

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.153.915-074

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

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛИПОПРИНТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ СУБФРАКЦИОННОГО СПЕКТРА ЛИПОПРОТЕИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава России, 101990, г. Москва, Российская Федерация

Липопротеины низкой и высокой плотности (ЛПНП и ЛПВП) представлены гетерогенным спектром частиц, различающихся по размеру, плотности, заряду, составу и функциональным свойствам. Преобладание мелких плотных частиц ЛПНП и ЛПВП в плазме крови сопряжено с повышенным риском развития коронарной болезни сердца (КБС). Определение субфракционного спектра липопротеинов в клинических целях затруднено: требуются дорогостоящие оборудование и реактивы, длительное время исполнения. Липопринт-система (Quantimetrix Lipoprint LDL/HDL System, США), в основе которой лежит вертикальный электрофорез с использованием 3% полиакриламидного геля, позволяет сократить время субфракционирования липопротеинов до 3 ч. В спектре апоВ-содержащих липопротеинов выделяют липопротеины очень низкой плотности, промежуточной плотности С, В, А, ЛПНП1 и 2, мелкие плотные (ЛПНП3—7). В спектре ЛПВП выделяют до 10 субфракций, объединенных в три группы и представленных крупными (ЛПВП1—3), промежуточными (ЛПВП4—7) и мелкими (ЛПВП8—10) частицами. В работе описана методика определения спектра частиц ЛПНП и ЛПВП в сыворотке крови человека, приведены условия выполнения экспериментов, указаны достоинства и ограничения метода, приведен ряд примеров использования показателей субфракционного спектра липопротеинов в качестве дополнительных маркеров оценки атерогенности липидного профиля. Сделано заключение о возможности использования метода в клинической лабораторной диагностике.

Ключевые слова: липопротеины низкой плотности; липопротеины высокой плотности; субфракционный спектр липопротеинов крови; липопринт-система; коронарный атеросклероз.

Для цитирования: Озерова И.Н., Метельская В.А., Перова Н.В., Гаврилова Н.Е., Бойцов С.А. Использование Липопринт-системы для исследования субфракционного спектра липопротеинов сыворотки крови. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (5): 271-275

DOI 10.18821/0869-2084-2016-5-271-275

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

THE APPLICATION OF LIPOPRINT-SYSTEM FOR ANALYSIS OF SUB-FRACTIONAL SPECTRUM OF LIPOPROTEINS OF BLOOD SERUM

The state research center of preventive medicine of Minzdrav of Russia, 117334 Moscow, Russia

The lipoproteins of low and high density are presented by heterogeneous specter of particles differing by size, density, charge, composition and functional characteristics. The prevalence of small dense particles of lipoproteins of low and high density in blood plasma is associated with higher risk of development of coronary heart disease. The identification of sub-fractional spectrum of lipoproteins in clinical purposes is complicated because of requirement of expensive equipment and reagents and extended time of implementation. The lipoprint-system (Quantimetrix Lipoprint LDL/HDL System, USA) based on the vertical electrophoresis using 3% polyacrilamid gel, permits shortening time of sub-fractioning of lipoproteins up to three hours. In the spectrum of apoB-containing lipoproteins of very low density, intermediate density, C, B, A, lipoproteins of low density 1 and 2, small dense (lipoproteins of low density 3-7) are singled out. In the spectrum of lipoproteins of high density up to 10 sub-fractions associated in three groups and represented by large (lipoproteins of high density 1-3), intermediate (lipoproteins of high density 4-7) and small (lipoproteins of high density 8-10) particles are singled out. The article describes technique of identification of spectrum of particles of lipoproteins of low and high density in human blood serum. The conditions of implementation of experiments are presented. The advantages and limitations of technique are indicated. The number of examples of application of indices of sub-fractional spectrum of lipoproteins as additional markers of evaluation of atherogeneity of lipid profile are presented. The conclusion is made concerning possibility of application of technique in clinical laboratory diagnostic.

Key words: lipoproteins of low density; lipoproteins of high density; sub-fractional specter of lipoproteins of blood; lipoprint-system; coronary atherosclerosis.

For citation: Ozerova I.N., Metelskaya V.A., Perova N.V., Gavrilova N.E., Boytsov S.A. The application of lipoprint-system for analysis of sub-fractional spectrum of lipoproteins of blood serum. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2016; 61 (5): 271-275. (in Russ.)

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-5-271-275

For correspondence: Ozerova I.N., candidate of biological sciences, leading researcher. e-mail: viozerova@gnicpm.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Financing. The study had no sponsor support.

Received 25.02.2016
Accepted 15.03.2016

Для корреспонденции: Озерова Ирина Николаевна, канд. биол. наук, вед. научн. сотр. ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава России, 101990, Москва, Россия, e-mail: iozerova@gnicpm.ru

В многочисленных исследованиях показано, что повышенный уровень в крови холестерина (ХС) липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) наряду с низкой концентрацией ХС липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) сопряжен с повышенным риском развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), связанных с атеросклерозом [1—3]. Вместе с тем у значительной части больных коронарной болезнью сердца (КБС) наблюдается нормальный или даже сниженный уровень ХС ЛПНП и/или повышенная концентрация ХС ЛПВП. Следует отметить, что традиционные факторы риска, включая дислипидемию, не всегда позволяют правильно идентифицировать пациентов, попадающих в группу с нормальным профилем риска или находящихся на границе. Действительно, у лиц со схожим профилем риска часто отмечается различный уровень поражения коронарных артерий и различный путь развития кардиоваскулярных событий. Таким образом, традиционные схемы определения риска развития КБС и ее острых осложнений нуждаются в дальнейшем совершенствовании, поскольку абсолютное большинство коронарных событий происходит в группах низкого и умеренного риска.

Липопротеины плазмы крови представлены гетерогенным спектром частиц, различающихся по плотности, размеру, электрическому заряду, химическому составу и функциональной активности [3]. R. Krauss и M. Austin в 1986 г. описали два фенотипа частиц ЛПНП, различающихся по размеру: тип А с нормальным липопротеиновым профилем, для которого характерно преобладание крупных частиц ЛПНП (размер частиц более 26,5 нм, или 265 Å), и патологический, или атерогенный тип В с преобладанием мелких плотных частиц ЛПНП (размер частиц менее 26,5 нм). Мелкие плотные частицы ЛПНП считаются более атерогенными, поскольку их сродство к ЛПНП (апоВ, Е) — рецепторам тканей и печени снижено, что приводит к пролонгированному присутствию их в крови и повышенной подверженности окислению; в то же время они легко проникают в субэндотелиальное пространство сосудистой стенки и активно захватываются присутствующими там макрофагами [2, 3]. У пациентов с высоким уровнем мелких плотных частиц ЛПНП риск развития КБС повышается в 3 раза и не зависит от концентрации ХС ЛНП в плазме крови [1].

В эпидемиологических исследованиях показана обратная корреляционная связь между уровнем ХС ЛПВП и риском развития КБС [4—6]. Однако, как и в случае ЛПНП, многие больные КБС имеют нормальный или повышенный уровень ХС ЛПВП [4, 6].

Гетерогенность характерна и для ЛПВП, различающихся по размеру, плотности, поверхностному заряду, белково-липидному составу [5]. Основной функцией ЛПВП является их участие в обратном транспорте ХС из периферических тканей, в том числе артериальной стенки, в печень для его утилизации и выведения из организма. Наряду с этим ЛПВП осуществляют ряд других атеропротективных функций, включая антиокислительное, противовоспалительное, вазодилаторное и антитромботическое действие, увеличивают секрецию инсулина и повышают инсулиночувствительность [4, 5]. Однако данные о роли отдельных субфракций в спектре ЛПВП противоречивы. Действительно, в ряде исследований показано, что мелкие плотные ЛПВП обладают значительно более высокой атеропротективной активностью, чем крупные частицы ЛПВП; в других работах, напротив, продемонстрировано, что мелкие плотные ЛПВП обладают проатерогенными свойствами, увеличивая

риск развития атеросклероза [4—6]. На основании этих данных было высказано предположение о том, что важную роль в детерминации атеропротективного действия ЛПВП играет не столько концентрация входящего в их состав ХС, сколько их функциональная активность, которая в значительной мере сопряжена с особенностями спектра ЛПВП, в частности с характером распределения частиц ЛПВП по размеру и плотности и количеством отдельных субфракций [4—6]. В связи с вышеизложенным исследование субфракционного спектра липопротеинов, обуславливающих риск и развитие ССЗ, связанных с атеросклерозом, представляется актуальным не только в научных целях, но и в клинической практике.

Цель настоящей работы — описать метод анализа субфракционного спектра ЛПНП и ЛПВП, охарактеризовать его достоинства и ограничения, а также на нескольких конкретных примерах показать возможности использования данных о субфракционном спектре липопротеинов в качестве маркера потенциальной атерогенности спектра липопротеинов при нормальном липидном профиле.

Для анализа спектра липопротеинов сыворотки крови используют различные методы, включая ультрацентрифугирование в градиенте солевой плотности, электрофорез в градиенте полиакриламидного геля (ПААГ), ядерный магнитный резонанс, ферментные методы [1, 3, 7]. Однако широкое применение этих методов в клинической лабораторной диагностике весьма затруднительно, так как требует дорогостоящего оборудования и реактивов, длительного времени для выполнения анализов и обработки данных.

Несколько лет назад появилась так называемая липопринт-система (Lipoprint System Quantimetrix, США), объединившая в себе разделение липопротеинов плазмы крови методом гель-электрофореза высокого разрешения (в готовых коммерческих трубочках с 3% ПААГ), сканирование полученных электрофореграмм и компьютерную обработку данных [7]. Использование этой системы позволяет в течение 3 ч не только провести разделение спектра липопротеинов на отдельные классы, но и выделить их субфракции, различающиеся по размеру и заряду, а появление возможности компьютерной обработки результатов сканирования гелей стало важным этапом в оптимизации анализа данных. Следует отметить, что до настоящего времени референсного метода для анализа субфракционного спектра липопротеинов плазмы крови не существует. Сравнительный анализ данных, полученных при помощи липопринт-системы и других методов, в частности электрофореза в градиентном ПААГ, показал их хорошее соответствие с точки зрения характеристики субфракционного спектра, но не оценки абсолютного размера липопротеиновых частиц [9, 10]. Поскольку показано, что именно доля мелких плотных частиц ЛПНП — более сильный предиктор КБС, чем абсолютный их размер, липопринт-система может быть предложена как альтернатива методу электрофореза в ПААГ.

Материалы и методы. В комплекс липопринт-система входит камера для проведения электрофореза, источник питания (120/220 В), сканер, цветной принтер, компьютер (с программой Lipoware Analysis Program), штатив для трубочек с гелем, лампа для фотополимеризации, наборы реагентов (LDL или HDL subfractions kit). В каждый набор входят готовые стеклянные трубочки с 3% ПААГ (100 штук), загрузочный гель с красителем, флаконы с реагентами для приготовления буфера (6 штук), контрольный образец.

Таблица 1

Уровень липидов и субфракционный спектр ЛППП и ЛПНП при разной выраженности коронарного атеросклероза (M±SD)

Показатель	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Уровень в сыворотке:			
ХС, ммоль/л	5,2±1,20	5,2±1,11	4,9±1,11
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,4±1,19	3,3±0,88	3,0±1,00*
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,1±0,23	1,1±0,26	1,0±0,28
ТГ, ммоль/л	1,7±0,72	1,9±0,82	1,9± 0,93
Субфракции, % от площади (ЛППП + ЛПНП)			
ЛПППС	16,5±5,53	17,9±4,67	16,7±4,88
ЛПППВ	13,4±3,51	12,9±3,31	14,1±2,47**
ЛПППА	15,9±4,05	15,1±5,90	17,1±5,67
ЛПНП1	34,7±6,84	31,2±6,87*	31,8±7,19*
ЛПНП2	17,0±6,64	18,0±7,88	16,0±6,96
ЛПНП3	4,2±2,54	6,3±4,86*	5,5±3,63
ЛПНП4	1,8±0,45	2,2±2,25	1,5±0,77

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с 1-й группой; ** — $p < 0,05$ по сравнению со 2-й группой.

Для определения субфракционного спектра липопротеинов используют сыворотку или плазму крови, которые можно хранить 5—7 дней при 2—8°C, либо замороженные образцы при -70°C. Вместе с тем существует ряд ограничений, которые следует принимать во внимание при использовании данного метода: так, нельзя использовать плазму, полученную из крови с гепарином, поскольку он мешает разделению подфракций липопротеинов; анализ следует проводить в сыворотке крови, взятой натощак, поскольку хиломикроны мешают измерению ХС в подфракциях липопротеинов.

При проведении эксперимента, согласно инструкции, на поверхность готовой трубочки с 3% ПААГ наслаивают 25 мкл сыворотки (плазмы) крови, затем вносят 200 мкл жидкого загрузочного геля, содержащего судан черной, который окрашивает липиды, трубочку несколько раз переворачивают для создания однородной смеси на поверхности геля. После фотополимеризации (при комнатной температуре в течение 30 мин) проводят электрофорез в течение 1 ч, после чего трубочки с гелем сканируют. Анализ результатов проводят с помощью компьютерной программы.

Использование липопринт-системы (LDL subfraction kit) позволяет идентифицировать следующие липопротеины и их субфракции: липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеины промежуточной плотности (ЛППП С, В, А) и подфракции ЛПНП, включая крупные (ЛПНП1), средние (ЛПНП2) и минорные подфракции — более плотные и мелкие частицы; чаще всего встречаются частицы ЛПНП3, реже — еще более мелкие и плотные ЛПНП4—7. Субфракции ЛПНП в образцах идентифицируют по их электрофоретической подвижности (R_f), при этом ЛПОНП используют в качестве стартовой референсной точки (R_f ЛПОНП = 0), а ЛПВП — как финишную референсную точку (R_f ЛПВП = 1). Согласно компьютерной программе, для каждой липопротеиновой субфракции определяется соответствующая относительная область (площадь под кривой каждой субфракции липопротеинов, выраженная в процентах) и на основании концентрации ХС в исследуемом образце крови рассчитывают количество ХС в каждой субфракции ЛПНП (в мг/дл).

Использование липопринт-системы (HDL subfraction kit) позволяет выделить 10 подфракций ЛПВП, которые объединены и представлены как крупные (ЛПВП1—3), промежуточные (ЛПВП4—7) и мелкие (ЛПВП8—10). Субфракции ЛПВП идентифицируют по их электрофоретической подвижности (R_f), при этом в качестве стартовой референсной точки используют ЛПНП/ЛПОНП (R_f ЛПНП/ЛПОНП = 0), а в качестве финишной референсной точки — альбумин, R_f которого равен 1). Как и в случае ЛПНП, для каждой субфракции ЛПВП определяют соответствующую относительную область и на основании концентрации ХС ЛПВП в исследуемом образце крови рассчитывают количество ХС в каждой субфракции ЛПВП (в мг/дл).

Чувствительность липопринт-системы определяется как минимальная концентрация ХС, входящего в состав соответствующего класса липопротеинов или их субфракций, которую удается детектировать, и составляет, по данным производителей, для ХС ЛПОНП 2,02 мг/дл, для ХС ЛПНП 8,30 мг/дл и для ХС ЛПВП 3,65 мг/дл. Коэффициент корреляции между содержанием ХС в подфракциях, измераемым в сыворотке и плазме, составил 0,971 ($p < 0,001$).

В качестве примера использования липопринт-системы представлены результаты анализа субфрак-

ционного спектра ЛПНП и ЛПВП у пациентов, обследованных в стационаре ФГБУ ГНИЦПМ, которым была выполнена коронароангиография. Была поставлена задача — охарактеризовать субфракционный спектр липопротеинов у пациентов при разной степени выраженности коронарного атеросклероза.

В исследование включено 130 человек (М/Ж 84/46) в возрасте 33—80 лет (средний возраст 61,1±9,9 года). По степени поражения коронарных артерий пациенты были разделены на три группы: 1-я группа — степень коронарного стеноза 0—20% ($n = 44$), 2-я и 3-я — соответственно 21—70% ($n = 32$) и $\geq 70\%$ ($n = 54$). 94% пациентов принимали статины.

Забор крови осуществляли из локтевой вены утром натощак после 12—14 ч голодания. В сыворотке крови определяли концентрацию общего ХС, триглицеридов (ТГ) и ХС ЛПВП (после осаждения ЛПНП фосфовольфрамом натрия в присутствии $MgCl_2$ ферментными методами с использованием диагностических наборов фирмы «Human» (Германия) на автоанализаторе Konelab 20i (Финляндия).

Статистический анализ данных проводили с помощью пакета статистических программ STATISTICA 7.0. Полученные результаты представлены как среднее значение (M) ± стандартное отклонение (SD). Для сравнения параметров между группами был использован U -тест Манна—Уитни; при $p < 0,05$ различия считали статистически значимыми.

Результаты и обсуждение. Из табл. 1 видно, что доля крупных физиологически активных частиц ЛПНП1 оказалась ниже в 3-й группе с наиболее выраженным стенозом коронарных артерий по сравнению с таковой в 1-й группе. Различий в процентном содержании субфракций ЛППП (С и А) и частиц ЛПНП2 не обнаружено, однако доля мелких плотных частиц ЛПНП3 во 2-й группе была несколько повышена по сравнению с таковой в 1-й. Обращает на себя внимание и факт наличия мелких плотных частиц у большего числа пациентов 3-й группы по сравнению с пациентами 1-й группы:

Субфракционный спектр ЛППП и ЛПНП при разной выраженности коронарного атеросклероза в зависимости от уровня триглицеридов ($M \pm SD$)

Степень поражения коронарных артерий	Субфракции, % от площади (ЛППП + ЛПНП)						
	ЛПППС	ЛПППВ	ЛПППА	ЛПНП1	ЛПНП2	ЛПНП3	ЛПНП4
Нормотриглицеридемия							
1-я группа 0—20%	15,6±5,22	12,6±3,23	17,3±4,52	37,1±4,67	15,3±7,18	4,1±2,16	1,6 ±0 ,26
2-я группа 21—70%	18, 1± 4,81	14,2±3,17	18,1±6,72	35,1±4,82	13,2±7,31	2,7±1,45	1,2±0,28
3-я группа >70%	15,1±4,62**	14,6±2,65**	19,4±5,19	36,4±4,50	12,6±5,45	3,2±1,84	1,1±0,59
Гипертриглицеридемия							
1-я группа 0—20%	18,2±5,43	14,0±3,72	14,7±3,83	31,1±7,56	18,8±6,10	4,3±3,06	1,9±0,54
2-я группа 21—70%	18,5±4,33	11,9±2,97*	12,1±2,65*	27,1±6,64	22,4±4,91*	8,4±5,15*	2,5±2,67*
3-я группа > 70%	18,6±4,58	13,9±2,84	14,0±4,60	27,5±6,60	19,6±6,58	7,1±3,77**	1,7±0,78

Примечание. * — $p < 0,05$ между 2-й и 1-й группами; ** — $p < 0,05$ между 3-й и 1-й группами.

действительно, в 3-й группе мелкие плотные частицы ЛПНП3 обнаружены в 66% случаев, частицы ЛПНП4 — в 35,8%, тогда как в 1-й группе ЛПНП3 обнаружены у 56,8% пациентов, а ЛПНП4 — у 15,9% ($p < 0,05$ в обоих случаях).

Другим примером может служить анализ ассоциации субфракционного спектра ЛПНП с уровнем ТГ в крови в зависимости от тяжести коронарного атеросклероза. Обнаружена корреляционная связь между уровнем ТГ и долей мелких плотных частиц ЛПНП3 и ЛПНП4: коэффициент корреляции Спирмана (R) составил 0,313 ($p < 0,001$) и 0,234 ($p < 0,001$) соответственно. Корреляции между долями ЛПНП3, ЛПНП4 и концентрацией ТГ у пациентов с нормальным уровнем ТГ не выявлено, тогда как у пациентов с повышенным уровнем ТГ такая зависимость обнаружена: R 0,382 ($p < 0,001$) для ЛПНП3 и R 0,344 ($p < 0,001$) для ЛПНП4. Сравнивая субфракционный спектр ЛППП и ЛПНП трех групп пациентов, различающихся по степени коронарного стеноза (табл. 2), при нормальном уровне ТГ выявили в 3-й группе более низкую долю ЛПППС по сравнению со 2-й группой и более высокое процентное содержание ЛПППВ по сравнению с 1-й. Различий в субфракционном спектре ЛПНП в трех группах при нормальном уровне ТГ не выявлено. При гипертриглицеридемии были обнаружены более низкие доли ЛППВ и ЛПППА во 2-й группе по сравнению с 1-й и имела место тенденция к более высокой доле ЛПНП2 наряду с более высоким процентным содержанием мелких плотных частиц ЛПНП3 и ЛПНП4. Обращает на себя внимание тот факт, что обнаруженные различия более высокие доли мелких плотных частиц ЛПНП при повышенном уровне в крови ТГ — проявляются только при выраженных поражениях коронарных артерий.

Итак, анализ субфракционного спектра ЛПНП с использованием липопринт-системы позволил выявить сдвиги субфракционного спектра в сторону накопления наиболее атерогенных частиц ЛПНП. Полученные нами данные позволили установить такую связь не только с самим заболеванием, но и со степенью тяжести коронарного атеросклероза: большее количество случаев мелких плотных частиц при наиболее выраженных стенозах коронарных артерий (более 70%) по сравнению с менее выраженными поражениями. Более того, удалось

показать связь мелких плотных частиц ЛПНП со степенью стенозов коронарных артерий и уровнем в крови ТГ. Иными словами, сочетание повышенного уровня ТГ с повышенным количеством мелких плотных частиц ЛПНП3 может рассматриваться как дополнительный фактор и маркер высокой степени поражения коронарных артерий.

При анализе субфракционного спектра ЛПВП с использованием липопринт-системы также были обнаружены различия в распределении частиц ЛПВП. Больные КБС по сравнению с пациентами без поражений коронарных артерий при одном и том же уровне ХС ЛПВП имели более высокую долю мелких плотных ЛПВП (19,6±7,3% против 16,1±5,9%; $p < 0,01$) и промежуточных ЛПВП (46,3±4,0% против 44,6±4,5%; $p < 0,01$) и более низкую долю крупных ЛПВП (33,9±8,4% против 39,2±9,0%; $p < 0,001$). Иными словами, анализ субфракционного спектра ЛПВП позволяет различить пациентов с наличием и отсутствием коронарного атеросклероза.

В заключение следует отметить, что приведенные примеры, а также опубликованные данные наших исследований и результаты работ зарубежных авторов [5, 6, 8, 11—14] свидетельствуют, что использование липопринт-системы для характеристики гетерогенности липопротеинов отдельных классов позволяет выявлять ключевые отклонения в субфракционном спектре липопротеинов плазмы крови у пациентов с коронарным атеросклерозом на различных стадиях заболевания.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1—11 см. REFERENCES)

- Уткина Е.А., Афанасьева О.И., Ежов М.В., Артемьева Н.В., Матчин Ю.Г., Байда С.М. и др. Связь различных подфракций липопротеидов с коронарным атеросклерозом у мужчин среднего возраста, получавших терапию статинами. *Кардиологический вестник*. 2014; (1): 68—76.
- Озерова И.Н., Перова Н.В., Метельская В.А., Гаврилова Н.Е., Чернушевич О.И. Субфракционный спектр липопротеинов низких плотностей при разной степени стенозов коронарных артерий. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2013; 12(4): 16—20.

14. Озерова И.Н., Метельская В.А., Перова Н.В., Гаврилова Н.Е., Бойцов С.А. Субфракционный спектр липопротеинов высокой плотности у больных с коронарным атеросклерозом. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2015; 14(2): 31—4.

Поступила 25.02.16

REFERENCES

1. Carmena R., Duriez P., Fruchart J.C. Atherogenic lipoprotein particles in atherosclerosis. *Circulation*. 2004; 109(23 Suppl.1): III2-7.
2. Toft-Petersen A.P., Tilsted H.H., Aarøe J., Rasmussen K., Christensen T., Griffin B.A. et al. Small dense LDL particles — a predictor of coronary artery disease evaluated by invasive and CT-based techniques: a case-control study. *Lipids Health Dis*. 2011; 10: 21—7.
3. Berneis K.K., Krauss R.M. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J. Lipid. Res*. 2002; 43(9): 1363—79.
4. Navab M., Reddy S.T., Van Lenten B.J., Fogelman A.M. HDL and cardiovascular disease: atherogenic and atheroprotective mechanisms. *Nat. Rev. Cardiol*. 2011; 8(4): 222—32.
5. Pirillo A., Norata G.D., Catapano A.L. High-density lipoprotein subfractions — what the clinicians need to know. *Cardiology*. 2013; 124(2): 116—252.
6. Kosmas C.E., Christodoulidis G., Cheng J.W., Vittorio T.J., Lerakis S. High-density lipoprotein functionality in coronary artery disease. *Am. J. Med. Sci*. 2014; 347(6): 504—8.
7. Hoefner D.M., Hodel S.D., O'Brien J.F., Branum E.L., Sun D., Meissner I. et al. Development of a rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System. *Clin. Chem*. 2001; 47(2): 266—74.
8. Oravec S., Dostal E., Dukát A., Gavorník P., Kucera M., Gruber K. HDL subfractions analysis: a new laboratory diagnostic assay for patients with cardiovascular diseases and dyslipoproteinemia. *Neuro Endocrinol. Lett*. 2011; 32(4): 502—9.
9. Bañuls C., Bellod L., Jover A., Martínez-Triguero M.L., Víctor V.M., Rocha M. 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.
10. Varady K.A., Lamarche B. Lipoprint adequately estimates LDL size distribution, but not absolute size, versus polyacrylamide gradient gel electrophoresis. *Lipids*. 2011; 46(12): 1163—7.
11. Koba S., Yokota Y., Hirano T., Ito Y., Ban Y., Tsunoda F. Small LDL-cholesterol is superior to LDL-cholesterol for determining severe coronary atherosclerosis. *J. Atheroscler. Thromb*. 2008; 15(5): 250—60.
12. Utkina E.A., Afanas'eva O.I., Ezhov M.V., Artem'eva N.V., Matchin Yu.G., Bayda S.M. et al. Association between different lipoprotein subfractions and coronary atherosclerosis in middle-aged men on statin therapy. *Kardiologicheskij vestnik*. 2014; (1): 68—76. (in Russian)
13. Ozerova I.N., Perova N.V., Metel'skaya V.A., Gavrilova N.E., Chernushevich O.I. Low-density lipoprotein subfractions at varying degree of coronary stenosis. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2013; 12(4): 16—20. (in Russian)
14. Ozerova I.N., Metel'skaya V.A., Perova N.V., Gavrilova N.E., Boytsov S.A. Subfractional spectrum of high density lipoproteins in coronary atherosclerosis patients. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2015; 14(2): 31—4. (in Russian)

Received 25.02.16

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.006.04-07:575.224.2.08

Ольховский И.А.^{1,3}, Карапетян Г.Э.², Горбенко А.С.¹, Субботина Т.Н.^{1,4}, Столяр М.А.^{1,4}, Дюпина Т.Н.², Галко Е.В.²

ВЫЯВЛЯЕМОСТЬ ПАЦИЕНТОВ С ОНКОГЕННОЙ СОМАТИЧЕСКОЙ МУТАЦИЕЙ ЯНУСКИНАЗЫ-2 (V617F JAK2) В РАМКАХ ПРОГРАММ ДИСПАНСЕРНОГО И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ОСМОТРОВ

¹ Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, 660036, Красноярск; ² НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Красноярск ОАО РЖД, 660041, Красноярск; ³ ФГБУН Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, 660036, Красноярск; ⁴ ФГАОУ ВО Сибирский федеральный университет, 660041, Красноярск, Российская Федерация

Представлены результаты выявления соматической мутации в гене янускиназы-2 (V617F JAK2) в пробах крови лиц, включенных в программу диспансеризации взрослого населения и периодических профилактических осмотров работников железнодорожного транспорта. Для выполнения исследования была разработана технология аллельспецифической ПЦР-РВ в пулированных пробах из образцов крови, поступающих в клинику-диагностическую лабораторию для гематологического анализа. По результатам тестирования среди 986 человек в возрасте от 45 до 90 лет (медиана 69 лет) было обнаружено 0,7% пациентов (3 женщины и 4 мужчины) с мутацией V617F JAK2. Учитывая высокий тромбогенный потенциал мутации V617F JAK2 и ее вовлеченность в патогенез хронических миелоидных опухолей, считаем целесообразным включить тест на ее выявление в меню лабораторных исследований программы диспансеризации населения.

Ключевые слова: соматическая мутация V617F JAK2, аллельспецифическая ПЦР-РВ в пулах, диспансеризация населения.

Для цитирования: Ольховский И.А., Карапетян Г.Э., Горбенко А.С., Субботина Т.Н., Столяр М.А., Дюпина Т.Н., Галко Е.В. Выявляемость пациентов с онкогенной соматической мутацией янускиназы-2 (V617F JAK2) в рамках программ диспансерного и профилактического осмотров. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016;61 (5): 275-278

DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-5-275-278

Для корреспонденции: Ольховский Игорь Алексеевич, канд. мед. наук, доц., дир. Красноярского филиала ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, ст. науч. сотр. ФГБУН Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, 660036, Красноярск, e-mail: krashemcenter@mail.ru