассеяния. Биол. мембраны, 1998, 15(4), 421-33.
 19. Тузиков Ф.В., Тузикова Н.А., Панин Л.Е., Никитин Ю.П. Новый метод диагностики нарушений липидного обмена. Вестник РАМН, 1998, 3, 42-7.
 20. Холодова Ю.Д., Чаяло П.П. Липопротеины крови. Киев, Наукова думка, 1990, 208.
 21. Arend W.P., Dayer J.M. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum., 1995, 38, 151-60.
 22. Bacon P.A., Kitis G.D. The significance of vascular inflammation in rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis., 1994, 53, 621-2.
 23. Baumstark M.W., Kreutz W., Berg A., et al. Structure of human low-density lipoprotein subfractions, determined by x-ray small-angle scattering. Biochem. Biophys. Acta, 1990, 1037, 48-57.
 24. Bellamy M.F., Nealis A.S., Aitken J.W. et al. Structural changes in oxidised low-density lipoproteins and of the effect of the anti-atherosclerotic drug probucol observed by synchrotron X-ray and neutron solution scattering. Eur. J. Biochem., 1989, 183, 321-9.
 25. Brennan F.M., Maini R.N., Feldman M. TNF-alpha — a pivotal role in rheumatoid arthritis. Brit. J. Rheumatol., 1992, 31, 293-8.
 26. Chana R.S., Treleaven W.D., Cushley R.J., Steinbrecher U.P. Dynamic structure of the lower density lipoproteins. Incorporation of high levels of labelled lipids onto very low density lipoproteins. Biochem. Cell. Biol., 1990, 68, 180-8.
 27. Chapman M.J., Laplaud P.M., Luc G. et al. Further resolution of the low density lipoprotein spectrum in normal human plasma: physicochemical characteristics of discrete subspecies separated by density gradient ultracentrifugation. J. Lipid Res., 1988, 29, 442-58.
 28. Gotto A.M., Pownall H.J., Havel R.J. Plasma lipoproteins. Methods in Enzymology, 1986, 128, Part A, 3-122.
 29. Koopman W.J., Gay S. Do nonimmunologically mediated pathways play role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Rheum. Dis. Clin. North Amer., 1993, 19, 107-22.
 30. Laggner P., Muller K.W. The structure of serum lipoproteins as analysed by x-ray small-angle scattering. Quarterly Rev. Biophys., 1978, 11(3), 371-425.
 31. Luzzati V., Tardieu A., Aggerbeck L.P. Structure of serum low-density lipoprotein. J. Mol. Biol., 1979, 131, 435-73.
 32. Mills G.L., Lane P.A., Weech P.K. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. A guidebook to lipoprotein technique. Elsevier, 1984, 14, 512.
 33. Morrisett J.D., Jackson R.L., Gotto A.M., Jr. Lipoproteins: structure and function. Ann. Rev. Biochem., 1975, 44, 183.
 34. Myllykangas-Luosojarvi R.A., Aho K., Isomaki H.A. Mortality in rheumatoid arthritis. Sem. Arthr. Rheum., 1995, 25, 193-202.
 35. Panayi G.S., Lanchbury J.S., Kingsley G.H. the importance of the T cell in initiation and maintaining the chronic synovitis of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum., 1992, 35, 729-35.
 36. Pincus T., Callahan L.F. Taking mortality in rheumatoid arthritis seriously — predictive markers, socioeconomic status and comorbidity. J Rheumatol., 1986, 13, 841-5.
 37. Reilly P.A., Cosh J.A., Maddison P.J. et al. Mortality and survival in rheumatoid arthritis: a 25 year prospective study of 100 patients. Ann. Rheum. Dis., 1990, 49, 363-9.

38. Schumaker V.N., Puppione D.L. *Sequential flotation ultracentrifugation. Methods in Enzymology*, 1986. 128, Part A, 155-70.
39. Scott D.L., Symmons D.P., Coulton B.L., Popert A.J. *Long-term outcome of treating rheumatoid arthritis: results after 20 years. Lancet*, 1987, 1, 1108-11.
40. Shen B., Scanu A.M., Kezdy F.J. *Structure of human serum lipoproteins inferred from compositional analysis. Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 1977, 74(3), 837-41.
41. Tardieu A., Mateu L., Sardet C. et al. *Structure of human serum lipoproteins in solution. J. Mol. Biol.*, 1976, 101, 129-53.
42. Thompson G.R. *A handbook of hyperlipidemia. London: Current Science*, 1989, 236p.
43. Tuzikov F.V., Tuzikova N.A., Galimov R.V. et al. *General model to describe the structure and dynamic balance between different human serum lipoproteins and its practical application. Med. Sci. Monit.*, 2002, 8(6), 79-88.
44. Zvaifler N.J., Firestein G.S. *Pannus and pannocytes. Alternative models of joint destruction in rheumatoid arthritis. Arthr. Rheum.*, 1994, 37, 783-9.

Поступила 20.10.08

Abstract

A.E. Sizikov, F.V. Tuzikov, N.A. Tuzikova, R.V. Galimov, L.P. Konenkova, O.A. Gertsog, V.A. Kozlov

Features of lipid metabolism disturbances in patients with rheumatoid arthritis

Objective. To characterize specters of common and modified lipoproteins (LP) in serum of pts with rheumatoid arthritis (RA) according to age and sex and compare with healthy donors (with normal lipid level).

Material and methods. 103 pts with RA (88 female and 15 male) aged 21 to 69 years were included. Specters of common and modified LP in serum and plasma were evaluated with small-angle x-ray scattering.

Results. Low level of intermediate density lipoproteins (IDL) subfractions and very low density lipoproteins (VLDL) as well as high level of low density lipoproteins (LDL) was revealed in pts with RA. Mean level of LP modification was about 60%. High density lipoproteins (HDL) subfraction was least and IDL subfraction — most susceptible to modification. LP modification level increased due to LDL and VLDL fractions. This level had a tendency to increase with age because of elevation of atherogenic LP part. Mean values of common LP did not differ between sex and age groups of pts with RA. Unexpectedly low (in comparison with normal lipid content) level of LP modification of the whole fraction of HDL was the feature of modified LP specter in pts with RA.

Conclusion. Level of common and modified LP in blood plasma and serum of RA pts is connected with general state of lipid metabolism and immune defense factors balance. Low level of VLDL cholesterol and high level of LDL cholesterol as well as high degree of LP of these fractions modification may be probably considered as markers of RA activity.

Key words: *rheumatoid arthritis, lipids, lipoproteins, modified lipoproteins, small-angle x-ray scattering*