Влияние фосфолипидных частиц разного размера на уровень фосфолипидов и апопротеина F1 в субфракциях липопротеидов высокой плотности при инкубации с плазмой крови in vitro

В. А. Кудинов, Т. И. Торховская, Т. С. Захарова, Н. В. Медведева, В. Н. Каширцева, Е. И. Короткевич, О. М. Ипатова

«Научно-исследовательского института биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича», Москва

Абстракт

Цель. В последние годы показано, что способность липопротеидов высокой плотности (ЛВП) выводить из клеток холестерин зависит не только от их концентрации, но и от свойств, которые часто нарушены при атеросклерозе по еще не выясненным механизмам. Одним из способов повышения активности ЛВП считают обогащение их фосфолипидами (ФЛ). Исследовали влияние инкубации плазмы с разработанной ранее эмульсией ФЛ частиц диаметром менее 30 нм на субфракции ЛВП в сравнении действием более крупных липосом.

Методы. Эмульсию ультрамалых частиц (менее 30 нм), полученную из соевого фосфатидилхолина по разработанному ранее способу, и эмульсию с размером частиц 100-150 нм инкубировали с плазмой крови человека, после чего выделяли ультрацентрифугированием ЛВП2, ЛВП3 и оставшуюся после флотации липопротеидов – де липопротеидизированную плазму, содержавшую пре- β -ЛВП, и определяли в них уровни Φ Л и апопротеина A1.

Результаты. Показана фосфолипидация всех субфракций, наиболее выраженная при инкубации плазмы с ультрамалыми ФЛ частицами, с диаметром менее 30 нм. Максимальными были изменения содержания ФЛ и апоА1 в ЛВП2 – возрастание в среднем в 3–6 раз. В ЛВП3 и де липопротеидизированной плазме изменения составляли 30–50%, причем, в отличие от ФЛ, уровень в них апоА1 снижался, пропорционально концентрации внесённых ФЛ наночастиц. При этом впервые был показан противоположный характер изменений уровней апоА1 в ЛВП2 по сравнению с двумя другими фракциями. Такое перераспределение белка можно объяснить снижением их плотности и увеличением размера при обогащении фосфолипидами, что приводит к флотации с ЛВП2. Это подтверждается электрофорезом плазмы в агарозном геле. Отношение ФЛ/апоА1, считающееся существенным для холестерин-акцепторной активности, повысилось во всех фракциях ЛВП, особенно после инкубации с ультрамалыми частицами – в 2 раза.

Заключение. Инкубация плазмы с ультрамалыми ФЛ частицами менее 30 нм приводит к высокой степени фосфолипидации фракций ЛВП, с частичным перераспределением апо $A1\ \kappa$ ЛВП2. Это, как показано рядом авторов, должно приводить к повышению выведения клеточного холестерина. Результаты свидетельствуют о перспективности использования таких наносистем в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний – с целью повышения активности ЛВП и обратного транспорта холестерина и предотвращения прогрессирования поражения сосудов.

Ключевые слова: фосфолипидные наночастицы, ЛВП2, ЛВП2, апопротеид А1, фосфолипидация.

Influence of various sizes phospholipid particles for phospholipids and apoprotein A1 levels in high density lipoproteins subfractions after incubation with blood plasma in vitro

V. A. Kudinov, T. I. Torkhovskaya, T. S. Zakharova, N. V. Medvedeva, V. N. Kashirzeva, E. I. Korotkevich, O. M. Ipatova

Research Institute of biomedical chemistry of a name of V. N. Orekhovich, Moscow, Russia

Abstract

Objective. The ability of high density lipoproteids (HDL) for cell cholesterol efflux was shown in recent years to depend not only from their concentration, but also from their properties, that are often disturbed in atherosclerosis by as yet unclear mechanisms. One of the ways of HDL cholesterol accepting increase is thought their enrichment by phospholipids (PL). Here the influence of plasma incubation with earlier elaborated emulsion of PL particles with diameter 30 nm for HDL subfractions was studied, with comparison of effects of larger liposomes.

Methods. PL particles emulsion, prepared by earlier elaborated procedure from soy been phosphatidylcholine, and liposomes 100–150 nm were incubated with human plasma. HDL3 and remaining delipoproteidized plasma were isolated by ultracentrifugation and their PL and apoprotein A1 (apo A1) levels were determined.

Results. All HDL subfractions appeared to be phospholipidated, with more pronounced after incubation with ultrasmall, 30 nm PL nanoparticles. Maximal changes of both PL and apo A1 were in HDL2 – middle 3–6 fold increase. Changes in HDL3 and remaining plasma were in the range 30–50%. In contrast with PL, apo A1 level decreased, proportional with concentration of added PL nanoparticles. It was first shown the opposite character of apo A1 level as compared with other fractions after PL influence. Such redistribution of protein may be explained by decrease of particles densities with their sizes increase, that was supported by plasma agarose gel electrophoresis. Ratio PL/apo A1, that is considered to be important for cholesterol accepting activity, increased in all HDL sufractions, particularly after ultrasmall nanoparticles – two fold.

Conclusion. Incubation of plasma with PL particles less 30 nm results in high degree of phospholipidation of HDL2, HDL3 and remaining plasma, that have, as it was shown in a number of works, to stimulate cell cholesterol accepting activity. The results testify on prospectivity of such nanosystems usage in complex therapy of heart vessels diseases – for the goal of elevation of HDL activity and reverse cholesterol transport and for inhibition of atherosclerosis progression.

Keywords: *phospholipid nanoparticles, HDL2, HDL2, apoproteid A1, phospholipidation.*

Введение

В настоящее время не вызывает сомнения, что при коррекции нарушений липидного обмена с целью лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний необходимо наряду с ингибированием синтеза холестерина (XC) стимулировать процессы, ответственные за его выведение из организма [1Rosenson]. Транспорт XC от клеток периферических тканей в печень для выведения из организма (т.н. «обратный транспорт XC») осуществляется липопротеидами высокой плотности (ЛВП), поэтому их низкий уровень в плазме – как и повышенную концентрацию липопротеидов низкой и/или очень низкой плотности – относят к атерогенным типам дислипидемий [2]. В то же время терапия, направленная на повышение ХС ЛВП не приводила к ожидаемому улучшению клинических показателей у больных атеросклерозом [1]. Появляется всё больше данных, показывающих, что для эффективности обратного транспорта ХС важна не только концентрация ЛВП, но и их свойства – способность акцептировать ХС,

которая, как оказалось, варьирует у многих пациентов [3, 4]. В работе [5] было впервые показано, что именно это свойство частиц ЛВП, независимо от их концентрации, коррелирует со снижением степени поражения сосудов. В последние годы обратная связь ХС-акцепторной способности ЛВП с выраженностью и частотой случаев обострений коронарного атеросклероза показана во многих клинических исследованиях - как на пациентах, проходивших амбулаторное лечение или обследование, так и в условиях госпитализации, что детально рассмотрено в ряде обзоров (например, [3, 4] и др.). Фактически, дисфункциональность ЛВП можно считать еще одним, иногда скрытым и выявляющимся лишь в специальных экспериментах ex vivo [5], атерогенным типом дислипидемии [6].

В настоящее время еще не выяснено, какое из свойств ЛПВП является определяющим для обеспечения их ХС-акцепторного потенциала [6]. В ряде работ было показано, что акцепция ХС из клеток частицами ЛВП пропорциональна содержанию в них фосфолипидов (ФЛ) [7–9]. Обогащение ЛВП фосфолипидами («фосфолипидация»)

путем инкубации с эмульсией фосфатидилхолина (ФХ) значительно повышало акцепцию ими ХС из макрофагов [8, 9]. При этом в экспериментах с цельной плазмой или с суммарной фракцией липопротеидов преимущественное накопление ФХ наблюдали в ЛВП [8, 10], однако без отдельного исследования субфракций – ЛВП2 и ЛВП3.

Инфузионное введение эмульсий ФХ с апопротеином А1 (апо А1) [11] больным с выраженными проявлениями атеросклероза приводило к улучшению ангиографических показателей. Это считают обусловленным действием не апопротеина, а именно ФХ [7] – как «единственного агента, для которого показана способность вызывать регрессию экспериментального атеросклероза» (C.Day 1975, цит. по [7]). Сходная точка зрения высказывалась и в работе [12] – на основании данных по отсутствию выведения ХС апопротеинами из фрагментов атеросклеротической аорты человека, в отличие от активного выведения обогащенными ФХ реконструированными ЛВП, авторы объясняют антиатерогенное действие введения ФХ липосом у кроликов не прямым действием ФЛ, а усилением ХС-акцепторного действия ЛВП через их фосфолипидацию [12]. Рядом авторов высказывается предположения, что обогащение ЛВП фосфолипидами будет способствовать повышению их XC-акцепторных свойств («холестеринофильности»). Показано также, с использованием реконструированных ЛВП, что более высокое содержание в них ФЛ способствует следующему этапу обратного транспорта ХС (после его извлечения из клеток и этерификации) – выведению эфиров ХС к богатым триглицеридами липопротеидам [13].

Однако в настоящее время не разработано реальных подходов, которые позволяли бы осуществить фосфолипидацию ЛВП у человека. Сообщается об инфузии больным коронарной болезнью сердца ФЛ в форме липосом, приводившей к улучшению клинических показателей (медиируемой нитроглицерином артериальной дилатации) [14]. В то же время при инфузионном введении таких крупных частиц как липосомы (средний размер 100-500 нм) показаны и негативные последствия. Так, после еженедельного инфузионного введения больным липосом наблюдали повышение уровня триглицеридов [14]. По мнению Wroblewska c coавт.[15], это может быть связано с негативным влиянием липосом на липопротеидовый статус. Недостатком липосом является также их низкая коллоидная стабильность [16]. Более перспективными в этом отношении могли бы быть ФЛ частицы меньших размеров.

В ФБГУ «ИБМХ» РАМН разработан способ получения фосфолипидных частиц предельно малого размера (до 30 нм) на основе растительного ФХ [17, 18]. Предположительно такие частицы являются мицеллами, так как устойчивы в широком диапазоне осмотических условий. Ультрамалый размер частиц ФЛ обеспечивает их хорошую

переносимость при инфузионном введении [18], а также должен способствовать более активному взаимодействию с ЛВП и обогащению их фосфолипидами, с последующим повышением их XC-акцепторной активности. Целью настоящей работы было исследование взаимодействия таких ФЛ наночастиц с ЛВП при инкубации с плазмой крови, в сравнении с влиянием более крупных частиц – липосом (100–150 нм) того же состава. При этом оценивали степень фосфолипидации субфракций ЛВП – ЛВП2 и ЛВП3, – и оставшейся де липопротеидизированной плазмы (содержащей пре-β-ЛВП) путем одновременного анализа в них также и уровня основного белка, апоА1.

Материалы и методы

Приготовление эмульсий фосфолипидных частиц разного размера

Использовали соевый ФХ фирмы Липоид ГмбХ (Германия) Lipoid S100. 500 мг ФЛ суспендировали в 10 мл дистиллированной воды, и полученную грубую эмульсию подвергали обработке в различных условиях, в зависимости от размера получаемых частиц.

Для ФЛ мицелл, диаметром получения до 30 нм, эмульсию обрабатывали в течение 7 минут на ультразвуковом гомогенизаторе Bandelin Sonopuls HD 2200 с использованием стержня КЕ 78 при мощности 60-65% и затем фильтровали с помощью шприца с фильтрами, через фильтр с размером пор 0,22 мкм [17]. Для получения липосом диаметром 100-150 нм эмульсию перемешивали на Vortex в течение 4 минут, затем обрабатывали ультразвуком в течение 3 минут. Размер полученных наночастиц определяли методом динамического светорассеяния на приборе Zetasizer nano, series Mano ZS Malvern.

Полученные фосфолипидные эмульсии разводили дистиллированной водой последовательно в 10, 20, 40 и 80 раз, до концентраций ФЛ 50 мг/мл, 25 мг/мл, 12,5 мг/мл и 6,25 мг/мл, соответственно.

Инкубация плазмы с фосфолипидными эмульсиями.

Использовали плазму донорской крови человека. К 5,4 мл плазмы добавляли по 0.6 мл одного из перечисленных четырёх растворов (эмульсий) — с разными концентрациями ФЛ. Инкубировали при комнатной температуре 40 минут. В качестве контроля использовали инкубировали плазму с добавлением 0,6 мл физ. раствора.

Выделение и характеристика фракций липопротеидов.

липопротеиды после инкубации плазмы с ФЛ частицами или водой выделяли методом препаративного ультрацентрифугированиия на ультрацентрифуге Optima L-90 (фирмы Beckman Coulter)

с использованием NaBr для создания градиента плотности. Отбирали последовательно фракции с плотностью 1,071 г/мл, содержащие суммарно липопротеиды очень низкой и низкой плотности и свободные ФЛ частицы. После их удаления последовательно выделяли подфракции ЛВП2 и ЛВП3 в плотностях 1,125 и 1,23 г/мл соответственно. Выделенные подфракции и оставшуюся «де липопротеидизированную» плазму характеризовали по концентрации ФЛ и апопротеина А-I с помощью биохимического анализатора Global 240, BPCT BioSed (Италия). Использовали, соответственно, наборы производства Sentinel Diagnostics (Италия) и Erbo Lachema (Чехия). Было Проведено по 4 эксперимента для каждой концентрации добавляемых ФЛ частиц, с фракционированием плазмы и последующей статистической обработкой результатов с использованием t-критерия Стьюдента.

Электрофорез липопротеидов плазмы

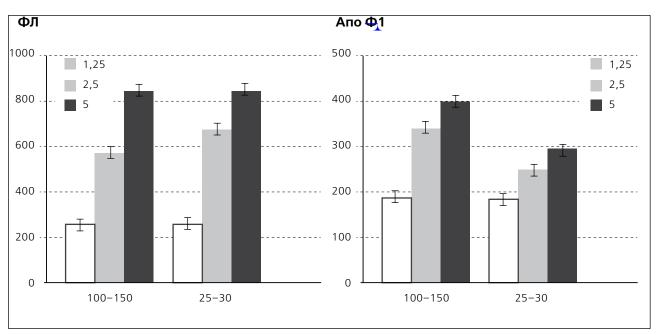
проводили на агарозном геле при рН 7.5 на полуавтоматической установке Hydrasis. липопротеиды окрашивали красителем суданом черным.

Результаты

Инкубация плазмы с фосфолипидными частицами приводила к изменениям концентраций ФЛ и апоА-1, характер которых был различным для двух анализируемых подфракций ЛВП. При этом в ряде случаев изменения проявлялись по-разному в зависимости от размера частиц. Наиболее выраженными были изменения обоих компонентов ЛВП2 (рис. 1).

Как видно из рисунка 1A, после инкубации плазмы с липосомами диаметром 100–150 нм при концентрациях 1,25 и 2,5 мг/мл уровень ФЛ

Рис. 1. Уровни фосфолипидов (ФЛ) и апопротеина А1 (АпоА1) во фракции ЛВП2 после инкубации плазмы с фосфолипидными частицами, в % от контроля (По оси абсцисс – размер ФЛ частиц, нм



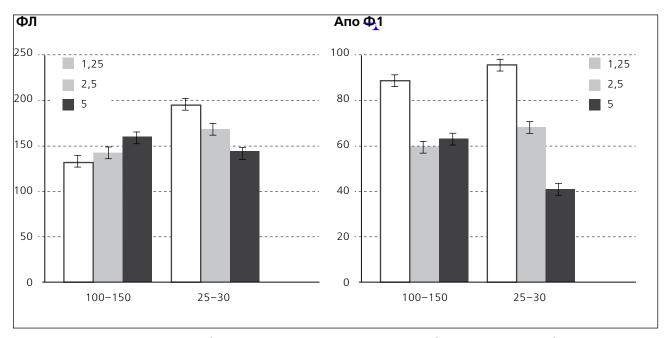
Примечание: в каждой группе столбцов – слева направо – концентрация добавленных ФЛ, мг/мл)

во фракции ЛВП2 возрастал соответственно в 3 и 6 раз по сравнению с таковым в ЛВП2 нативной плазмы. Для ФЛ мицелл (менее 30 нм) возрастание было еще более выраженным – в 4 и 7 раз, соответственно, что указывало на более интенсивный захват ФЛ. При максимальной использованной концентрации ФЛ наночастиц (5 мг/мл) прирост ФЛ был еще выше. Однако при такой концентрации ФЛ не наблюдалось влияния размеров НЧ на уровень фосфолипидации, очевидно, вследствие насыщения ЛВП2 фосфолипидами. Концентрация апоА1 в ЛВП2 также возрастала после инкубации плазмы с ФЛ наночастицами, однако в меньшей степени, – в среднем в 2–4 раза по сравнению с исходным уровнем (рис. 1Б).

Изменения в ЛВПЗ (рис. 2) и в де липопротеидизированной плазме (рис. 3) были выражены в меньшей степени. Так уровень ФЛ возрастал в среднем на 50% (рис. 2 A), а уровень апоА1 (рис. 2Б) наоборот, снижался.

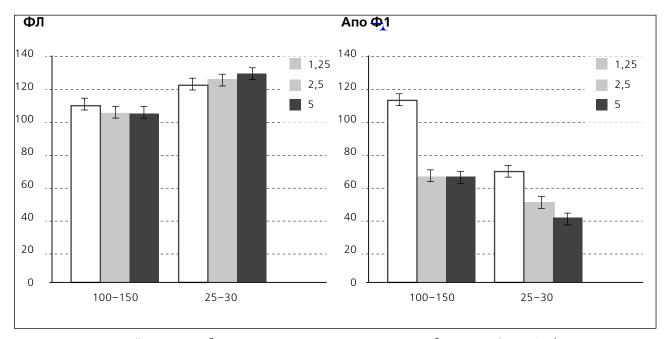
Сходная направленность изменений наблюдалось и для де липопротеидизированной плазмы (рис. 3). Небольшое возрастание в де липопротеидизированной плазме уровня ФЛ, в среднем на 20%, наблюдалось только после действия ФЛ мицелл, менее 30 нм (рис. 3A). Это может свидетельствовать о некоторой фосфолипидации циркулирующих в плазме пре-β-ЛВП, представляющих собой свободный или/и «слабо липидированный» («lipid poor») апоА1 и также способный акцептиро-

Рис. 2. Уровни фосфолипидов (ФЛ) и апопротеина А1 (Апо А1) во фракции ЛВПЗ после инкубации плазмы с фосфолипидными частицами, в % от контроля



Примечание: в каждой группе столбцов – слева направо – концентрация добавленных ФЛ, мг/мл)

Рис. 3. Уровни фосфолипидов (A) и апопротеина A1 (Б) в де липопротеидизированной плазме после инкубации цельной плазмы с фосфолипидными частицами, в % от контроля



Примечание: в каждой группе столбцов – слева направо – концентрация добавленных ФЛ, мг/мл)

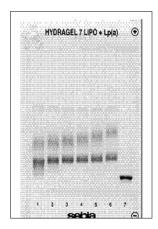
вать XC [7]. Уровень апоA1 (рис. 3Б) снижался, как и для $\Pi B\Pi_3$, на 60-40%. При этом, если для концентраций добавляемых $\Phi \Pi$ 2,5 и 5 мг/мл убыль апо A1 не зависела от размеров частиц, то для низкой концентрации 1,25 мг/мл влияние оказывали только $\Phi \Pi$ мицеллы.

Для выявления возможных изменений размеров частиц ЛВП при их обогащении ФЛ после

инкубации с ФЛ мицеллами был проведен электрофорез инкубированной плазмы в агарозном геле – в сравнении с исходной плазмой (рис. 4).

Следствием большего или меньшего обогащения всех субфракций ЛВП фосфолипидами, наряду с убылью апоА1 в ЛВПЗ и де липопротеидизированной плазме, явилось возрастание при инкубации с ФЛ наночастицами отношения ФЛ/апоА1

Рис. 4. Электрофорез липопротеидов плазмы крови после инкубации с ультрамалыми фосфолипидными частицами (< 30 нм)



Примечание: Обозначения:1, 2, 3, 4, 5 — плазма после инкубации с наночастицами при концентрациях ФЛ 10; 5; 2,5; 1,25 и 0.625 мг/мл, соответственно; 6 — исходная плазма; 7 — ФЛ-наночастицы

(табл. 1), считающегося существенным фактором в обеспечении XC-акцепторных свойств этих липопротеидов [10].

Как видно из табл. 1, степень увеличения отношения ФЛ/апоА1 возрастает со снижением размера частиц: липосомы с диаметром 100–150 нм повышали относительный уровень ФЛ в ЛВП2 и в ЛВП3 в 1,5 и 2 раза, соответственно, и в де липопротеидизированной плазме в среднем на 30%. А инкубация плазмы с ультрамалыми НЧ повышала вдвое это отношение для всех исследовавшихся фракций, с несколько большей интенсивностью (по сравнению с контролем) для фракции ЛВП2.

Обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют о нескольких выявленных закономерностях действия ФЛ наночастиц на ЛВП плазмы, с преимущественным влиянием ФЛ мицелл. Следует при этом отметить, что такое субфракционное детальное исследование фосфолипидации плазмы проведено нами

Таблица 1. Отношение ФЛ/апоА1 в субфракциях ЛВП и де липопротеидизированной плазме после инкубации плазмы с фосфолипидными частицами разного размера*

	Исходные значения	После инкубации плазмы с фосфолипидными частицами	
		100-150 нм	25 – 30 нм
$ЛВП_2$	0,99 + 0,03	1,60 + 0,10*	2,18 + 0,20**
ЛВП ₃	0,63 + 0,02	1,18 + 0,10*	1,32 + 0,10*
Де липопротеидизированная плазма	1,11 + 0,04	1,42 + 0,06*	2,16 + 0,20**

Примечание: # — концентрация добавленных $\Phi \Pi - 2,5$ мг/мл; ЛВП — липопротеиды высокой плотности; * достоверность по отношению к исходным значениям; P < 0,05;

впервые — ранее различные варианты подобных экспериментов, с использованием ФЛ липосом, проводились с анализом только суммарных ЛВП [7–10]. Результаты указывают на фосфолипидацию всех фракций ЛВП, что считают существенным для повышения их XC-акцепторной активности [10], однако в различной степени.

Наиболее выраженными оказались изменениях уровней и ФЛ, и апоА1 во фракции с меньшей плотностью, ЛВП2 . В ней наблюдалось возрастание обоих показателей в среднем в 3–6 раз (рис. 1), в то время как в других фракциях – ЛВП3 (рис. 2) и де липопротеидизированной плазме (рис. 3) диапазон изменений был в среднем 30–50%. Можно предположить, что причиной этого является флотация в этой плотности не только самих ЛВП2, обогащенных фосфолипидами, но и частиц, обладавших ранее большей плотностью и снизивших её в результате фосфолипидации, с соответствующим возрастанием объема. Увеличение размеров

частиц ЛВП за счет их обогащения фосфолипидами после инкубации с ультрамалыми (< 30 нм) ФЛ частицами подтверждается электрофорезом плазмы на агарозном геле (рис. 4) – по снижению электрофоретической подвижности α-фракции (суммарных ЛВП), пропорциональному концентрации добавляемых ФЛ. Общее количественное возрастание фракции ЛВП2, особенно под действием ФЛ мицелл (рис. 1), наряду с ее двукратным обогащением фосфолипидами (табл. 1), представляется существенным в свете недавно показанного снижения способности именно этой фракции ЛВП у больных метаболическим синдромом или мужчин на ранних стадиях коронарной болезни сердца к извлечению ХС из макрофагов [19].

В отличие от ЛВП2, в более тяжелых субфракциях – ЛВП3 и де липопротеидизированной плазме – изменения уровня ФЛ под действием обоих видов ФЛ частиц были противоположны таковым для апоА1: в этих фракциях наблюдалось возрастание

^{**} – достоверность по отношению к величинам после инкубации с частицами 100–150 нм, P < 0, 05.

ФЛ (рис. 2А и 3А), хоть и меньшее, чем в ЛВП2, и снижение апо А1(рис. 2Б и 3Б). По всей вероятности, одной из причин этого является переход некоторых частиц ЛВП3 и, возможно, и пре-β-ЛВП во фракцию ЛВП2 – в результате снижения их плотности за счет обогащения фосфолипидами. Переходя в ЛВП2 (и флотируя с ними при выделении) они переносят в нее и транспортируемый ими белок апоА1, вызывая его перераспределение, наблюдаемое в наших экспериментах – возрастание в ЛВП2 (рис. 1Б) при снижении в более плотных фракциях. Частицы с меньшим обогащением фосфолипидами остаются в прежних плотностях, но их количество снижается – что мы и видим по убыли в них апоА1 (рис. 2Б и 3Б).

Другие механизмы перераспределения апоА1 между субфракциями при инкубации плазмы с ФЛ наночастицами могут быть связаны с различными, не полностью еще изученными процессами, называемыми в целом «ремоделированием ЛВП», под которым подразумевают «конформационную адаптацию белков ЛВП к липидной нагрузке» и кинетические механизмы стабилизации частиц ЛВП [20] При этом возможна диссоциация апопротеина из частицы, слияние частиц [10, 20], обмен липидными компонентами с участием транспортных белков [13].

Изменений уровней обоих компонентов ЛВП под действием ФЛ наночастиц, разные для разных субфракций, приводят, однако к одному общему эффекту – возрастанию отношения ФЛ/ апоА1 (таблица 1), которое, по мнению [10], является существенным фактором, определяющим способность ЛВП к извлечению холестерина из макрофагов. Наиболее выраженным для всех фракций – в два раза - оно оказалось после инкубации с ультрамалыми НЧ. Для ЛВП2 этот суммарный эффект обусловлен вдвое большим увеличением количества ФЛ (рис. 1A), чем белка (рис. 1Б), а для ЛВПЗ и де липопротеидизированной плазмы – снижением апоА1 (в среднем на 50%) при относительно небольшом (на 20-30%) обогащении фосфолипидами (рис. 2 и 3).

Преимущественное ΦЛ влияние мицелл на фосфолипидацию субфракций ЛВП может быть связаны, помимо влияния большей площади поверхности частиц, также и с некоторыми не полностью еще изученными особенностями процессов ремоделирования ЛВП в условиях повышенной нагрузки фосфолипидами [13, 20]. Так, одно из объяснений может быть связано с показанными в работе [21] особенностями взаимодействия апоА-I с фосфолипидной мембраной. Авторы сравнивали взаимодействие апоА1 с фосфатидилхолиновыми частицами двух размеров, 20 нм и 100 нм, и показали большее взаимодействие с малыми частицами. Эти различия они связывают с большей аффинностью N – и C-терминальных спиральных участков белка к ФЛ при увеличении кривизны

поверхностного фосфолипидного слоя [22]. То же может иметь место и в наших экспериментах, с ФЛ частицами, сходными с используемыми в упомянутой работе, при взаимодействии с ними свободного апоА1, присутствующего в небольшом количестве в плазме [23]: этому взаимодействию также будет способствовать кривизна ФЛ поверхности [21], оказывающаяся наибольшей для частиц менее 30 нм.

По мнению [24], взаимодействие апоА1 с мембраной приводит к его фосфолипидации и последующему «циклическому движению» к другим частицам ЛВП в процессах «ремоделирования». При этом отмечают и одновременное формирование комплексов апоА1 с небольшим количеством ФЛ («lipid poor» апоА1, пре-β-ЛВП), присутствующих в де липопротеидизированной плазме [7, 24]. Влияние ФЛ мицелл на фракцию пре-β-ЛВП требует дальнейших исследований — из-за ее важности в процессе выведения ХС из клеток [7].

Заключение

Таким образом, инкубация плазмы с ФЛ частицами ультрамалого размера, менее 30 нм, приводит к высокой степени фосфолипидации фракций ЛВП, что как показано в ряде работ [7-10], должно приводить к повышению их способности к выведению клеточного ХС. Актуальность полученных результатов определяется многочисленными данными последних лет о высокой частоте нарушений этого свойства ЛВП, независимо от их концентрации, т. е. их дисфункциональности, коррелирующей с выраженностью и частотой случаев сердечнососудистых заболеваний. В этой связи результаты данной работы, с использованием разработанной нами ранее и показавшей хорошую переносимость композиции таких частиц [17, 18], могут служить убедительным доводом в пользу перспективности включения таких наносистем в комплексную терапию сердечно-сосудистых заболеваний – с целью повышения активности ЛВП и обратного транспорта ХС и предотвращения прогрессирования поражения сосудов.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы.

Конфликт интересов

Конфликт интересов отсутствует.

Список литературы

- 1. Rosenson RS, Brewer HB, Davidson WS, Fayad ZA, Fuster V, Goldstein J, Hellerstein M, Jiang XC, Phillips MC, Rader DJ, Remaley AT, Rothblat GH, Tall AR, Yvan-Charvet L. Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport. Circulation. 2012;125(15):1905-19.
- 2. Samorodskaya IV. Correction of dyslipidaemias in chronic CHD forms: the review of international recommendation. Atherosclerosis and Dyslipidaemias. 2017;4(29):24-33. Russian (Самородская И.В. Коррекция дислипидемии при хронических формах ИБС: обзор международных рекомендаций. Атеросклероз и Дислипидемии. 2017;4(29):24-33).
- 3. Annema W, von Eckardstein A. Dys functional high-density lipoproteins in coronary heart disease: implications for diagnostics and therapy. Transl Res. 2016;173:30-57.
- 4. Talbot CPJ, Plat J, Ritsch A, Mensink RP. Determinants of cholesterol efflux capacity in humans. Prog Lipid Res. 2017;69:21-32.
- 5. Kbera AV., Cuchel M, de la Llera-Moya M, Rodrigues A, Burke MF., Jafri K, French BC, Phillips JA, Mucksavage ML, Wilensky RL, Mohler ER., Rothblat GH, Rader DJ. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. N. Engl. J. Med. 2011;364(2):127-35.
- 6. Yamamoto S, Narita I, Kotani K. The macrophage and its related cholesterol efflux as a HDL function index in atherosclerosis. Clin Chim Acta. 2016;457:117-22.
- 7. Pownall HJ, Ehnholm C. Enhancing reverse cholesterol transport: the case for phosphatidylcholine therapy. Curr Opin Li pidol. 2005;16(3):265-8.
- 8. Pownall HJ. Detergent-mediated phospholipidation of plasma lipoproteins increases HDL cholesterophilicity and cholesterol efflux via SR-BI. Biochemistry. 2006;45(38):11514-22.
- 9. Tchoua U, Gillard BK, Pownall HJ. HDL superphospholipidation enhances key steps in reverse cholesterol transport. Atherosclerosis. 2010;209(2):430-5.
- 10. Hajj Hassan H, Blain S, Boucher B, Denis M, Krimbou L, Genest J. Structural modification of plasma HDL by phospholipids promotes efficient ABCA1-mediated cholesterol release. J Lipid Res. 2005;46(7):1457-65
- 11. Tardif JC. Emerging high-density lipoprotein infusion therapies: fulfilling the promise of epidemiology? J Clin Lipidol. 2010;4(5):399-404.
- 12. Cho BH, Park JR, Nakamura MT, Odintsov BM, Wallig MA, Chung BH Synthetic dimyristoyl-phosphatidylcholine li posomes assimilating into high-density li poprotein promote regression of atherosclerotic lesions in cholesterolfed rabbits. Exp Biol Med (Maywood). 2010;235(10):1194-203.
- 13. Rye KA, Duong MN. Influence of phospholipid depletion on the size, structure, and remodeling of reconstituted bigh density lipoproteins. J Lipid Res. 2000;41(10):1640-50.
- 14. Anderson T, Charbonneau F, Chan S, Lonn E. The effect of large unilamellar vesicles on vascular function in patients with coronary atherosclerosis. Atherosclerosis. 2008;200(2):424-31
- 15. Wryblewska M,Czy ewska M,Wolska A,Kortas-Stempak B,Szutowicz A. Apo A-II participates in HDL-liposome interaction by the formation of new pre-β mobility particles and the modification of liposomes. Biochim Biophys Acta. 2010;1801(12):1323-9
- 16 Grimaldi N., Andrade F., Segovia N., Ferrer-Tasies L., Sala S., Veciana J., Ventosa N. Li pid-based nanovesicles for nanomedicine. Chem Soc Rev. 2016;45(23):6520-45
- 17. Archakov AI, Guseva MK, Medvedeva NV, Uchaikin VPh, Ipatova OM, Tikhonova EG, Shironin AV, Storozhakov GI. Phospholi pid drug formulation with nanosize particles for treatment of lipid disorders, and comatose states and its manufacturing method. 2012. Russia Patent 2448715 (Арчаков А.И., Гусева М.К., Медведева Н.В., Учайкин В.Ф., Ипатова О.М., Тихонова Е.Г., Широнин А.В., Сторожаков Г.И. Фосфолипидная лекарственная композиция с наноразмером частиц для лечения нарушений липидного обмена и коматозных состояний и способ ее получения. 2012. Патент РФ 2448715)
- 18. Kudinov VA, Ipatova OM, Phyodorov IG, Totolyan GG, Merzlikina NN, Kovalyov OB, Torkhovskaya TI, Uchaikin VPh, Starovoitova IE, Milyutin DV, Nikonova SM. Study of effectivity of preparation phospholipovit for correction of liver encephalopathy. Biomed Chem. 2016;62(6):704-7. Russian (Кудинов В.А., Ипатова О.М., Федоров И.Г., Тотолян Г.Г., Мерзликина Н.Н., Ковалев О.Б., Торховская Т.И., Учайкин В.Ф., Старовойтова И.Э., Милютин Д.В., Никонова С.М., Исследование эффективности препарата фосфолиповит для коррекции печеночной энцефалопатии. Биомед. Хим, 2016, 62(6), 704-7)
- 19. Paavola T, Kuusisto S, Jauhiainen M, Kakko S, Kangas-Kontio T, Metso J, Soininen P, Ala-Korpela M, Bloigu R, Hannuksela ML, Savolainen MJ, Salonurmi T. Impaired HDL2-mediated cholesterol efflux is associated with metabolic syndrome in families with early onset coronary heart disease and low HDL-cholesterol level. PLoS One. 2017;12(2):e0171993. doi: 10.1371/journal.pone.0171993, eCollection 2017
- 20. Gursky O. Structural stability and functional remodeling of high-density lipoproteins. FEBS Lett. 2015;589(19 Pt A):2627-39

Оригинальные статьи

- 21. Vedbachalam C, Duong PT, Nickel M, Nguyen D, Dhanasekaran P, Saito H, Rothblat GH, Lund-Katz S, Phillips MC. Mechanism of ATP-binding cassette transporter A1-mediated cellular lipid efflux to apolipoprotein A-I and formation of high density lipoprotein particles. J Biol Chem. 2007;282:25123-30
- 22. Tanaka M, Dhanasekaran P, Nguyen D, Ohta S, Lund-Katz S, Phillips MC, Saito H. Contributions of the N and C-terminal helical segments to the lipid-free structure and lipid interaction of apolipoprotein A-I. Biochemistry. 2006;45(34):10351-8
- 23. Miyazaki O,Ogihara J,Fukamachi I,Kasumi T. Evidence for the presence of lipid-free monomolecular apoli poprotein A-1 in plasma. J Lipid Res. 2014;55(2):214-25.
- 24. Wryblewska M, Kortas-Stempak B, Szutowicz A, Badzio T. Phospholipids mediated conversion of HDLs generates specific apoA-II pre-beta mobility particles. J Lipid Res. 2009;50(4):667-75.

58