**Лабораторные методы исследования обмена липидов и липопротеинов**

**Липиды**-это высшие жирные кислоты и их сложноэфирные производные со спиртами глицерином и холестерином.Напомним, что жирные кислоты это карбоновые кислоты, содержащие в своей углеводородной цепи 10 и более атомов углеродов. Все они имеют четное число атомов углерода, неразветвленную цепь, не растворяются в воде.

Сложноэфирными производными ВЖК с глицерином являются триацилглицерины (ТАГ) и глицерофосфолипиды (ФЛ). В глицерофосфолипидах кроме спирта глицерина и двух остатков ВЖК содержится также остаток ортофосфорной кислоты и азотсодержащего основания (холина, этаноламина, серина).

 ТАГ- это сложные эфиры трехатомного спирта глицерола с тремя, чаще всего различными, кислотными (ацильными ) остатками.

Спирт холестерол (холестерин) этерифицирует один остаток ненасыщенной или полиненасыщенной (полиеновой эссенциальной) жирной кислоты с образованием этерифицированного холестерола (ЭХС).

Все липиды являются гидрофобными, нерастворимыми в воде соединениями. В плазме крови они находятся в составе водорастворимых комплексов с белками.

Наиболее важными для организма человека ВЖК являются:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Насыщенные ЖК (ДС=0) | Ненасыщенные ЖК (ДС=1-3) | Полиненасыщенные ЖК(полиеновые эссенциальные) (ДС=4-6) |
| Пальмитиновая С16:0Стеариновая С18:0 | Олеиновая С18:!Линолевая С18:2Линоленовая С18:3Дигомо-γ-линоленовая С20:3(афизиологичная) | Арахидоновая (эйкозотетраеновая) С20:4Тимнодоновая (эйкозопентаеновая) С20:5Клупанодоновая (докозопентаеновая) С22:5Цервоновая (докозогексаеновая) С22:6 |

 Различные ВЖК в организме выполняют различные функции и по-разному транспортируются кровью. **ВЖК являются основной переносимой кровью к клеткам субстанцией; производные ВЖК (ТАГ,ФЛ, ЭХС) плазмы крови являются транспортной формой ВЖК.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Насыщенные и ненасыщенные ЖК | Ненасыщенные и полиеновые ЖК |
| Функции | Энергетический субстрат клеток | А) структурная (в составе ФЛ формируют биомембраны);Б) регуляторная (являются предшественниками биологически активных эйкозаноидов) |
| Транспорт кровью | А) НЭЖК в комплексе с альбуминомБ)в форме ТАГ в составе ЛПОНП и ХМ | А) НЭЖК в комплексе с α-фетопротеином;Б) в форме ФЛ в составе ЛПВП;В) в форме ЭХС в составе ЛПНП |

Свойства, физиологическая роль и метаболизм полиеновых ЖК зависит от расположения в их углеводородной цепи двойных связей (ДС). По омега-номенклатуре (ω-номенклатуре) полиеновых ЖК нумерация атомов углерода начинается от наиболее удаленного от карбоксильной группы атома углерода, т.е. от СН3-группы. Ближайшая к метильной группе двойная связь обозначается порядковым номером атома углерода, от которого отходит двойная связь. В арахидоновой кислоте первая двойная связь отходит от 6-го атома углерода, поэтому в соответствии с ω-номенклатуры она называется ω-6 эйкозотетраеновой кислотой. Другие полиеновые кислоты являются ω-3 жирными кислотами. Все они для организма человека незаменимы и должны поступать с пищей, в которой содержатся такие ЖК (жирные сорта морских рыб, некоторые водоросли).

По физико-химическим свойствам липиды крови делятся на полярные (ФЛ, свободный холестерин, НЭЖК) и неполярные (ТАГ и ЭХС). С точки зрения электронного строения связей в молекулах производных жирных кислот такое деление условное.

В плазме крови липиды являются **транспортными формами высших жирных кислот,** в которых они «упакованы» путем ковалентной сложноэфирной связи со спиртами глицеролом или холестеролом. Поскольку все липиды, и свободные жирные кислоты и их производные, являются гидрофобными, нерастворимыми в воде соединениями, в плазме крови (водная среда) они находятся в составе водораствориримых комплексов с белками.

Неэтерифицированные насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты в плазме образуют комплексы с альбумином, а полиеновые НЭЖК с белком α-фетопротеином. Остальные липиды (ТАГ, ФЛ, ЭХС) транспортируются кровью в виде комплексов со специфическими белками **аполипопротеинами** (сокр. апо) в составе **липопротеинов (ЛП).**

**Липопротеины** представляют собой надмолекулярные комплексы, в которых отдельные компоненты связаны друг с другом слабыми нековалентными связями.

Частицы ЛП имеют сферическую форму и состоят из гидрофобного ядра, представленного неполярными липидами (ТАГ или ЭХС), покрытого мономолекулярным слоем полярных липидов и аполипопротеинов (гидрофильной оболочки).

**Аполипопротеины** –белки, которые связывают один класс липидов, определяют особенности состава, структуры, функций и метаболических превращений липопротеинов плазмы крови. Функционально они подразделяются на **стационарные и динамичные** аполипопротеины. Стационарными являются апо В-48, апо В-100, апо А-1. Они формируют липидный состав липопротеинов в клетках и остаются в составе соответствующих липопротеинов в течение всего периода их существования в плазме крови. Они являются лигандами соответствующих рецепторов ЛП, т.е.именно стационарные апо обеспечивают специфическое взаимодействие липопротеиновых частиц с соответствующими клеточными рецепторами.

Динамичные аполипопротеины-это различные белки, которые участвуют в транспорте, в превращениях липидов в составе липопротеиновых частиц и которые в процессе переноса ВЖК в составе ЛП переходят от одного класса липопротеинов на другие ЛП. К ним относятся апо А-11, С-11, С-111 и некоторые другие.

В метаболизме ЛП и в их поглощении клетками участвуют также транспортные, ферментные и векторные белки.

В плазме крови существует пять основных классов ЛП, которые отличаются друг от друга по количеству и составу липидов, белков, физико-химическим свойствам, физиологической роли. Они отличаются соотношением липидного и белкового (аполипопротеинового) компонентов, электрофоретической подвижностью.

**Хиломикроны (ХМ).** Поступившие из просвета тонкой кишки продукты ферментативного гидролиза ТАГ, свободные жирные кислоты и β-моноацилглицерин, в энтероцитах подвергаются ресинтезу с образованием ТАГ с последующим формированием стабильных белково-липидных комплексов крупного размера –хиломикронов. Они, как и другие ЛП, состоят из гидрофобного ядра, представленного неполярными экзогенными ТАГ (86-92% массы) и гидрофильной оболочки, образованной фосфолипидами, свободным холестерином и аполипопротеином В-48. На долю белкой части в ХМ приходится до 2% их массы.

Из энтероцитов через лимфатические сосуды в кровь поступают незрелые (насцентные) ХМ. В плазме крови к ним присоединяются апо Е и апо С-11 с образованием зрелых ХМ. В кровотоке **липопротеинлипаза (ЛПЛаза**) гидролизует один остаток жирной кислоты от ТАГ, в результате получаются остаточные (ремнантные, лигандные) ХМ, которые поглощаются печеночными клетками посредством апо Е/В-48 рецепторного эндоцитоза. В гепатоцитах поглощенные р-ХМ распадаются на свои составные компоненты.Таким образом, ХМ являются транспортной формой экзогенных (пищевых) насыщенщенных и ненасыщенных жирных кислот в форме ТАГ.

**Липопротеины очень низкой плотности (пре-β-липопротеины, ЛПОНП)**

Основным переносчиков эндогенных ТАГ в плазме крови являются ЛПОНП. Они представляют собой довольно изменчивый по размерам и липидному составу класс ЛП, включающий широкий спектр частиц, нагруженных в неодинаковой степени триацилглицеринами.

Стационарным апо в ЛПОНП является апо В-100. В плазме крови секретируемые печенью насцентные ЛПОНП присоединяют апо Е и С-11, формируя кооперативный лиганд апо Е/В-100.

Подобно ХМ триацилглицерины ЛПОНП в капиллярах тканей подвергаются ферментативному действию липопротеинлипазы, которая отщепляет от ТАГ в составе ЛПОНП один остаток жирной кислоты. ЛПЛаза с наибольшей скоростью гидролизует сложноэфирную связь в 1-м или 3-м положении, особенно если в этих положениях находятся остатки ненасыщенной олеиновой кислоты. Очень медленно фермент отщепляет от ТАГ остатки насыщенных жирных кислот.

В результате постепенного удаления путем гидролитического расщепления ТАГ в составе ЛПОНП образуются ремнантные ЛПОНП (р-ЛПОНП), которые по составу жирнокислотных остатков, входящих в состав ТАГ, представляют собой гетерогенную группу ЛП. Те р-ЛПОНП, которые содержат большое количество остатков олеиновой кислоты в составе ТАГ, поглощаются различными клетками, в основном мышечными, посредством кооперативного апо Е/В-100 рецепторного эндоцитоза. Другие р-ЛПОНП, содержащие в составе ТАГ большое количество насыщенных жирных кислот, подвергаются гидролитическому расщеплению ферментом **печеночной глицеролгидролазы (липазы**) с образованием липопротеинов промежуточной плотности (ЛППП). Оставшиеся в ЛППП ТАГ переносятся специальным белком в липопротеины высокой плотности (ЛПВП) в обмен на этерифицированный холестерин, что приводит к образованию из ЛППП липопротеинов низкой плотности (ЛПНП).

При нарушениях поглощения клетками насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в форме ТАГ в составе р-ЛПОНП в них возникает дефицит энергетических субстратов, а в плазме крови развивается гипертриацилглицеринемия.

***Итак, гипертриацилглицеринемия отражает нарушения апо Е/В-100 рецепторного эндоцитоза клетками организма ТАГ в составе р-ЛПОНП.*** Причинами нарушения апо Е/В-100 рецепторного поглощения р-ЛПОНП могут быть большое содержание в ТАГ насыщенных жирных кисолот, снижение активности ЛПЛазы, дефицит её активатора апо С-11, снижение активности печеночной глицеролгидролазы или её активатора апо С-111.

**Липопротеины низкой плотности (β-ЛП, ЛПНП)**

Основным липидным компонентом гидрофобного ядра ЛПНП является этерифицированный ненасыщенными и полиненасыщенными жирными кислотами холестерин (ЭХС). Стационарным апо в β-ЛП является апо В-100; на его долю приходится более 90% белков ЛПНП, причем, количество молекул апо В-100 в частицах ЛПНП постоянно в отличие от содержания в них холестерина

**Концентрация ЛПНП в плазме здоровых людей равна 1,3-4,3 г/л. Скорость катаболизма ЛПНП в плазме крови составляет 30-40% в сутки, т.е. полное обновление в крови ЛПНП происходит в среднем в течение 4-х дней.**

Этерифицированный холестерин в составе ЛПНП является основной транс

портной формой ненасыщенных и полиеновых жирных кислот в клетки. Холестерин в ЭХС, подобно глицеролу в ТАГ, выполняет роль своеобразной «упаковки» для ненасыщенных и полиеновых кислот. **Клетки нуждаются в поступлении только жирных кислот и не нуждаются в поступлении в них спиртов- ни глицерола, ни холестерола.** Клетки поддерживают низкое содержание в них холестерола путем его удаления.

Поглощение клетками ЛПНП (ЭХС соответственно) осуществляется посредством апо В-100 рецепторного эндоцитоза. Скорость поглощения клетками ЛПНП определяется количеством и аффинность апо В-100 рецепторов на этих клетках. Наибольшее количество таких рецепторов находится в цитоплазматических мембранах гепатоцитов. В клетках ЭХС гидролизуется холестеринэстеразой с образованием полиеновых и ненасыщенных ЖК и свободного холестерина.

**Снижение скорости поглощения клетками ЛПНП плазмы крови в основном обусловлено нарушениями рецепторного эндоцитоза ЛПНП. Следствием таких расстройств является: 1. гиперхолестеринемия, 2. гипер-бета-липопротеинемия, 3. дефицит ненасыщенных и полиеновых жирных кислот в клетках.**

Полиеновые жирные килоты в организме играют особую роль. Они:

-определяют структурные и функциональные свойства клеточных мембран;

-являются предшественниками биологически активных эйкозаноидов (простагландинов, простациклинов, тромбоксанов и пр.);

-регулируют активность иммунной системы, развитие системного воспали-

тельного ответа;

-влияют на функциональную активность тромбоцитов;

-обладают антиагрегационным и противовоспалительным действием;

- нормализуют функции эндотелия;

-активируют нейтрофилы;

-предотвращают стеатоз печени.

**Таким образом, гипербеталипопротеинемия и гиперхолестеринемия отражают нарушения поглощения клетками ЛПНП и развивающийся в результате этого дефицит полиеновых ЖК в клетках.**

Высокая концентрации в плазме крови ЛПНП и более продолжительное их нахождение в крови вызывает ковалентную, преимущественно окислительную, модификацию с образованием **модифицированных ЛПНП (м-ЛПН**П), которые становятся чужеродными для организма эндогенными патогенами. Проникая через эндотелиальный барьер в интиму артерий они фагоцитируются макрофагами; в макрофагах м-ЛПНП усиливают продукцию различных цитокинов, в частности, провоспалительных, ФНО-α, инсулиноподобного модифицирующего фактора и др.Каскад молекулярных, клеточных и тканевых цитокин-обусловленных процессов в конечном счете приводит к образованию в стенке артерий атеросклеротических бляшек.

В соответствии с современными представлениями атеросклероз представляет собой хронический асептический воспалительный процесс интимы артерий с липидной инфильтрацией и формированием атероматоза артерий.

**Липопротеины высокой плотности (ЛПВП, α-ЛП)**

ЛПВП синтезируются в основном в печени, частично в тонкой кишке. В кровоток они поступают в виде первичных (насцентных) частиц, имеющих дисковидную форму. Основным стационарным аполипопротеином является апо А-1.

В плазме крови насцентные диски насыщаются апо С-1, С-1V и апо Е. Апо А-1 обладает высоким сродством к фосфолипидам,поэтому в их составе на долю фосфолипидов приходится от 20 до 30% массы частиц.

В отличие от других ЛП плазмы крови в ЛПВП гидрофобное ядро представлено смесью фосфолипидов с различными белками. В частности, в составе ЛПВП содержится фермент **лецитин:холестеринацилтрансфераза (ЛХАТ),** который катализирует превращение свободного холестерина в этерифицированный путем переноса остатка ненасыщенной (в основном полиеновой) жирной кислоты с молекулы фосфатидилхолина (лецитина), находящегося в составе ЛПВП, на свободный холестерин.

**ХС + Лецитин** ***ЛХАТ*** **ЭХС + лизо-Лецитин**

Одной из важных функций ЛПВП является этерификация ненасыщенных и полиеновых ЖК спиртом холестерином с образованием основной формы поступления таких жирных кислот в клетки - в форме ЭХС в составе ЛПНП. При нарушениях этерификации холестерином полиеновых и ненасыщенных ЖК клетки испытывают их дефицит, что приводит к различным структурным и функциональным расстройствам. Одним из следствий такого дефицита является развитие атеросклеротического поражения артерий.

В результате этерификации холестерин превращается в неполярный ЭХС, который располагается в гидрофобном ядре ЛПВП; это вызывает образование сферических частиц ЛПВП.

ЛПВП имеют небольшие размеры и легко проходят через стенки капилляров в межклеточное пространство. Обладая высоким сродством к свободному холестерину, ЛПВП извлекают его из цитоплазматических мембран клеток, из р-ХМ и р-ЛПОНП. Экстрагированный из клеток, р-ХМ и р-ЛПОНП холестерин после его этерификации переносится с помощью **белка, переносящего эфиры холестерина** **(БПЭХ**) на ЛППП в обмен на содержащиеся в них ТАГ с образованием двух продуктов: обогащенных ЭХС ЛПНП и обогащенных ТАГ ЛПВП. Последние в печени подвергаются действию печеночной глицеролгидролазы, которая гидролизует и ТАГ и ФЛ.

ЛПВП обладают антиатерогенным действием, которая состоит в удалении из тканей избытка холестерина, его этерификации ненасыщенными и полиеновыми жирными кислотами, обогащением р-ХМ и ЛППП этерифицированным холестерином. Обогащенные ЭХС р-ХМ поглощаются печеночными клетками, в которых поступивший холестерин подвергается окислительному превращению в желчные кислоты и в таком виде выделяется с желчью в кишечник.

Риск развития атеросклеротического поражения артерий определяется не столько абсолютными концентрациями холестерина в крови, в частности, в составе ЛПНП, сколько соотношением концентраций холестерина в ЛПНП и ЛПВП. В клинической практике риск развития и прогрессирования атеросклероза артерий часто оценивается путем расчета индекса атерогенности:

**ИА = ХСлпнп : ХС лпвп**

Величина индекса атерогенности зависит от пола, возраста. У здоровых мужчин 20-30 лет он равен примерно 2,5; у женщин такого же возраста -2,2.

При оценке результатов лабораторного исследования в плазме липопротеинов, холестерина и триацилглицеринов с позиций их прогностической значимости, следует опираться не на статистическую норму этих аналитов, а на ***целевой (желаемый) уровень.***

 Критериями для оценки риска развития атеросклероза являются:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Концентрация, ммоль/л | Оценка |
| Холестерин общий | < 5,25,2-6,18> 6,3 | ДопустимыйПогранично-высокийВысокий |
| ХС лпнп | <3,363,36-4,14> 4,12 | ДопустимыйПогранично-высокийВысокий |
| ХСлпвп | >1,0< 0,9 | НормальныйНизкий |
| ТАГ | <2,22,2-4,54,5-11,3> 11,3 | НормальныйПогранично-высокийПовышенныйОчень высокий |

 Высокий индекс атерогенности свидетельствует о нарушениях поглощения клетками ЭХС в составе ЛПНП, о возникающем при этом дефиците в клетках ненасыщенных и полиеновых жирных кислот.

У здоровых взрослых людей с нормальной концентрацией в плазме ТАГ и холестерина распределение липидов между классами липопротеинов следующее:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | ЛПНП | ЛПВП | ЛПОНП | ХМ |
| ХС (%%) | **70** | 17 | 13 | 1 |
| ТАГ(%) | 30 | 10 | **55** | 5 |

**Нарушения обмена липопротеинов**

Методами клинической биохимии оценивается не метаболизм липидов, а лишь функция транспорта кровью высших жирных кислот в форме ТАГ, ФЛ, ЭХС и комплекса НЭЖК –альбумин и поглощения их клетками.

Среди многочисленных расстройств липидного обмена наибольший клинический интерес представляют ***дислипопротеинемии.*** Термином «дислипопротеинемия» (ДЛП) обозначают изменения в содержании липопротеинов в плазме крови, характеризующиеся их повышением, снижением или полным отсутствием. В эту группу расстройств входят и случаи появления в крови патологических (аномальных) липопротеинов.

Чаще всего нарушения липопротеинового обмена обозначают термином «гиперлипидемия» -в основном в виде гиперхолестеринемии и гипертриацилглицеридемии.Обычно понятия «гиперлипопротеинемия» и «гиперлипидемия» используются как синонимы.

Значение гиперлипопротеинемий в клинической медицине определяется прежде всего тем, что они длительное время протекают бессимптомно и их диагностика основывается исключительно на результатах лабораторных биохимических исследодований плазмы крови. Следствием длительной гиперлипидемии являются различные сердечно-сосудистые заболевания и, прежде всего, атеросклероз, центральным звеном патогенеза и важнейшим фактором риска которого являются расстройства липопротеинового обмена.

В зависимости от причин развития гиперлипидемии подразделяются на первичные и вторичные. В основе первичных гперлипидемий лежат генетические нарушения обмена липопротеинов плазмы крови семейного характера.

Вторичные гиперлипидемии развиваются как сопутствующий синдром при заболеваниях внутренних органов, различных эндокринных и аутоиммунных заболеваниях, воздействиях токсических и лекарственных веществ, диетических факторов. И первичные, и вторичные гиперлипопротеинемии в зависимости от характера изменений липидов и липопротеинов плазмы крови подразделяются на пять типов.

Основными патогенетическими механизмами отклонений различных липидов и липопротеинов крови являются:

а) изменения поступления с пищей или поышенный синтез липидов в печени;

б) изменения поглощения высших жирных кислот в форме ТАГ, ФЛ, ЭХС клетками в составе соответствующих липопротеинов.