

АТЕРОГЕННЫЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-АНТИОКСИДАНТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ
ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ. ПОПУЛЯЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

Ю.И. Рагино, Л.В. Щербакова, Я.В. Полонская, Е.В. Садовский

ФГБУ «НИИ терапии и профилактической медицины» СО РАМН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

Цель исследования – изучение показателей окислительно-антиоксидантных изменений липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в мужской популяции и исследование их ассоциаций с факторами риска атеросклероза и наличием ишемической болезни сердца (ИБС). Проведено популяционное обследование 1024 мужчин 47–73 лет г. Новосибирска, в программе которого были анкетирование, стандартизованный кардиологический опрос, антропометрия, измерение АД, запись ЭКГ. У 223 человек (21,8 %) выявлена «Определенная ИБС» (стабильная стенокардия напряжения ФК II–IV) по валидизированным эпидемиологическим и клинико-функциональным критериям. Биохимические исследования крови включали определение общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), ХС липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП), С-реактивного протеина в высокочувствительном диапазоне (вчСРП), глюкозы, исходного уровня продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и жирорастворимых антиоксидантов (α -токоферола, ретинола, β -каротина, ксантинов) в ЛПНП, устойчивости ЛПНП к окислению *in vitro*, концентрации аутоантител к окисленным ЛПНП (окЛПНП). Для мужской популяции г. Новосибирска в качестве региональных ориентиров представлены 10–90 % отрезные точки процентильного распределения показателей исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП, их устойчивости к окислению на начальной и развернутой стадиях окислительных изменений ЛПНП, липофильных антиоксидантов в ЛПНП, концентраций аутоантител к окЛПНП. Повышенное содержание продуктов ПОЛ в ЛПНП, сниженное содержание в них антиоксидантов и, особенно, сниженная устойчивость ЛПНП к окислению у мужчин независимо ассоциируются с повышенными уровнями в крови ХС, ТГ, вчСРП, сниженным ХС ЛПВП, повышенным индексом массы тела. Между сниженной устойчивостью ЛПНП к окислению и наличием ИБС выявлены положительные корреляционные связи и независимые ассоциации, а между сниженным содержанием α -токоферола в ЛПНП и наличием ИБС выявлены отрицательные корреляционные связи. Число случаев ИБС выше при показателе исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП $>0,8$ нМ МДА/мг белка ЛПНП и при сниженной устойчивости ЛПНП к окислению (при показателях на начальном этапе окисления ЛПНП $>5,4$ нМ МДА/мг белка ЛПНП, на развернутом этапе окисления ЛПНП $>13,2$ нМ МДА/мг белка ЛПНП). С другой стороны, число случаев ИБС ниже при содержании α -токоферола в ЛПНП $>1,06$ мг/мг белка ЛПНП. Полученные результаты подтверждают известные данные о значимой ключевой роли окислительной модификации ЛПНП в патогенезе атеросклероза и ИБС.

Ключевые слова: популяционное исследование, факторы риска, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, липопротеины низкой плотности, устойчивость к окислению, антиоксиданты.

Одну из ключевых ролей в атерогенезе играют окисленно-модифицированные липопротеины низкой плотности (окЛПНП) [1–3].

В окЛПНП снижено содержание свободных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и антиоксидантов (α -токоферола, γ -токоферола,

Рагино Юлия Игоревна – д-р мед. наук, проф., зав. лабораторией клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, e-mail: ragino@mail.ru

Щербакова Лилия Валерьевна – старший научный сотрудник лаборатории клинико-популяционных и профилактических исследований терапевтических заболеваний, e-mail: office@iimed.ru

Полонская Яна Владимировна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, e-mail: office@iimed.ru

Садовский Евгений Викторович – младший научный сотрудник лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний, e-mail: office@iimed.ru

ретинола, β -каротина и др.), но повышены содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окислительная модификация апопротеинов апоВ-100 и апоЕ [2–6]. В результате описанных патологических изменений окЛПНП не узнаются нормальными апоВ/Е-рецепторами клеток, но активно захватываются скэвинджер-рецепторами макрофагов в субэндотелии сосудистой стенки. Повышенный эндцитоз богатых холестерином (ХС) окЛПНП макрофагами приводит к их трансформации в пенные клетки – морфологический маркер атеросклероза [1–3]. Окислительная модификация циркулирующих в крови ЛПНП менее выражена, чем таковая в субэндотелии сосудистой стенки, где активны процессы клеточного окисления ЛПНП моноцит/макрофагами, Т-лимфоцитами и пенными клетками, секретирующими активные кислородные метаболиты (АКМ) [4, 7].

Для оценки окислительной модификации циркулирующих в крови ЛПНП используют измерение содержания в них продуктов ПОЛ. Также существует показатель для оценки «предрасположенности» ЛПНП к окислению – устойчивость ЛПНП к окислению *in vitro* под действием катализаторов окисления. Он интегративно отражает как прооксидантную возможность ЛПНП (содержание в них ПНЖК, гидроперекисей липидов и др.), так и их антиоксидантный потенциал (содержание α -токоферола и других антиоксидантов) [8–10]. Повышенный уровень продуктов ПОЛ в выделенных из крови ЛПНП, их сниженная устойчивость к окислению и низкое содержание в ЛПНП липофильных антиоксидантов часто выявляются у лиц с ишемической болезнью сердца (ИБС) и коронарным атеросклерозом [7, 11–13]. В настоящей работе изучены указанные показатели на популяционном уровне в крупном индустриальном центре Западной Сибири, а также исследованы их ассоциации с факторами риска атеросклероза и наличием ИБС.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследование популяционной выборки мужчин проводилось в ходе скрининга в рамках международного проекта НАРІЕЕ фонда Wellcome Trust (Великобритания) «Детерминанты сердечно-сосудистых заболеваний в Восточной Европе. Многоцентровое когортное исследование» в период 2007–2008 гг. Принципиальные исследователи в г. Новосибирске – акад. РАН Ю.П. Никитин и д-р мед. наук, проф. С.К. Малютина. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ терапии и профилак-

ческой медицины СО РАМН, протокол № 1 от 14.03.2002. В исследование включены 1024 мужчины 47–73 лет (средний возраст $61,1 \pm 0,3$ года, здесь и далее $M \pm m$) – популяционная выборка мужчин Октябрьского района г. Новосибирска. Все обследованные заполняли форму информированного согласия на участие в исследовании.

Скрининг проводила бригада врачей, прошедших подготовку по стандартизованным эпидемиологическим методам измерения артериального давления (АД), антропометрии и биохимических исследований. Скрининг проводился на базе ФГБУ «НИИ терапии и профилактической медицины» СО РАМН. В программу обследования входили: демографические и социальные данные, опрос о привычке курения и об употреблении алкоголя, диетологический опрос, история хронических заболеваний и употребления медикаментов, кардиологический опрос по Роуз, антропометрия, 3-кратное измерение АД, спирометрия, запись ЭКГ с расшифровкой по Миннесотскому коду. Средний уровень АД в популяционной группе мужчин составил $145,5 \pm 0,74 / 90,5 \pm 0,4$ мм рт. ст. Средний индекс массы тела (ИМТ) в популяционной группе мужчин – $27,4 \pm 0,38$ кг/м²; ИМТ $\geq 25,0$ кг/м² – у 662 человек (64,6 %), ИМТ $< 25,0$ кг/м² – у 362 человек (35,4 %).

Из 1024 мужчин популяционной группы у 223 человек (21,8 %) выявлена «Определенная ИБС» (стабильная стенокардия напряжения ФК II–IV) по валидизированным эпидемиологическим (в том числе кардиологический опросник Роуз) и клинико-функциональным (запись ЭКГ с расшифровкой по Миннесотскому коду) критериям. У 801 мужчины (78,2 %) не было «Определенной ИБС».

Пробы крови для биохимических исследований забирали однократно из локтевой вены утром натощак через 12 ч после приема пищи. Биохимические методы исследования крови включали: показатели липидного профиля, глюкозы и С-реактивного протеина в высокочувствительном диапазоне (вчСРП), исходного и стимулированного катализаторами окисления уровней продуктов ПОЛ в ЛПНП, концентрации в ЛПНП антиоксидантов, концентрации в крови антител к окЛПНП.

Показатели липидного профиля (общий ХС, триглицериды (ТГ), холестерин липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП)) и глюкозы в сыворотке крови измеряли энзиматическим методом с использованием стандартных реактивов Biocon Fluitest на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «Labsystem FP-901». Уровни вчСРП в крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием

ELISAs тест-систем Biomerica на полуавтоматическом ИФА-анализаторе «Multiscan EX». Средние уровни показателей в популяционной группе мужчин: общий ХС – $5,56 \pm 0,03$ ммоль/л, ТГ – $1,35 \pm 0,02$ ммоль/л, ХС ЛПВП – $1,43 \pm 0,01$ ммоль/л, глюкоза плазмы крови – $5,9 \pm 0,05$ ммоль/л, вчСРП – $1,35 \pm 0,08$ мг/л. Пересчет глюкозы сыворотки крови в глюкозу плазмы крови осуществлялся по известной формуле (Руководство по диабету Европейского общества кардиологов и Европейской ассоциации изучения диабета, 2007): глюкоза плазмы (ммоль/л) = $-0,137 + 1,047 \times$ глюкоза сыворотки (ммоль/л). Общий ХС $\geq 5,0$ ммоль/л был у 714 человек (69,7 %), а $< 5,0$ ммоль/л – у 310 человек (30,3 %). ТГ $\geq 1,7$ ммоль/л зарегистрировано у 213 человек (20,8 %), $< 1,7$ ммоль/л – у 811 человек (79,2 %). ХС ЛПВП $\leq 1,0$ ммоль/л выявлено у 69 человек (6,7 %), $> 1,0$ ммоль/л – у 955 человек (93,3 %).

Определение исходного и стимулированного катализаторами окисления уровней продуктов ПОЛ в ЛПНП и концентрации в ЛПНП антиоксидантов проводили собственными способами [10, 12]. Кратко: ЛПНП получали из сыворотки методом осаждения с буферным гепарином, промывали и растворяли в 1 М растворе NaCl. В ЛПНП определяли концентрацию белка по методу Лоури, концентрации α -токоферола, ретинола, β -каротина, ксантинов – флуориметрическими методами. Окислительную модификацию ЛПНП проводили в изотоническом растворе NaCl, содержащем ионы Cu^{2+} , при 37 °С. До окисления, после 3 и 30 мин инкубации ЛПНП оценивали степень их окислительной модификации по концентрации одного из конечных продуктов ПОЛ малонового диальдегида (МДА) флуориметрическим методом на спектрофлуориметре Versafluor.

Концентрации антител к оЛПНП в крови определяли с использованием ELISAs тест-систем Biomedica на полуавтоматическом ИФА-анализаторе «Multiscan EX». Статистическую обработку результатов проводили в программе SPSS for Windows (версия 10.05) с оценкой для каждой переменной среднего значения (M), стандартного отклонения (σ), стандартной ошибки средней (m), минимального и максимального значений, перцентилей от 5 до 95 %. При сравнении выборок с условно-нормальными и повышенными/сниженными значениями использовали критерий Стьюдента для альтернатив. При корреляционном анализе использовали коэффициенты Пирсона и Спирмена. Применялись также частотный, Oneway ANOVA с использованием критерия Даннета, линейно регрессионный, дисперсионный и Crosstabs ана-

лизы. Критерием статистической достоверности был уровень $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, МДА и др.) в свежевыделенных из крови ЛПНП исследуется с целью оценки степени окислительной модификации ЛПНП *in vivo* в крови, где циркулируют так называемые «минимально окисленные» ЛПНП [7]. У мужчин на популяционном уровне нами определено среднее значение концентрации исходного содержания продуктов ПОЛ в ЛПНП сразу после их выделения из крови – $2,0 \pm 0,05$ нмоль МДА/мг белка ЛПНП (табл. 1). В качестве региональных ориентиров этого показателя для мужчин 47–73 лет г. Новосибирска можно использовать 10–90 % отрезные точки процентильного распределения показателей – 0,6–4,2 нмоль МДА/мг белка ЛПНП.

Основной процесс клеточного окисления ЛПНП *in vivo* происходит в субэндотелии сосудистой стенки артерий в присутствии АКМ и высокой концентрации ионов металлов переменной валентности (Cu^{2+} и Fe^{2+}) [1, 4]. Процесс окисления выделенных ЛПНП *in vitro* также вызывается ионами меди. *In vitro* создается экспериментальная копия окисления ЛПНП *in vivo* и оценивается, насколько быстро и значительно ЛПНП способны окисляться в организме, в субэндотелии сосудистой стенки. Таким образом, показатель устойчивости ЛПНП к окислению позволяет судить о «предрасположенности» ЛПНП к окислению и отражает их прооксидантно-антиоксидантный потенциал [8, 9]. В настоящей работе проведено популяционное исследование показателя устойчивости ЛПНП к окислению – содержания продуктов ПОЛ в выделенных из крови ЛПНП через 3 мин (на начальном этапе окисления ЛПНП *in vitro*) и 30 мин (на развернутом этапе окисления ЛПНП *in vitro*) их окисления с ионами меди у мужчин г. Новосибирска. Получены популяционные средние значения показателей стимулированных катализатором окисления уровней продуктов ПОЛ в ЛПНП через 3 и 30 мин их инкубации – $8,2 \pm 0,12$ и $17,8 \pm 0,2$ нмоль МДА/мг белка ЛПНП соответственно (см. табл. 1). Региональные ориентиры этих показателей для мужчин 47–73 лет г. Новосибирска (10–90 % отрезные точки процентильного распределения) – 3,5–13,7 и 10,4–26,5 нмоль МДА/мг белка ЛПНП соответственно.

Показатель устойчивости ЛПНП к окислению *in vitro* интегративно отражает не только прооксидантную возможность ЛПНП, но и их

Таблица 1

Средние значения окислительно-антиоксидантных показателей ЛПНП в популяции мужчин г. Новосибирска

Показатель	$M \pm m$	σ	Перцентили, %							min-max
			5	10	25	50	75	90	95	
Исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛПНП, нМ МДА/мг белка ЛПНП	2,0±0,05	1,5	0,5	0,6	0,8	1,7	2,8	4,2	5,0	0,1–10,5
Уровень продуктов ПОЛ в ЛПНП после 3 мин окисления, нМ МДА/мг белка ЛПНП	8,2±0,12	4,0	2,4	3,5	5,4	7,6	10,4	13,7	15,4	0,3–26,0
Уровень продуктов ПОЛ в ЛПНП после 30 мин окисления, нМ МДА/мг белка ЛПНП	17,8±0,2	6,5	8,4	10,4	13,2	16,9	21,6	26,5	29,5	3,0–54,4
Антитела к окЛПНП, МЕД/мл	318,1±13,0	321,4	61,7	74,1	121,8	205,4	360,6	762,2	1200,0	23,9–1716,0
α -Токоферол ЛПНП, мг/мг белка ЛПНП	1,4±0,01	0,49	0,77	0,9	1,06	1,25	1,6	1,9	2,2	0,26–4,92
Ретинол ЛПНП, мг/мг белка ЛПНП	0,05±0,00	0,04	0,023	0,026	0,03	0,05	0,06	0,08	0,09	0,01–0,94
β -Каротин ЛПНП, мг/мг белка ЛПНП	0,07±0,00	0,03	0,03	0,04	0,05	0,065	0,084	0,11	0,13	0,01–0,42
Ксантины ЛПНП, мг/мг белка ЛПНП	0,46±0,01	0,19	0,18	0,23	0,33	0,43	0,56	0,73	0,84	0,06–1,47

Примечание. $M \pm m$ – средняя и ошибка средней; σ – стандартное отклонение; min-max – минимум-максимум.

антиоксидантный потенциал. Известно, что начальная скорость окисления ЛПНП зависит от содержания в них таких липофильных антиоксидантов, как, прежде всего, α -токоферола, а также ретинола, β -каротина, ксантинов и других, сдерживающих процессы окисления ПНЖК в ЛПНП до момента полного истощения антиоксидантных возможностей ЛПНП под действием АКМ [8–10]. Нами получены популяционные средние значения показателей антиоксидантов в ЛПНП: α -токоферол – 1,4±0,01 мг/мг белка ЛПНП, ретинол – 0,05±0,00 мг/мг белка ЛПНП, β -каротин – 0,07±0,00 мг/мг белка ЛПНП и ксантины – 0,46±0,01 мг/мг белка ЛПНП (см. табл. 1). В качестве региональных ориентиров этих показателей для мужчин 47–73 лет г. Новосибирска можно использовать 10–90 % отрезные точки процентильного распределения – α -токоферол ЛПНП 0,9–1,9 мг/мг белка ЛПНП, ретинол ЛПНП 0,026–0,08 мг/мг белка ЛПНП, β -каротин ЛПНП 0,04–0,11 мг/мг белка ЛПНП, ксантины ЛПНП 0,23–0,73 мг/мг белка ЛПНП.

В последние годы при ИБС и атеросклерозе активно исследуются в крови антитела к окЛПНП. Предполагается, что уровень аутоантител против окЛПНП является биомаркером актив-

ности окислительных процессов *in vivo* и «окислительного стресса», в частности при атеросклерозе [3, 7]. У мужчин на популяционном уровне определено среднее значение концентрации аутоантител к окЛПНП – 318,1±13,0 МЕД/мл (см. табл. 1). Региональные ориентиры этого показателя для мужчин 47–73 лет г. Новосибирска (10–90 % отрезные точки процентильного распределения) – 74,1–762,2 МЕД/мл.

Важной задачей исследования было изучить возможные ассоциации некоторых факторов риска атеросклероза и ИБС с выбранными окислительно-антиоксидантными показателями ЛПНП. Общая популяционная выборка мужчин была разделена на подвыборки в зависимости от присутствия какого-либо фактора риска (табл. 2). Оказалось, что у мужчин с повышенным уровнем общего ХС или ТГ в крови индуцированные ионами Cu^{2+} уровни продуктов ПОЛ в ЛПНП через 30 мин их инкубации выше в 1,1 раза, а содержание α -токоферола в ЛПНП ниже в 1,1 раза, чем у мужчин с нормальными ХС или ТГ в крови. У мужчин со сниженным уровнем ХС ЛПНП в крови концентрация продуктов ПОЛ в ЛПНП через 30 мин их инкубации с катализаторами окисления была выше в 1,1

Окислительно-антиоксидантные показатели ЛПНП в зависимости от наличия факторов риска атеросклероза и ИБС ($M \pm m$)

Группы и подгруппы мужчин	Исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛПНП, нМ МДА/ мг белка ЛПНП	Уровень продуктов ПОЛ в ЛПНП, нМ МДА/ мг белка ЛПНП		Антитела к окЛПНП, мЕД/мл	Концентрация антиоксидантов, мг/мг белка ЛПНП			
		после 3 мин окисления	после 30 мин окисления		α -Токоферол	Ретинол ЛПНП	β -Каротин ЛПНП	Ксантины ЛПНП
1. Общий ХС $\geq 5,0$ ммоль/л	2,05 \pm 0,06	8,35 \pm 0,15	18,19 \pm 0,24*	303,0 \pm 15,3	1,32 \pm 0,02*	0,05 \pm 0,00	0,07 \pm 0,00	0,45 \pm 0,01
2. Общий ХС $< 5,0$ ммоль/л	1,96 \pm 0,09	7,94 \pm 0,22	17,03 \pm 0,36	344,3 \pm 23,9	1,45 \pm 0,03	0,06 \pm 0,00	0,08 \pm 0,00	0,49 \pm 0,01
1. ТГ $\geq 1,7$ ммоль/л	2,0 \pm 0,1	8,65 \pm 0,3	19,0 \pm 0,46*	343,2 \pm 33,3	1,3 \pm 0,03*	0,05 \pm 0,00	0,07 \pm 0,00	0,45 \pm 0,01
2. ТГ $< 1,7$ ммоль/л	2,03 \pm 0,05	8,12 \pm 0,14	17,5 \pm 0,23	309,5 \pm 13,8	1,38 \pm 0,02	0,05 \pm 0,00	0,07 \pm 0,00	0,46 \pm 0,01
1. ХС ЛПВП $\leq 1,0$ ммоль/л	1,98 \pm 0,19	8,94 \pm 0,46	19,85 \pm 0,75*	347,6 \pm 55,3	1,31 \pm 0,05	0,05 \pm 0,00	0,07 \pm 0,00	0,46 \pm 0,03
2. ХС ЛПВП $> 1,0$ ммоль/л	2,02 \pm 0,05	8,18 \pm 0,13	17,7 \pm 0,21	313,8 \pm 13,2	1,37 \pm 0,02	0,05 \pm 0,00	0,07 \pm 0,00	0,46 \pm 0,00
1. ИМТ $\geq 25,0$ кг/м ²	2,05 \pm 0,06	8,5 \pm 0,16*	18,42 \pm 0,26*	330,4 \pm 16,5*	1,36 \pm 0,02	0,05 \pm 0,00	0,07 \pm 0,00	0,46 \pm 0,01
2. ИМТ $< 25,0$ кг/м ²	1,98 \pm 0,08	7,73 \pm 0,19	16,8 \pm 0,33	278,5 \pm 20,6	1,36 \pm 0,03	0,05 \pm 0,00	0,07 \pm 0,00	0,47 \pm 0,01
1. ИБС (+)	2,0 \pm 0,1	8,85 \pm 0,3*	18,54 \pm 0,24*	303,4 \pm 25,3	1,43 \pm 0,04	0,05 \pm 0,00	0,07 \pm 0,00	0,49 \pm 0,01
2. ИБС (-)	2,05 \pm 0,06	8,06 \pm 0,14	17,04 \pm 0,22	317,8 \pm 15,4	1,34 \pm 0,02	0,05 \pm 0,00	0,07 \pm 0,00	0,45 \pm 0,01

Примечание. * – $p < 0,01$ в сравнении с подгруппой 2.

раза, чем у мужчин с нормальным ХС ЛПВП. У мужчин с повышенным ИМТ были повышены в 1,1 раза индуцированные катализаторами окисления уровни продуктов ПОЛ в ЛПНП через 3 и 30 мин их инкубации, а концентрация в крови аутоантител к окЛПНП повышена в 1,2 раза в сравнении с мужчинами с нормальной массой тела.

Опираясь на литературные данные, описывающие связи окислительных изменений ЛПНП с атеросклерозом и ИБС [7, 13–16], мы исследовали возможные ассоциации «Определенной ИБС» с выбранными окислительно-антиоксидантными показателями ЛПНП. У мужчин с «Определенной ИБС» были повышены в 1,1 раза индуцированные катализаторами окисления уровни продуктов ПОЛ в ЛПНП через 3 и 30 мин их инкубации в сравнении с мужчинами без ИБС.

Статистически значимых различий по значениям исследованных окислительно-антиоксидантных показателей ЛПНП между группами мужчин с повышенными и нормальными зна-

чениями АД, вчСРП, глюкозы в крови и курящими и некурящими мужчинами выявлено не было.

Методами параметрического (коэффициенты корреляции Пирсона) и непараметрического (коэффициенты корреляции Спирмена) корреляционного анализа изучены ассоциации окислительно-антиоксидантных показателей ЛПНП с факторами риска. Значимые линейные корреляционные связи ($p < 0,05$) обнаружены между исходным уровнем продуктов ПОЛ в выделенных ЛПНП и концентрацией вчСРП в крови (коэффициенты корреляции Пирсона – 0,180, Спирмена – 0,194), между устойчивостью ЛПНП к окислению и показателями липидного профиля крови (коэффициенты корреляции Пирсона – 0,188, Спирмена – 0,199), ИМТ (коэффициенты корреляции Пирсона – 0,207, Спирмена – 0,260), между уровнем аутоантител к окЛПНП и концентрацией вчСРП (коэффициенты корреляции Пирсона – 0,250, Спирмена – 0,241), ИМТ (коэффициенты корреляции Пирсона – 0,201, Спирмена – 0,219).

Обнаружены также корреляционные связи между содержанием антиоксидантов в ЛПНП, особенно α -токоферола, и показателями липидного профиля крови (коэффициенты корреляции Пирсона – 0,205, Спирмена – 0,221), вчСРП (коэффициенты корреляции Пирсона – 0,215, Спирмена – 0,227), ИМТ (коэффициенты корреляции Пирсона – 0,192, Спирмена – 0,189).

Параметрический и непараметрический корреляционный анализ выявил значимые ($p < 0,05$) линейные корреляционные связи между наличием ИБС и устойчивостью ЛПНП к окислению (коэффициенты корреляции Пирсона – 0,170, Спирмена – 0,185), содержанием α -токоферола в ЛПНП (коэффициенты корреляции Пирсона – 0,175, Спирмена – 0,194), ксантинов в ЛПНП (коэффициенты корреляции Пирсона – 0,182, Спирмена – 0,176).

Достоверность связей окислительно-антиоксидантных показателей ЛПНП с факторами риска атеросклероза и ИБС была оценена также линейным регрессионным анализом. В качестве зависимых переменных модель включала исходный и стимулированные катализаторами окисления уровни продуктов ПОЛ в ЛПНП, содержание антиоксидантов в ЛПНП и уровни в крови антител против окЛПНП, в качестве независимых – показатели липидного профиля крови, глюкозы и вчСРП крови, АД, ИМТ, число выкуриваемых сигарет в неделю. Выявлены значимые ($p < 0,01$) независимые ассоциации окислительно-антиоксидантных показателей ЛПНП, особенно показателя устойчивости ЛПНП к окислению, с показателями липидного профиля крови – общего ХС, ТГ и ХС ЛПВП (стандарт. коэффициент В = 0,461, 0,304 и –0,298 соответственно), с уровнем вчСРП (стандарт. коэффициент В = 0,356), с ИМТ (стандарт. коэффициент В = 0,276) и с наличием ИБС (стандарт. коэффициент В = 0,337). Таким образом, повышенное содержание продуктов ПОЛ в выделенных из крови ЛПНП, сниженное содержание в них α -токоферола, ретинола и ксантинов, и особенно сниженная устойчивость ЛПНП к окислению, у мужчин независимо от других показателей ассоциируются с повышенными уровнями в крови ХС, ТГ, вчСРП, сниженным ХС ЛПВП, повышенным ИМТ и с наличием ИБС.

Проведенный дисперсионный анализ показал, что вариабельность показателя исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП на 27 % обусловлена суммарной вариабельностью показателей интенсивности курения, α -токоферола и ретинола в ЛПНП, ХС ЛПВП и ИМТ ($p < 0,001$). В то же время вариабельность показателя устойчивости ЛПНП к окислению *in vitro* на 39 %

зависит от суммарной вариабельности показателей уровня α -токоферола и ретинола в ЛПНП (коэффициент детерминации 21,9 %), общего ХС, ИМТ, ХС ЛПВП и вчСРП ($p < 0,001$).

Полученные результаты не противоречат данным мировой литературы. Известно, что при гиперхолестеринемии или дислипидемии, когда ЛПНП обогащены линолевой и арахидоновой ПНЖК и бедны антиоксидантами, устойчивость ЛПНП к Cu^{2+} -зависимому окислению ниже, чем при нормолипидемии [2, 3]. Также показано, что избыточная масса тела, ожирение, гиперинсулинемия/инсулинорезистентность при метаболическом синдроме потенцируют развитие окислительно-антиоксидантных нарушений в крови и в сосудистой стенке, в том числе в ЛПНП [17]. Кроме того, имеются данные об противовоспалительном эффекте α -токоферола, который реализуется через обогащение частиц ЛПНП этим липофильным антиоксидантом, далее повышением устойчивости ЛПНП к окислению и, как следствие, ослаблением провоспалительного и цитотоксического эффектов частиц ЛПНП на сосудистый эндотелий, ослаблением потенцирования воспалительных изменений в сосудистой стенке, снижением синтеза белков острой фазы воспаления, в том числе вчСРП [18].

Нами выполнены процентильный, децильный и квартильный анализы исследованных показателей окислительно-антиоксидантного потенциала ЛПНП и числа случаев «Определенной ИБС». Наиболее наглядные результаты получены при квартильном анализе показателей окислительно-антиоксидантных изменений ЛПНП (исходный и стимулированные катализаторами окисления уровни продуктов ПОЛ в ЛПНП, концентрации в ЛПНП антиоксидантов, концентрации в крови антител к окЛПНП).

Изучение случаев ИБС в квартилях исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП (рис. 1) показало, что в популяции мужчин 47–73 лет г. Новосибирска при показателях исходного уровня продуктов ПОЛ в выделенных из крови ЛПНП $>0,8$ нМ МДА/мг белка ЛПНП наблюдается рост числа случаев ИБС достоверно во всех квартилях. Из 223 мужчин с «Определенной ИБС» в 1-м квартиле показателя исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП оказалось 44 человека (19,7 %), во 2-м – 56 (25,1 %), в 3-м – 60 (27,0 %) и в 4-м – 63 человека (28,2 %).

Изучение случаев ИБС в квартилях стимулированного катализаторами окисления уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП через 3 мин (на начальном этапе окисления ЛПНП *in vitro*) по-

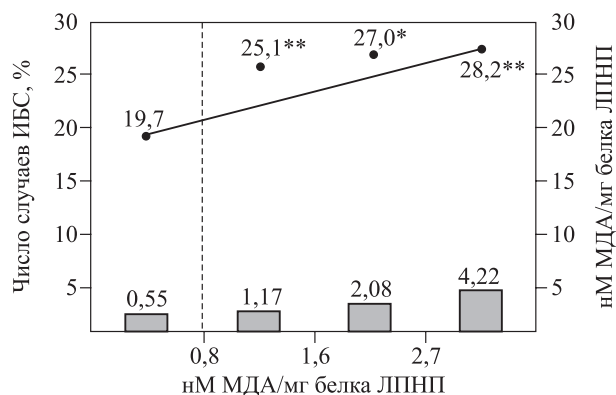


Рис. 1. Число случаев ИБС по квартилям исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП в мужской популяции. По оси абсцисс – границы квартилей исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП; по левой оси ординат – число случаев ИБС, %; по правой оси ординат – средние квартильные значения исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП. * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$ в сравнении с 1-м квартилем

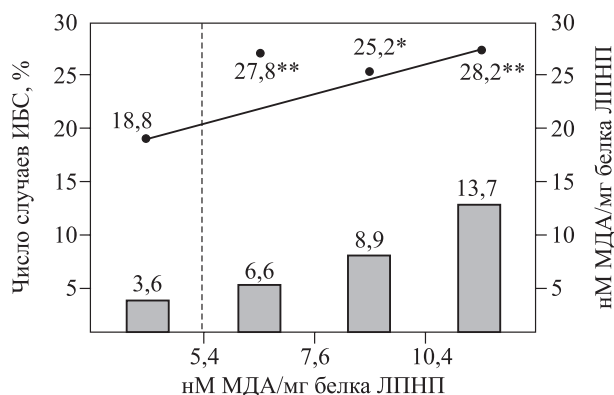


Рис. 2. Число случаев ИБС по квартилям уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП после 3 мин их окисления *in vitro* в мужской популяции. По оси абсцисс – границы квартилей уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП после 3 мин их окисления *in vitro*; по левой оси ординат – число случаев ИБС, %; по правой оси ординат – средние квартильные значения уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП после 3 мин их окисления *in vitro*. * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$ в сравнении с 1-м квартилем

казало, что в популяции мужчин 47–73 лет г. Новосибирска при значениях этого показателя $>5,4$ нМ МДА/мг белка ЛПНП наблюдается рост числа случаев ИБС достоверно во всех квартилях (рис. 2). Из 223 мужчин с «Определенной ИБС» в 1-м квартиле показателя стимулированного катализаторами окисления уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП через 3 мин их окисления оказалось 42 человека (18,8 %), во 2-м – 62 (27,8 %), в 3-м – 56 (25,2 %) и в 4-м – 63 человека (28,2 %).

Изучение случаев ИБС в квартилях стимулированного катализаторами окисления уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП через 30 мин (на развернутом этапе окисления ЛПНП *in vitro*) показало, что в популяции мужчин 47–73 лет г. Новосибирска при значениях этого показателя $>13,2$ нМ МДА/мг белка ЛПНП наблюдается рост числа случаев ИБС достоверно во всех квартилях (рис. 3). Из 223 мужчин с «Определенной ИБС» в 1-м квартиле показателя стимулированного катализаторами окисления уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП через 30 мин их окисления оказалось 33 человека (14,8 %), во 2-м – 54 (24,2 %), в 3-м и в 4-м – по 68 человек (по 30,5 %).

Изучение случаев ИБС в квартилях показателей концентраций в ЛПНП таких антиоксидантов, как β -каротин, ретинол и ксантины, а также показателей концентрации в крови антител к окЛПНП в популяции мужчин г. Новоси-

бирска не выявило значимых изменений числа случаев ИБС между квартилями.

При изучении случаев ИБС в квартилях показателя концентрации α -токоферола в ЛПНП выявлено, что в популяции мужчин 47–73 лет г. Новосибирска при значениях этого показателя $>1,06$ мг/мг белка ЛПНП наблюдается сни-

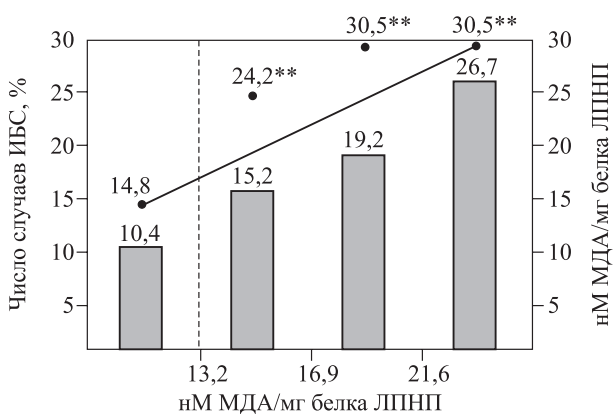


Рис. 3. Число случаев ИБС по квартилям уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП после 30 мин их окисления *in vitro* в мужской популяции. По оси абсцисс – границы квартилей уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП после 30 мин их окисления *in vitro*; по левой оси ординат – число случаев ИБС, %; по правой оси ординат – средние квартильные значения уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП после 30 мин их окисления *in vitro*. ** – при $p < 0,01$ в сравнении с 1-м квартилем

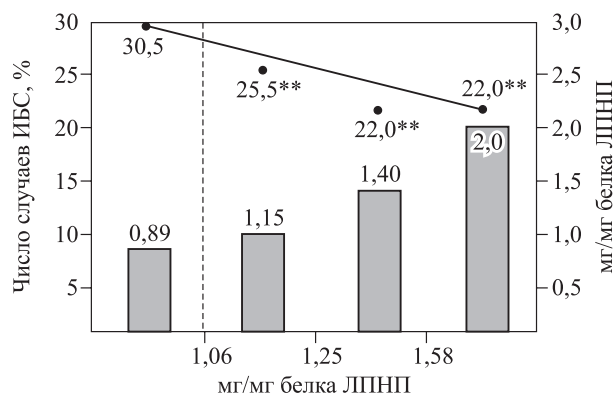


Рис. 4. Число случаев ИБС по квартилям концентрации α -токоферола в ЛПНП в мужской популяции. По оси абсцисс – границы квартилей концентрации α -токоферола в ЛПНП; по левой оси ординат – число случаев ИБС, %; по правой оси ординат – средние квартильные значения концентрации α -токоферола в ЛПНП. ** – при $p < 0,01$ в сравнении с 1-м квартилем

жение числа случаев ИБС достоверно во всех квартилях (рис. 4). Так, из 223 мужчин с «Определенной ИБС» в 1-м квартиле показателя концентрации α -токоферола в ЛПНП оказалось 68 человек (30,5 %), во 2-м – 57 (25,5 %), в 3-м и в 4-м – по 49 человек (по 22,0 %).

Таким образом, в результате популяционного обследования мужчин 47–73 лет г. Новосибирска определены региональные ориентиры показателей потенциально атерогенных окислительно-антиоксидантных изменений ЛПНП по 10–90 % отрезным точкам их процентильного распределения. Полученные результаты свидетельствуют о независимых ассоциациях показателей повышенного исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП, сниженных устойчивости ЛПНП к окислению и их антиоксидантного потенциала с такими патогенетически значимыми потенциально атерогенными факторами, как повышенные уровни в крови общего ХС, ТГ, вчСРП, сниженный ХС ЛПВП и повышенный ИМТ. Между показателями окислительных изменений ЛПНП, в частности сниженной устойчивостью ЛПНП к окислению, и наличием ИБС выявлены положительные корреляционные связи и независимые ассоциации, а между показателями антиоксидантных изменений ЛПНП, в частности сниженным содержанием α -токоферола в ЛПНП, и наличием ИБС выявлены отрицательные корреляционные связи. Число случаев «Определенной ИБС» выше при показателе исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛПНП $>0,8$ нМ МДА/мг белка ЛПНП и при сниженной устойчивости ЛПНП к окислению

(при показателях на начальном этапе окисления ЛПНП $>5,4$ нМ МДА/мг белка ЛПНП и на развернутом этапе окисления ЛПНП $>13,2$ нМ МДА/мг белка ЛПНП). С другой стороны, число случаев «Определенной ИБС» ниже при показателе содержания α -токоферола в ЛПНП $>1,06$ мг/мг белка ЛПНП. Полученные результаты подтверждают данные о значимой ключевой роли окислительной модификации ЛПНП в патогенезе атеросклероза и ИБС.

Работа выполнена при финансовой поддержке Международного проекта НАРПЕЕ № 064947/Z/01/ZNIA.

ЛИТЕРАТУРА

- Osterud B., Bjorklid E. Role monocytes in atherogenesis // *Physiol. Rev.* 2003. Vol. 83. 1069–1113.
- Williams K.J., Fisher E.A. Oxidation, lipoproteins and atherosclerosis // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Care.* 2005. Vol. 8. P. 139–146.
- Steinberg D. The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an update // *J. Lipid Res.* 2009. Suppl.: P. S376–S381.
- Stocker R., Keaney J.F. New insights on oxidative stress in the artery wall // *J. Thromb. Haemost.* 2005. Vol. 3 (8). P. 1825–1834.
- Menshikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K. et al. Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants. Moscow: Word, 2006, 560 p.
- De Rosa S., Cirillo P., Paglia A. et al. Reactive oxygen species and antioxidants in the pathophysiology of cardiovascular disease: does the actual knowledge justify a clinical approach? // *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2010. Vol. 8 (2). P. 259–275.
- Ishigaki Y., Oka Y., Katagiri H. Circulating oxidized LDL: a biomarker and a pathogenic factor // *Curr. Opin. Lipid.* 2009. Vol. 20 (5). P. 363–369.
- Esterbauer H., Jurgens G. Mechanistic and genetic aspects of susceptibility of LDL to oxidation // *Curr. Opin. Lipid.* 1993. Vol. 4. P. 114–124.
- Yoshida H., Kisugi R. Mechanisms of LDL oxidation // *Clin. Chim. Acta.* 2010. Vol. 411 (23–24). P. 1875–1882.
- Ragino Yu.I., Voevoda M.I., Dushkin M.I. et al. Application of new biochemical methods for evaluation of oxidative-antioxidative potential of low density lipoproteins // *Clin. Lab. Diagn.* 2005. Vol. 4. P. 11–15.
- Voevoda M.I., Semaeva E.V., Ragino Yu.I. et al. Lipid and lipoproteins disturbances in coronary atherosclerosis. Comparison with population data // *Rus. Cardiol. J.* 2005. Vol. 4. P. 58–63.
- Ragino Yu.I., Polonskaya Ya.V., Semaeva E.V. et al. Atherogenic oxidative and structural modifications of low density lipoproteins in coronary atherosclerosis men // *Cardiology.* 2007. Vol. 11. P. 14–19.
- Mitra S., Deshmukh A., Sachdeva R. et al. Oxidized low-density lipoprotein and atherosclerosis implications in antioxidant therapy // *Am. J. Med. Sci.* 2011. Vol. 342 (2). P. 135–142.
- D'Archivio M., Annuzzi G., Vari R. et al. Predominant role of obesity/insulin resistance in oxidative stress de-

- velopment // Eur. J. Clin. Invest. 2012. Vol. 42 (1). P. 70–78.
15. Singh U., Jialal I. Anti-inflammatory effects of alpha-tocopherol // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2004. Vol. 1031. P. 195–203.
16. Saremi A., Arora R. Vitamin E and cardiovascular disease // Am. J. Ther. 2010. Vol. 17 (3). P. e56–e65.
17. Ragino Yu.I., Krivchun A.S., Ivanova M.V. et al. Oxidative-antioxidants modifications of low density lipoproteins and their associations with some atherosclerosis risk factors in men population of Novosibirsk // Rus. Cardiol. J., 2012. Vol. 3. P. 56–62.
18. Рагино Ю.И., Кривчун А.С., Полонская Я.В., Щербаклова Л.В., Садовский Е.В., Воевода М.И. Связь окислительно-антиоксидантных изменений липопротеинов низкой плотности с ишемической болезнью сердца в популяции мужчин Новосибирска // Рос. кардиол. журн. 2013. № 6 (104). С. 43–48.

ATHEROGENIC OXIDATIVE-ANTIOXIDANTS MODIFICATIONS OF LOW DENSITY LIPOPROTEINS. POPULATION STUDY

Yu.I. Ragino, L.V. Shcherbakova, Ya.V. Polonskaya, E.V. Sadovski

*Institute of Internal and Preventive Medicine of SB RAMS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

The aim of the study was to investigate of parameters of oxidation-antioxidant changes in low density lipoprotein (LDL) in men population and to evaluate their associations with risk factors for atherosclerosis and coronary artery disease (CAD). A population-based survey of 1024 Novosibirsk men 47–73 years old was performed. Programm of the survey included the questionnaires, standardized cardiological survey, anthropometry, blood pressure measurement, ECG recording. In 223 people (21.8 %) had «definitely CHD» (stable angina pectoris, FC II–IV) by a validated epidemiological, clinical and functional criteria. Biochemical studies included the determinations of blood total cholesterol (CH), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-CH), C-reactive protein in a highly sensitive range (hsCRP), glucose, baseline lipid peroxidation (LPO) and fat-soluble antioxidants (alpha-tocopherol, retinol, beta-carotene, xanthine) in LDL, LDL resistance to oxidation in vitro, the concentration of autoantibodies to oxidized LDL (oxLDL).

For the Novosibirsk male population as regional values are 10–90 % cut-off point percentile distribution of baseline LPO level in LDL, LDL resistance to oxidation at the initial and propagation stages of their oxidation, lipophilic antioxidants in LDL, concentration of autoantibodies to oxLDL. Elevated level of LPO products in LDL, decreased antioxidants content in LDL and, especially, decreased resistance of LDL to oxidation in men independently associated with elevated blood levels of CH, TG, hsCRP, reduced HDL-CH, increased BMI. Positive correlations and independent associations between decreased LDL resistance to oxidation in vitro and CHD were revealed. Negative correlations between decreased LDL alpha-tocopherol content and CHD were revealed also. The incidence of CHD is higher in the index of the initial level of lipid peroxidation (LPO) in LDL >0.8 nM MDA/mg LDL protein and decreased resistance of LDL to oxidation (at rates in the initial stage of LDL oxidation >5.4 nM MDA/mg LDL protein and in the progressive stage of LDL oxidation >13.2 nM MDA/mg LDL protein). On the other hand, the incidence of CHD is lower in the index of alpha-tocopherol in LDL >1.06 mg/mg protein LDL.

The results confirm the known data about the key role of LDL oxidative modification in the pathogenesis of atherosclerosis and CHD.

Keywords: population study, risk factors, atherosclerosis, coronary heart disease, low density lipoproteins, resistance to oxidation, antioxidants.

Статья поступила 16 марта 2014 г.