

ОКИСЛИТЕЛЬНО-АНТИОКСИДАНТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ И ИХ АССОЦИИИ С НЕКОТОРЫМИ ФАКТОРАМИ РИСКА АТЕРОСКЛЕРОЗА В ПОПУЛЯЦИИ МУЖЧИН НОВОСИБИРСКА

Рагино Ю. И., Кривчун А. С., Иванова М. В., Щербакова Л. В., Малютина С. К., Никитин Ю. П., Воевода М. И.

Цель. Изучение показателей окислительно-антиоксидантных изменений липопротеинов низкой плотности (ЛНП) в мужской популяции и исследование их связи с некоторыми факторами риска атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС).

Материал и методы. Проведено популяционное обследование 1024 мужчин 47–73 лет г. Новосибирска, в программе которого были анкетирование, стандартизованный кардиологический опрос, антропометрия, измерение АД, запись ЭКГ. Биохимические исследования крови включали определение общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), ХС липопротеинов высокой плотности (ЛВП-ХС), С-реактивного протеина в высокочувствительном диапазоне (вЧСРП), глюкозы, исходного уровня продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и жирорастворимых антиоксидантов (альфа-токоферола, ретинола, бета-каротина, ксантинов) в ЛНП, устойчивости ЛНП к окислению *in vitro*, концентрации аутоантител к окисленным ЛНП (окЛНП).

Результаты. Для мужской популяции г. Новосибирска в качестве региональных ориентиров представлены 10–90% отрезные точки процентильного распределения показателей исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛНП, их устойчивости к окислению на начальной и развернутой стадиях окислительных изменений ЛНП, липофильных антиоксидантов в ЛНП, концентраций аутоантител к окЛНП. Корреляционные связи обнаружены между исходным уровнем продуктов ПОЛ в ЛНП и концентрацией вЧСРП, между устойчивостью ЛНП к окислению и показателями липидного профиля крови, индексом массы тела (ИМТ) и наличием ИБС, между уровнем аутоантител к окЛНП и концентрацией вЧСРП, ИМТ, между содержанием антиоксидантов в ЛНП, особенно альфа-токоферола, и показателями липидного профиля крови, вЧСРП, ИМТ и наличием ИБС. Повышенное содержание продуктов ПОЛ в ЛНП, сниженное содержание в них антиоксидантов и, особенно, сниженная устойчивость ЛНП к окислению у мужчин независимо ассоциируются с повышенными уровнями в крови ХС, ТГ, вЧСРП, сниженным ЛВП-ХС, повышенным ИМТ и наличием ИБС.

Заключение. В мужской популяции определены региональные ориентиры показателей окислительно-антиоксидантных изменений ЛНП и выявлены их независимые ассоциации не только с наличием ИБС, но и с патогенетически значимыми потенциально атерогенными факторами риска ее развития.

Российский кардиологический журнал 2012, 3 (95): 56-61

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

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт терапии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук (ФГБУ «НИИ терапии» СО РАМН), Новосибирск, Россия.

Рагино Ю. И.* – д. м. н., профессор, зав. лабораторией клинических, биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний; Кривчун А. С. – аспирант; Иванова М. В. – ст. н. с. лаборатории клинических, биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний; Щербакова Л. В. – ст. н. с. лаборатории клинико-популяционных и профилактических исследований терапевтических заболеваний; Малютина С. К. – д. м. н., проф., гл. н. с. лаборатории этиопатогенеза и клиники терапевтических заболеваний; Никитин Ю. П. – д. м. н., профессор, академик РАМН, зав. лабораторией этиопатогенеза и клиники терапевтических заболеваний; Воевода М. И. – д. м. н., проф., член-корр. РАМН, директор ФГБУ «НИИ терапии» СО РАМН.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): ragino@mail.ru

АД – артериальное давление, АКМ – активные кислородные метаболиты, вЧСРП – высокочувствительный С-реактивный протеин, ИБС – ишемическая болезнь сердца, ИМТ – индекс массы тела, ЛВП-ХС – холестерин липопротеинов высокой плотности, ЛНП – липопротеины низкой плотности, МДА – малоновый диальдегид, окЛНП – окисленные липопротеины низкой плотности, ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты, ПОЛ – перекисное окисление липидов, ТГ – триглицериды, ХС – холестерин, ЭКГ – электрокардиография.

Рукопись получена 15.03.2012

Принята к публикации 16.04.2012

Лидирующая позиция сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза в структуре смертности населения России способствует продолжению интенсивного изучения этиопатогенеза атеросклероза. Одну из ключевых ролей в атерогенезе играют окислено-модифицированные липопротеины низкой плотности (окЛНП) [1–3]. ОкЛНП характеризуются сниженным содержанием свободных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и антиоксидантов (альфа-токоферола, гамма-токоферола, ретинола, бета-каротина и других), повышенным содержанием продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), окислено-модифицированными апопротеинами апо-В-100 и апо-Е [2–6]. В результате описанных патологических изменений окЛНП не узнаются нормальными апо-В/Е-рецепторами клеток, но активно захватываются скэвинджер-рецепторами макрофагов в субэндотелии сосудистой

стенки. Повышенный эндоцитоз богатых холестерином (ХС) окЛНП макрофагами приводит к их трансформации в пенистые клетки – морфологический маркер атеросклероза [1–3]. Окислительная модификация циркулирующих в крови ЛНП менее выражена, чем таковая в субэндотелии сосудистой стенки, где активны процессы клеточного окисления ЛНП моноцит/макрофагами, Т-лимфоцитами и пенистыми клетками, секретирующими активные кислородные метаболиты (АКМ) [4, 7].

Для оценки окислительной модификации циркулирующих в крови ЛНП используют измерение содержания в них продуктов ПОЛ. Также существует показатель для оценки «предрасположенности» ЛНП к окислению – устойчивость ЛНП к окислению *in vitro* под действием катализаторов окисления. Он интегративно отражает как прооксидантную возможность ЛНП (содержание в них ПНЖК, гидропе-

Таблица 1

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

Показатели	M±m	σ	Перцентили, %							min-max
			5	10	25	50	75	90	95	
Исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛНП, нМ МДА/мг белка ЛНП	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 ЛНП после 3 мин. окисления, нМ МДА/мг белка ЛНП	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 ЛНП после 30 мин. окисления, нМ МДА/мг белка ЛНП	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 окЛНП, 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
Альфа-токоферол ЛНП, мг/мг белка ЛНП	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 ЛНП, мг/мг белка ЛНП	0,05±0,00	0,04	0,023	0,026	0,03	0,05	0,06	0,08	0,09	0,01–0,94
Бета-каротин ЛНП, мг/мг белка ЛНП	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 ЛНП, мг/мг белка ЛНП	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±m – средняя и ошибка средней, σ – стандартное отклонение, min-max – минимум-максимум.

рекисей липидов и др.), так и их антиоксидантный потенциал (содержание α-токоферола и других антиоксидантов) [8–10]. Повышенный уровень продуктов ПОЛ в выделенных из крови ЛНП, их сниженная устойчивость к окислению и низкое содержание в ЛНП липофильных антиоксидантов часто выявляются у лиц с ишемической болезнью сердца (ИБС) и коронарным атеросклерозом [7, 11–13]. В настоящей работе были изучены указанные показатели на популяционном уровне в крупном промышленном центре Западной Сибири, а также исследованы их связи с некоторыми факторами риска атеросклероза.

Материал и методы

Обследование популяционной выборки мужчин проводилось в ходе скрининга в рамках международного проекта HAPIEE фонда Wellcome Trust (Великобритания) «Детерминанты сердечно-сосудистых заболеваний в Восточной Европе. Многоцентровое когортное исследование» в период 2007–2008 гг. Руководящие исследователи в г. Новосибирске – академик РАМН Никитин Ю. П. и д.м.н., профессор Малютина С. К. Исследование было одобрено Этическим Комитетом НИИ терапии СО РАМН, протокол № 1 от 14.03.2002 г. В исследование было включено 1024 мужчины 47–73 лет (средний возраст – 61,1±0,3 лет, здесь и далее M±m) – популяционная выборка мужчин Октябрьского района г. Новосибирска. Все обследованные заполняли форму Информированного согласия на участие в исследовании.

Скрининг проводила бригада врачей – сотрудников НИИ терапии СО РАМН, прошедших подготовку по стандартизованным эпидемиологическим методам измерения артериального давления (АД), антропометрии и биохимических исследований. Скрининг проводился на базе ФГБУ «НИИ терапии» СО РАМН. В программу обследования входили: демографиче-

ские и социальные данные, опрос о привычке курения и употреблении алкоголя, диетологический опрос, история хронических заболеваний и употребления медикаментов, кардиологический опрос по Роуз, антропометрия, 3-х кратное измерение АД, спирометрия, запись ЭКГ с расшифровкой по Миннесотскому коду. Средний уровень АД в популяционной группе мужчин был 145,5±0,74/90,5±0,4 мм рт.ст. Средний индекс массы тела (ИМТ) в популяционной группе мужчин был 27,4±0,38 кг/м²; ИМТ ≥25,0 кг/м² был у 662 человек (64,6%), а <25,0 кг/м² – у 362 человек (35,4%).

Из 1024 мужчин популяционной группы у 223 (21,8%) была выявлена «Определенная ИБС» (стабильная стенокардия напряжения ФК II–IV) по валидизированным эпидемиологическим (в т.ч. 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 ЛНП, концентрации в ЛНП антиоксидантов, концентрации в крови антител к окЛНП.

Показатели липидного профиля (общий ХС, триглицериды, ТГ, холестерин липопротеинов высокой плотности, ЛВП-ХС) 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)

Таблица 2

Окислительно-антиоксидантные показатели ЛНП в зависимости от наличия факторов риска атеросклероза и ИБС (M±m)

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

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

с использованием ELISAs тест-систем Biomerica на полуавтоматическом ИФА анализаторе «Multiscan EX». Средние уровни показателей в популяционной группе мужчин были: общий ХС – 5,56±0,03 ммоль/л, ТГ – 1,35±0,02 ммоль/л, ЛВП-ХС – 1,43±0,01 ммоль/л, глюкоза плазмы крови – 5,9±0,05 ммоль/л, вСРП – 1,35±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 x глюкоза сыворотки (ммоль/л). Общий ХС ≥5,0 ммоль/л был у 714 человек (69,7%), а <5,0 ммоль/л – у 310 человек (30,3%); ТГ ≥1,7 ммоль/л были у 213 человек (20,8%), а <1,7 ммоль/л – у 811 человек (79,2%); ЛВП-ХС ≤1,0 ммоль/л был у 69 человек (6,7%), а >1,0 ммоль/л – у 955 человек (93,3%).

Определение исходного и стимулированного катализаторами окисления уровней продуктов ПОЛ в ЛНП и концентрации в ЛНП антиоксидантов проводили собственными способами [10, 12]. Кратко: ЛНП получали из сыворотки методом осаждения с буферным гепарином, промывали и растворяли в 1 М растворе NaCl. В ЛНП определяли концентрацию белка по методу Лоури, концентрации альфа-токоферола, ретинола, бета-каротина, ксантинов флуориметрическими методами. Окислительную модификацию ЛНП проводили в изотоническом растворе NaCl, содержащем ионы Cu²⁺ при 37° С. До окисления, после 3 и 30 мин. инкубации ЛНП оценивали степень их окислительной модификации по концентрации одного из конечных продуктов ПОЛ малонового диальдегида (МДА) флуориметрическим методом на спектрофлуориметре Versafluor.

Концентрацию антител к окЛНП 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 линейно регрессионный и дисперсионный анализы. Критерием статистической достоверности был уровень p<0,05.

Результаты и обсуждение

Уровень продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, МДА и др.) в свежевыделенных из крови ЛНП исследуется с целью оценки степени окислительной модификации ЛНП *in vivo* в крови, где циркулируют так называемые «минимально окисленные» ЛНП [7]. У мужчин на популяционном уровне нами определено среднее значение концентрации исходного содержания продуктов ПОЛ в ЛНП сразу после их выделения из крови – 2,0±0,05 нмоль МДА/мг белка ЛНП (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 ЛНП.

Основной процесс клеточного окисления ЛНП *in vivo* происходит в субэндотелии сосудистой

Таблица 3

Корреляционные связи окислительно-антиоксидантных показателей ЛНП с факторами риска атеросклероза и ИБС (коэффициенты корреляции Пирсона, Спирмена)

Показатели	Общий ХС	ЛВП-ХС	ТГ	вчСРП	САД	ИМТ	Глюкоза	ИБС
Исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛНП				0,180* 0,194**				
Уровень продуктов ПОЛ в ЛНП после 3 мин. окисления		-0,165* -0,174*			0,177* 0,171*	0,191** 0,210**		0,181* 0,169*
Уровень продуктов ПОЛ в ЛНП после 30 мин. окисления	0,188** 0,199**	-0,189** -0,169*	0,167* 0,188**			0,207** 0,260**		0,170* 0,185*
Антитела к окЛНП				0,250** 0,241**		0,201* 0,219*	0,247** 0,275**	
Альфа-токоферол ЛНП	-0,205** -0,221**	0,165* 0,174*	-0,201** -0,213**	-0,215** -0,227**	-0,166* -0,159*			-0,175* -0,194*
Ретинол ЛНП		0,182* 0,187*	-0,179* -0,185*			-0,192** -0,189**	-0,216** -0,219**	
Бета-каротин ЛНП	-0,187** -0,224**							
Ксантины ЛНП	-0,183* -0,195*							-0,182* 0,176*

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

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

Показатель устойчивости ЛНП к окислению *in vitro* интегративно отражает не только прооксидантную возможность ЛНП, но и их антиоксидантный потенциал. Известно, что начальная скорость окисления ЛНП зависит от содержания в них таких липофильных антиоксидантов, как, прежде всего, альфа-токоферола, а также ретинола, бета-каротина,

ксантинов и других, сдерживающих процессы окисления ПНЖК в ЛНП до момента полного истощения антиоксидантных возможностей ЛНП под действием АКМ [8–10]. Нами получены популяционные средние значения показателей антиоксидантов в ЛНП: альфа-токоферола – $1,4 \pm 0,01$ мг/мг белка ЛНП, ретинола – $0,05 \pm 0,00$ мг/мг белка ЛНП, бета-каротина – $0,07 \pm 0,00$ мг/мг белка ЛНП и ксантинов – $0,46 \pm 0,01$ мг/мг белка ЛНП (табл. 1). В качестве региональных ориентиров этих показателей для мужчин 47–73 лет г. Новосибирска можно использовать 10–90% отрезные точки процентильного распределения: альфа-токоферол ЛНП – 0,9–1,9 мг/мг белка ЛНП, ретинол ЛНП – 0,026–0,08 мг/мг белка ЛНП, бета-каротин ЛНП – 0,04–0,11 мг/мг белка ЛНП, ксантины ЛНП – 0,23–0,73 мг/мг белка ЛНП.

В последние годы при ИБС и атеросклерозе активно исследуются в крови антитела к окЛНП. Предполагается, что уровень аутоантител против окЛНП является биомаркером активности окислительных процессов *in vivo* и «окислительного стресса», в частности, при атеросклерозе [3, 7]. У мужчин на популяционном уровне нами определено среднее значение концентрации аутоантител к окЛНП – $318,1 \pm 13,0$ мЕД/мл (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 ЛНП. 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 ЛНП через 30 минут их инкубации выше в 1,1 раза, а содержание альфа-токоферола в ЛНП ниже в 1,1 раза, чем у мужчин с нормальными ХС или ТГ крови. У мужчин со сниженным уровнем ЛВП-ХС в крови концентрация продуктов ПОЛ в ЛНП через 30 минут их инкубации с катализаторами окисления была выше в 1,1 раза, чем у мужчин с нормальным ЛВП-ХС. У мужчин с повышенным ИМТ были повышены в 1,1 раза индуцированные катализаторами окисления уровни продуктов ПОЛ в ЛНП через 3 и 30 минут их инкубации, а концентрация в крови аутоантител к окЛНП повышена в 1,2 раза в сравнении с мужчинами с нормальной массой тела. У мужчин с «Определенной ИБС» были повышены в 1,1 раза индуцированные катализаторами окисления уровни продуктов ПОЛ в ЛНП через 3 и 30 минут их инкубации в сравнении с мужчинами без ИБС. Статистически значимых различий по значениям исследованных окислительно-антиоксидантных показателей ЛНП между группами мужчин с повышенными и нормальными значениями АД, вчСРП, глюкозы крови и курящими и некурящими мужчинами выявлено не было.

Изучение ассоциаций окислительно-антиоксидантных показателей ЛНП с факторами риска мы провели также методами параметрического (коэффициенты корреляции Пирсона) и непараметрического (коэффициенты корреляции Спирмена) корреляционного анализа (табл. 3). Значимые линейные корреляционные связи обнаружены между исходным уровнем продуктов ПОЛ в выделенных ЛНП и концентрацией вчСРП в крови, между устойчивостью ЛНП к окислению и показателями липидного профиля крови, ИМТ и наличием ИБС между уровнем аутоантител к окЛНП и концентрацией вчСРП, ИМТ. Обнаружены также корреляционные связи между содержанием антиоксидантов в ЛНП, особенно альфа-токоферола, и показателями липидного профиля крови, вчСРП, ИМТ и наличием ИБС.

Достоверность связей окислительно-антиоксидантных показателей ЛНП с факторами риска атеросклероза и ИБС была оценена также методом линейного регрессионного анализа. В качестве зависимых переменных модель включала исходный и стимулированные катализаторами окисления уровни продуктов ПОЛ в ЛНП, содержание антиоксидантов в ЛНП и уровни в крови антител против окЛНП, 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 окисли-

тельно-антиоксидантных показателей ЛНП, особенно показателя устойчивости ЛНП к окислению, с показателями липидного профиля крови — общего ХС, ТГ и ЛВП-ХС (стандарт. коэффициент $B=0,461$, $0,304$ и $-0,298$ соответственно), с уровнем вчСРП (стандарт. коэффициент $B=0,356$), с ИМТ (стандарт. коэффициент $B=0,276$) и с наличием ИБС (стандарт. коэффициент $B=0,337$).

Таким образом, повышенное содержание продуктов ПОЛ в выделенных из крови ЛНП, сниженное содержание в них альфа-токоферола, ретинола и ксантинов и, особенно, сниженная устойчивость ЛНП к окислению у мужчин, независимо от других показателей, ассоциируются с повышенными уровнями в крови ХС, ТГ, вчСРП, сниженным ЛВП-ХС, повышенным ИМТ и с наличием ИБС.

Проведенный дисперсионный анализ показал, что вариабельность показателя исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛНП на 27% обусловлена суммарной вариабельностью показателей интенсивности курения, альфа-токоферола и ретинола в ЛНП, ЛВП-ХС и ИМТ ($p < 0,001$). В то же время вариабельность показателя устойчивости ЛНП к окислению *in vitro* на 39% обусловлена суммарной вариабельностью показателей уровня альфа-токоферола и ретинола в ЛНП (коэффициент детерминации — 21,9%), общего ХС, ИМТ, ЛВП-ХС и вчСРП ($p < 0,001$).

Полученные результаты не противоречат данным мировой литературы. Известно, что при гиперхолестеринемии или дислипидотеинемии, когда ЛНП обогащены линолевой и арахидоновой ПНЖК и бедны антиоксидантами, устойчивость ЛНП 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 ЛНП [14]. Кроме того, есть данные об противовоспалительном эффекте альфа-токоферола, который реализуется через обогащение частиц ЛНП этим липофильным антиоксидантом, далее повышением устойчивости ЛНП к окислению и, как следствием, ослаблением провоспалительного и цитотоксического эффектов частиц ЛНП на сосудистый эндотелий, ослаблением потенцирования воспалительных изменений в сосудистой стенке, снижением синтеза белков острой фазы воспаления, в том числе вчСРП [15]. Представленные в таблице 3 результаты также подчеркивают значимые связи между повышенным уровнем в крови вчСРП и сниженным содержанием альфа-токоферола в ЛНП, повышенными концентрациями продуктов ПОЛ в ЛНП и антител против окЛНП в крови.

Таким образом, в результате популяционного обследования мужчин 47–73 лет г. Новосибирска

определены региональные ориентиры показателей потенциально атерогенных окислительно-антиоксидантных изменений ЛНП по 10–90% отрезным точкам их процентильного распределения. Полученные результаты свидетельствуют о независимых ассоциациях показателей повышенного исходного уровня продуктов ПОЛ в ЛНП, сниженной устойчивости ЛНП к окислению и их антиоксидантного потенциала не только с наличием ИБС, но и с такими патогенети-

чески значимыми потенциально атерогенными факторами, как повышенные уровни в крови общего ХС, ТГ, вчСРП, сниженный ЛВП-ХС и повышенный ИМТ.

Конфликт интересов

Работа выполнена при финансовой поддержке Международного проекта НАРПЕЕ № 064947/Z/01/ZNIA и Гранта Министерства образования и науки РФ (Государственный контракт № 14.740.11.0174).

Литература

- Osterud B., Bjorklid E. Role monocytes in atherogenesis. *Physiol. Rev.*, 2003; 83: 1069–113.
- Williams K. J., Fisher E. A. Oxidation, lipoproteins and atherosclerosis. *Curr. Opin. in Clin. Nutr. Care*, 2005; 8: 139–146.
- Steinberg D. The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an update. *J. Lipid Res.*, 2009; Suppl.: S376–81.
- Stocker R., Keaney J. F. New insights on oxidative stress in the artery wall. *J. Thromb. Haemost.*, 2005; 3 (8): 1825–1834.
- Menshikova E. B., Lankin V. Z., Zenkov N. K. et al. Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants. Moscow: Word, 2006, 560 p. Russian (Меньщикова Е. Б., Ланкин В. З., Зенков Н. К. и др. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. Москва: Слово, 2006, 560 с).
- 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; 8 (2): 259–275.
- Ishigaki Y., Oka Y., Katagiri H. Circulating oxidized LDL: a biomarker and a pathogenic factor. *Curr. Opin. Lipidol.*, 2009; 20 (5): 363–369.
- Esterbauer H., Jurgens G. Mechanistic and genetic aspects of susceptibility of LDL to oxidation. *Current Opinion in Lipidology*, 1993; 4: 114–24.
- Yoshida H., Kisugi R. Mechanisms of LDL oxidation. *Clin. Chim. Acta*, 2010; 411 (23–24): 1875–82.
- 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. *Clinical laboratorial diagnostic*, 2005; 4: 11–15. Russian (Рагино Ю. И., Воевода М. И., Душкин М. И. и др. Применение новых биохимических способов для оценки окислительно-антиоксидантного потенциала липопротеинов низкой плотности. Клиническая лабораторная диагностика, 2005; 4: 11–15).
- Voevoda M. I., Semaeva E. V., Ragino Yu. I. et al. Lipid and lipoproteins disturbances in coronary atherosclerosis. Comparison with population data. *Russian cardiology journal*, 2005; 4: 58–63. Russian (Воевода М. И., Семаева Е. В., Рагино Ю. И. и др. Липидные и липопротеиновые нарушения при коронарном атеросклерозе. Сравнение с популяционными данными. Российский кардиологический журнал, 2005; 4: 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; 11: 14–19. Russian (Рагино Ю. И., Полонская Я. В., Семаева Е. В. и др. Атерогенные окислительная и структурная модификации липопротеинов низкой плотности у мужчин с коронарным атеросклерозом. Кардиология, 2007; 11: 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; 342 (2): 135–42.
- D'Archivio M., Annuzzi G., Vari R. et al. Predominant role of obesity/insulin resistance in oxidative stress development. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2012; 42 (1): 70–78.
- Singh U., Jialal I. Anti-inflammatory effects of alpha-tocopherol. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2004; 1031: 195–203.

Oxidative-antioxidant changes of low-density lipoproteins and their association with atherosclerotic risk factors in male Novosibirsk population

Ragino Yu. I., Krivchun A. S., Ivanova M. V., Shcherbakova L. V., Malyutina S. K., Nikitin Yu. P., Voevoda M. I.

Aim. To investigate the parameters of oxidative-antioxidant changes of low-density lipoproteins (LDL) in a male population, and to study their association with selected risk factors of atherosclerosis and coronary heart disease (CHD).

Material and methods. This population study included 1024 Novosibirsk men, aged 47–73 years. Questionnaire survey, standard cardiological examination, anthropometry, blood pressure (BP) measurement, and electrocardiography (ECG) were performed. Assessed biochemical parameters included total cholesterol (TCH), triglycerides (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-CH), high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), glucose, baseline lipid peroxidation (LPO) and fat-soluble antioxidants (alpha-tocopherol, retinol, beta-carotene, xanthines) in LDL, LDL resistance to oxidation *in vitro*, and autoantibodies to oxidized LDL (oxLDL).

Results. For the male Novosibirsk population, the region-specific 10% and 90% cut-off points for the percentile distribution of baseline LPO in LDL, LDL resistance to oxidation at initiation and propagation stages of oxidative LDL modifications, lipophilic LDL antioxidants, and autoantibodies to oxLDL are presented. Correlations were observed between baseline LPO in LDL and hsCRP levels; between LDL resistance to oxidation and blood lipid profile, body mass index (BMI), and CHD; between the levels

of autoantibodies to oxLDL and hsCRP or BMI; between LDL antioxidants (particularly alpha-tocopherol) and blood lipid profile, hsCRP, BMI, and CHD. In men, increased levels of LPO in LDL, reduced levels of LDL antioxidants, and decreased LDL resistance to oxidation were independently associated with elevated blood levels of TCH, TG, and hsCRP, low HDL-CH levels, increased BMI, and present CHD.

Conclusion. In the examined male population, regional reference values for the parameters of oxidative-antioxidant LDL changes were identified. They were independently associated not only with present CHD, but also with pathogenetically significant, potentially atherogenic coronary risk factors.

Russ J Cardiol 2012, 3 (95): 56-61

Key words: population study, risk factors, atherosclerosis, low-density lipoproteins, resistance to oxidation, antioxidants.

Institute of Internal Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Novosibirsk, Russia.