

<sup>1</sup>Королик А. К., <sup>1</sup>Дикевич А. Э., <sup>1</sup>Оганова Е. Г., <sup>2</sup>Короленко Е. А.,  
<sup>2</sup>Королик Е. В., <sup>3</sup>Иванов А. А.

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ОСНОВНЫХ ТРАНСПОРТНЫХ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ДИСЛИПИДЕМИЕЙ

<sup>1</sup> УЗ «9-я городская клиническая больница», г. Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси, г. Минск

<sup>3</sup> УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск

Известно, что липопротеины плазмы крови играют важную роль в развитии атеросклеротического поражения сосудов [1, 2]. Согласно современным представлениям, в патогенезе атеросклероза ведущую роль играют атерогенные липопротеины низкой и очень низкой плотности и их химические компоненты — холестерин и триглицериды. Изучение и коррекция нарушений липидного обмена — актуальная проблема практической медицины.

Цель работы: исследование структурно-функционального состояния основных транспортных белков плазмы крови — сывороточного альбумина человека и липопротеинов — у пациентов с тяжелыми формами дислипидемии, осложненными ишемической болезнью сердца и лакунарным инфарктом головного мозга, методами флуоресцентного зондирования и ИК спектроскопии.

В работе использовалась плазма крови здоровых доноров — контрольная группа (n = 34); пациентов с лакунарным инфарктом коры головного мозга и дислипидемией (n = 22) — группа 1; ишемической болезнью сердца (ИБС) и дислипидемией (n = 21) — группа 2. Для всех исследованных образцов был проведен биохимический анализ крови.

В работе были использованы следующие гидрофобные флуоресцентные зонды: 8-анилинонафталин-1-сульфонат (АНС) («Реахим», Москва, Россия) и Нильский красный (НК) («Sigma», США). Методические аспекты использования зондов с этой целью приведены в работе [3]. Спектры зондовой флуоресценции регистрировались на спектрофлуориметре SFL-1211A («СОЛАР», Минск, Беларусь). Альбумин является основным транспортным белком, связывающим анионный флуоресцентный зонд АНС в плазме крови [4]. Для получения более объективных данных, был использован флуоресцентный параметр ( $I_{\text{АНС}}/C_{\text{САЧ}}$ ) — интенсивность флуоресценции зонда АНС, нормированная на молярную концентрацию альбумина.

ИК спектры в области частот 4000–400 см<sup>-1</sup> регистрировались на ИК-фурье спектрометре Nexus 670 (Nicolet, США)

Статистическую обработку проводили по стандартизированной методике с использованием критерия Стьюдента и программы Microsoft Excel.

Интенсивность флуоресценции зонда АНС, нормированная на молярную концентрацию альбумина, была достоверно выше в обеих группах исследованных пациентов, по сравнению с контрольной группой (рис. 1). При этом связывание зонда АНС в плазме крови пациентов 2-й группы с ИБС достоверно выше, чем у пациентов 1-й группы (рис. 1). В тоже время, биохимический анализ плазмы крови показал, что средние значения концентраций альбумина для исследуе-

мых групп пациентов достоверно ниже, чем в контрольной группе (контрольная группа —  $44,0 \pm 1,42$ ; 1-я группа —  $34,0 \pm 1,42$ ; 2-я группа —  $31,40 \pm 1,42$  г/л).

Сравнительный анализ ИК спектров плазмы крови контрольной группы (рис. 2, кривая 1), пациентов с инфарктом мозга (рис. 2, кривая 2) и пациентов с ИБС (рис. 2, кривые 3, 4) показал, что отличия в исследуемых образцах плазмы крови наблюдаются только в областях  $3000\text{--}2800\text{ см}^{-1}$  и  $1800\text{--}1700\text{ см}^{-1}$ , которые обусловлены липидной составляющей липопротеинов [5].

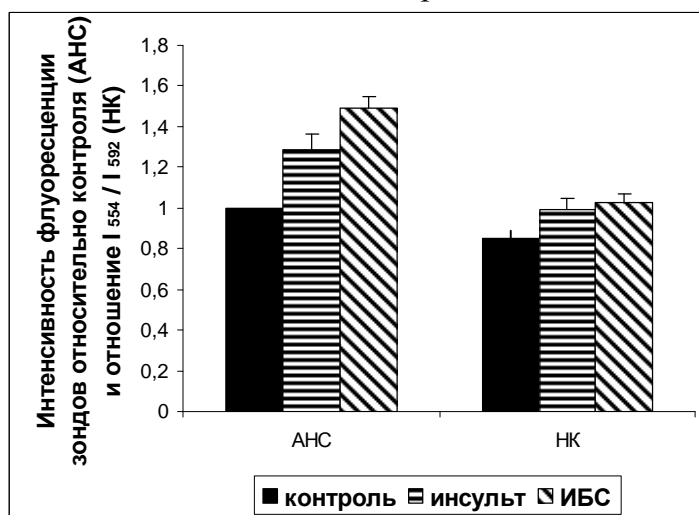


Рис. 1. Интенсивность флуоресценции зондов АНС и НК в плазме крови пациентов с инфарктом мозга и ИБС

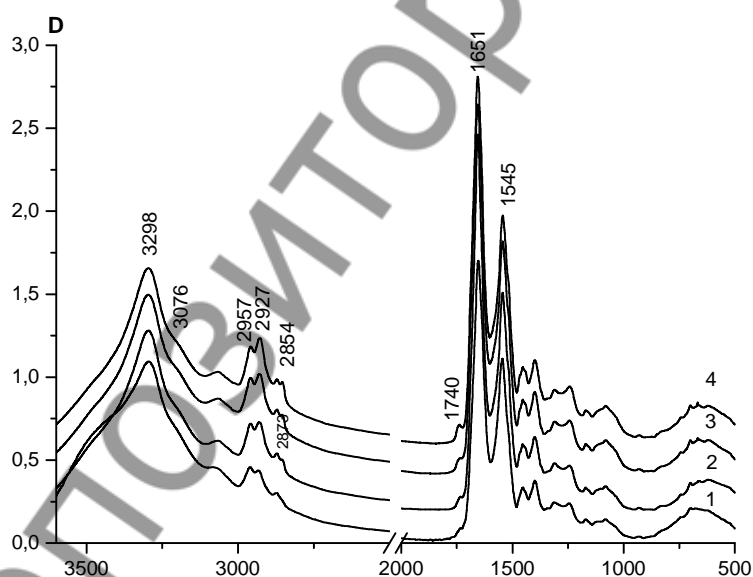


Рис. 2. ИК-фурье-спектры пленок плазмы крови контрольной группы (1), пациентов с инфарктом мозга (2) и ИБС (3, 4) в области частот  $3600\text{--}500\text{ см}^{-1}$  (спектры смещены по оси ординат для наглядности)

Форма контура, положение максимумов и относительные интенсивности полос Амид I ( $1651\text{ см}^{-1}$ ), Амид II ( $1545\text{ см}^{-1}$ ) и Амид III (интервал частот  $1350\text{--}1200\text{ см}^{-1}$ ) практически такие же, как в спектре плазмы крови контрольной группы (рис. 2, кривая 1). Так как полосы Амид I, Амид II и Амид III чувствительны к изменению вторичной и третичной структуры белков [9, 10], то это

может означать, что структура альбумина плазмы крови пациентов с инфарктом мозга, ИБС и контрольной группы примерно одинакова.

Отсутствие изменений во вторичной и третичной структуре альбумина пациентов свидетельствует о соответствующем отсутствии дополнительных связывающих центров на этом транспортном белке. Функциональная активность альбумина в этом случае должна либо оставаться в норме, либо снижаться за счет избыточного накопления отрицательно заряженных гидрофобных метаболитов. Однако, по данным флуоресценции зонда АНС, относительная связывающая способность плазмы пациентов по отношению к отрицательно заряженным гидрофобным метаболитам существенно повышается, особенно у пациентов с ИБС.

Известно, что анионный зонд АНС в плазме крови взаимодействует, в основном, с молекулами альбумина, но может реагировать и на поверхностный заряд липидных структур [3, 6]. Наблюдаемое увеличение связывающей способности зонда АНС в плазме крови у пациентов с инфарктом мозга и ИБС, возможно, обусловлено появлением дополнительных положительно заряженных групп на поверхности ЛПНП и ЛПОНП [6–8]. Это предположение хорошо согласуется с полученными данными по ИК спектроскопии, подтверждающей наличие структурных изменений в липидной части липопротеиновых структур у пациентов с инфарктом мозга и ИБС.

Был проведен анализ спектров синхронного сканирования нейтрального флуоресцентного зонда НК. Отношение  $I_{554}/I_{592}$  в спектрах флуоресценции зонда НК для всех образцов плазмы крови пациентов с дислипидемией (группы 1 и 2) было достоверно выше, чем для контрольной группы (см. рис. 1). Наблюдаемое увеличение флуоресцентного параметра  $I_{554}/I_{592}$  указывает на перераспределение связывания зонда НК между фракциями липопротеинов низкой и очень низкой плотности и альбумином в сторону липопротеинов, и зависит от суммарного содержания в плазме крови ЛПНП и ЛПОНП. При этом следует отметить, что отношение  $I_{554}/I_{592}$  в спектрах флуоресценции зонда НК для образцов плазмы крови пациентов с ИБС несколько выше, чем для пациентов с лакунарным инфарктом мозга. Это согласуется с данными биохимического анализа, отражающими повышение суммарного содержания ЛПНП и ЛПОНП в плазме крови пациентов обеих групп, в большей степени при ИБС, на фоне снижения содержания альбумина по сравнению с контрольной группой.

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что при отсутствии изменений во вторичной и третичной структуре альбумина, повышение связывания анионных гидрофобных метаболитов в плазме крови пациентов с дислипидемией с ишемической болезнью сердца и лакунарным инфарктом мозга по сравнению с донорами, обусловлено, по всей вероятности, структурными изменениями в ЛПНП и ЛПОНП. Наблюдаемое более сильное увеличение связывания анионного гидрофобного зонда АНС в плазме крови пациентов с ИБС свидетельствует в пользу гипотезы о разном структурно-функциональном статусе липопротеиновых частиц в норме, при ИБС и инфаркте мозга. Наиболее высокая «агрессивная» активность липопротеинов низкой и очень низкой плотности в отношении анионных гидрофобных субстанций отмечается при ИБС. Подобный вывод позволяет предположить большую клиническую эффективность мер по

снижению уровня холестерина (использование диеты, медикаментозной терапии, эфферентных методов) у пациентов с ИБС по сравнению с пациентами, имеющих инсульт в анамнезе. Исследования в данном направлении представляются нам крайне перспективными с точки зрения практической медицины.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Белорусского фонда фундаментальных исследований (грант Ф11ОБ-007).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Аронов, Д. М.* Лечение и профилактика атеросклероза / Д. М. Аронов. М. : Триада-Х, 2000. 411 с.
2. *Кухарчук, В. В.* // Системные гипертензии. 2007. № 2. С. 35–43.
3. *Ivanov, A. I.* [et al.] // Clin. Exp. Med. 2002. Vol. 2. P. 147–155.
4. *Короленко, Е. А.* [и др.] // Журн. прикл. спектр. 2007. № 4. С. 507–511.
5. *Krilov, D.* [et al.] // J. Brnjac-Rraljevic. Spectrochimica Acta Part A. 2009. Vol. 73. P. 701–706.
6. *Формазюк, В. Е.* [и др.] // Вопросы медицинской химии. 1980. № 4. С. 540–545.
7. *Формазюк, В. Е., Добрецов Г. Е., Владимиров Ю. А.* // Вопросы медицинской химии. 1981. № 1. С. 125–128.
8. *Ландау, М. А.* Молекулярная природа отдельных физиологических процессов / М. А. Ландау. М. : Наука, 1985. 259 с.
9. *Shaw, A. R., Mantsch H. H.* // Encyclopedia of Analytical Chemistry / eds. R. A. Meyers, J. Wiley and Sons Ltd. Chichester, 2000. P. 1–20.
10. *Bath, A.* // Biochim. Biophys. Acta (BBA). Bioenergetics. 2007. Vol. 1767. P. 1073–1101.