

УДК: 616.13-004.6-07:616.153.915/96(571.1)

М. И. Воевода, Ю. И. Рагино, Е. В. Семаева, Е. В. Каштанова, М. В. Иванова,
А. М. Чернявский, Ю. П. Никитин**ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР КРОВИ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ
К ОКИСЛЕНИЮ ЛИПОПРОТЕИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ
У БОЛЬНЫХ КОРОНАРНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ**ГУ НИИ терапии СО РАМН, Новосибирск
Новосибирский НИИ патологии кровообращения МЗ РФ

В работе охарактеризованы липидный спектр и показатели окислительно-антиоксидантного потенциала липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) крови у больных с атеросклерозом коронарных артерий в Западной Сибири. В исследование было включено 62 больных в возрасте от 38 до 60 лет и 95 практически здоровых мужчин в возрасте от 35 до 59 лет. Наличие коронарного атеросклероза устанавливалось с помощью коронароангиографии. У всех больных в анамнезе был перенесенный инфаркт миокарда или нестабильная стенокардия. В контрольную группу были включены лица с отсутствием клинических признаков ИБС и нормальными уровнями липидов крови. У больных и в контрольной группе оценивались уровни общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП), показатели процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ЛПНП, устойчивость ЛПНП к окислению *in vitro*, концентрации в них жирорастворимых антиоксидантов (α -токоферола и ретинола). У мужчин с атеросклерозом коронарных артерий в сравнении с контрольной группой выявлены повышение уровня ХС, выраженное увеличение уровня ТГ, снижение уровня ХС-ЛПВП, повышенный исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛПНП, снижение резистентности ЛПНП к окислению и снижение концентрации в них α -токоферола и ретинола. Полученные данные свидетельствуют, что в Западной Сибири в развитии коронарного атеросклероза, наряду с гиперхолестеринемией, важную роль играет повышение уровня ТГ и снижение уровня ХС-ЛПВП, а также, вероятно, окислительная модификация ЛПНП.

Ключевые слова: коронарный атеросклероз, липидный профиль крови, липопротеины низкой плотности, устойчивость к окислению

Выяснение молекулярно-биологических основ атерогенеза, результаты многочисленных эпидемиологических и клинических исследований свидетельствуют о том, что механизмы атеросклероза и относительный вклад факторов риска в его развитие могут существенно варьировать в разных популяциях. Эти различия могут быть обусловлены как особенностями генофондов, так и условий внешней среды и образа жизни этих популяций. В связи с этим выяснение специфики связи ведущих факторов риска с атеросклерозом в популяциях, характеризующихся выраженными особенностями распространенности этого заболевания, является крайне важным для выяснения относительной роли генетических и средовых факторов в формировании предрасположенности к атеросклерозу, а также для разработки эффективной стратегии его первичной и вторичной профилактики. С учетом крайне высокого уровня заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза в Сибири изучение особенностей профиля ведущих факторов риска в данной популяции представляется особенно актуальным.

Влияние неблагоприятных средовых условий может оказывать особенно выраженное воздейст-

вие на состояние окислительного/антиокислительного потенциала липопротеинов сыворотки крови. В свою очередь окислительная модификация липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) способствует усилению их поглощения через скэвинджер-рецепторы макрофагов и трансформации последних в пенистые клетки [1, 2, 10, 12, 13, 15]. О степени окисления ЛПНП *in vivo* судят по уровню продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в выделенных ЛПНП [8]. Одним из показателей "предрасположенности" ЛПНП к окислительной модификации является их устойчивость к окислению, снижение которой является фактором риска атеросклероза [7, 8]. Показатель устойчивости ЛПНП к окислению отражает, с одной стороны, количество в них полиненасыщенных жирных кислот (основного субстрата окисления) и продуктов ПОЛ (диены, оксистеролы, малоновый диальдегид и др.), с другой стороны, их антиоксидантный потенциал (содержание в ЛПНП антиоксидантов) [7]. Основным антиоксидантом ЛПНП является α -токоферол; количество его в частице превалирует над другими жирорастворимыми антиоксидантами, он первым расходуется при окислении [8, 9]. Ретинол содержится в ЛПНП в меньшем количестве, но также препятствует их окислительной моди-

фикации [9]. Таким образом, по концентрации жирорастворимых антиоксидантов в ЛПНП можно судить о степени защищенности ЛПНП против окисления.

В связи с вышеизложенным целью настоящего исследования являлась оценка липидного профиля крови, показателей процессов ПОЛ в ЛПНП, устойчивости ЛПНП к окислению, содержания в них α -токоферола и ретинола у пациентов с коронарным атеросклерозом в сравнении с мужчинами контрольной группы без признаков ишемической болезни сердца (ИБС) и не имеющими дислипидемий.

Методика. В исследование было включено 157 мужчин. Группу больных коронарным атеросклерозом (КА) составили 62 человека в возрасте от 38 до 60 лет (в среднем $50,7 \pm 2,1$ года). Диагноз атеросклероза коронарных артерий устанавливался на основании результатов коронароангиографии. У всех больных в анамнезе был перенесенный инфаркт миокарда или нестабильная стенокардия, документированные описанием клинической картины заболевания, результатами ЭКГ-исследования и биохимических анализов крови. Согласно данным коронароангиографии, у всех мужчин (100%) имелось одно-, двух-, трех- или четырех-сосудистое атеросклеротическое поражение коронарных артерий. Инфаркт миокарда в анамнезе был у 43 человек (69%). Согласно данным клинической картины заболевания и ЭКГ-исследований, у всех мужчин (100%) была ИБС в форме стабильной стенокардии напряжения II и III функционального класса.

В контрольную группу было включено 95 практически здоровых мужчин в возрасте от 35 до 59 лет (в среднем $50,0 \pm 7,0$ лет). Данная группа представляла собой популяционную выборку мужчин без факторов риска (без дислипидемий, артериальной гипертензии, избыточной массы тела, сахарного диабета и ИБС). У всех мужчин контрольной группы уровень липидных показателей находился в нормальных пределах по критериям ре-

комендаций 1998 г. Европейского общества по изучению атеросклероза (условно нормальные уровни общего ХС <5,0 ммоль/л или <190 мг/дл, ТГ <1,7 ммоль/л или <150 мг/дл и ХС-ЛПВП >1,0 ммоль/л или >40 мг/дл), САД <140 мм рт. ст., ДАД <90 мм рт. ст., средний индекс массы тела – $23,6 \pm 2,9$ кг/м². Мужчины не имели признаков сердечно-сосудистых заболеваний согласно данным клинических и ЭКГ-исследований и эндокринных заболеваний по данным клинических и биохимических исследований.

У всех мужчин проводили оценку липидного профиля крови, исследование процессов ПОЛ в ЛПНП, определение устойчивости ЛПНП к окислению *in vitro*, определение концентрации в них жирорастворимых антиоксидантов α -токоферола и ретинола однократно. Кровь для анализа брали утром натощак из локтевой вены не ранее чем через 12 часов после приема пищи.

Концентрации ХС, ТГ и холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛПВП) (липидный профиль крови) определяли ферментативным методом с использованием стандартных реактивов “Biosub CHOL”, “Biosub TG” и ХС-ЛПВП (Herbos dijagnostika) на химическом анализаторе FP-901 LABSYSTEM OY (Финляндия).

Определение резистентности ЛПНП к окислению проводили по собственному способу [3]: 0,2 мг белка осажденных ЛПНП инкубировали в среде Дульбекко на водяной бане при 37°C в течение 2 часов в присутствии 50 мкМ ионов меди. Окислительную модификацию ЛПНП оценивали путем определения ТБК-реактивных продуктов по методу J. Schuh и соавт. (1978) [11].

Определение концентрации α -токоферола и ретинола в ЛПНП проводили собственным способом [4]: ЛПНП получали из сыворотки осаждением в присутствии гепарина и хлорида марганца, промывали, растворяли в 1 М растворе NaCl, измеряли в них концентрацию белка по методу Лоури и концентрации α -токоферола и ретинола спектрофлуориметрическим методом [14]. Результаты

Таблица

Концентрации общего ХС, ХС-ЛПВП и ТГ крови (ммоль/л, мг/дл) у мужчин с коронарным атеросклерозом и в контрольной группе лиц

Показатели	Контрольная группа			Больные ИБС		
	ХС	ХС-ЛПВП	ТГ	ХС	ХС-ЛПВП	ТГ
M	4,7 (181,9)	1,1 (42,6)	0,8 (70,8)	5,8 (225,8)*	0,97 (37,8)*	2,08 (183,9)**
m	0,4 (15,5)	0,09 (3,5)	0,1 (8,8)	0,2 (9,2)	0,03 (1,3)	0,2 (17,7)
σ	1,2 (46,4)	0,2 (8,5)	0,6 (53,1)	1,3 (49,0)	0,2 (7,1)	1,06 (93,5)
Минимально	3,5 (135,4)	1,01 (39,1)	0,6 (53,1)	3,0 (117,2)	0,7 (25,6)	1,0 (88,5)
Максимально	4,9 (189,6)	1,4 (55,6)	1,3 (115,0)	9,3 (359,6)	1,4 (55,6)	5,3 (468,3)
Разница в сравнении с контролем				+23%	-12%	> в 2,6 раза

Примечание. * – при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$ в сравнении с мужчинами контрольной группы.

выражали для витамина Е – в мг/мг белка ЛПНП, для витамина А – в мкг/мг белка ЛПНП.

Результаты обработаны методом вариационной статистики с применением корреляционного анализа, t-test критерия ($p < 0,05$) в программе “SPSS-2000 для Windows”.

Результаты. Результаты сравнения уровней липидов крови у мужчин с КА и в контрольной группе представлены в таблице. В случае пациентов с КА уровень ХС был на 23% выше ($p < 0,05$), а ХС-ЛПВП – на 12% ниже ($p < 0,05$) в сравнении с контролем. Максимальные различия между двумя группами обнаружены в случае ТГ. Так, у мужчин с КА концентрация ТГ была в 2,6 раза ($p < 0,01$) выше в сравнении с контрольной группой. Таким образом, у мужчин с ИБС в сравнении с мужчинами без ИБС выявлены различия в липидном профиле крови: повышенные уровни общего ХС и, особенно ТГ (более чем в 2 раза), сниженный ХС-ЛПВП. Полученные данные также согласуются с литературными. Так, в некоторых исследованиях кроме гиперхолестеринемии и низкого уровня ХС-ЛПВП отмечена и значительная роль гипертриглицеридемии в возникновении и развитии атеросклероза и ИБС [5, 6].

Для оценки окислительного потенциала ЛПНП у мужчин с КА были исследованы исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛПНП и их резистентность к окислению *in vitro*. ЛПНП у больных КА содержали более чем в 4 раза повышенный ($p < 0,001$) исходный уровень продуктов ПОЛ по сравнению с ЛПНП у лиц контрольной группы. Выявлено значительное снижение резистентности ЛПНП к окислению у больных КА (рис. 1). Так, ЛПНП у мужчин с КА после 0,5, 1 и 2 ч инкубации с катализаторами окисления – ионами меди – содержали почти в 5, 3 и 2 раза, соответственно, повышенное количество продуктов ПОЛ в сравнении со здоровыми мужчинами. У мужчин контрольной группы количество продуктов ПОЛ в ЛПНП после 2 часов их инкубации с ионами меди находилось в пределах значений от 5,4 до 19,0 нмоль МДА/мг ЛПНП, в то время как у мужчин с КА этот показатель в том же временном отрезке был в пределах от 16,9 до 43,0 нмоль МДА/мг ЛПНП.

Для оценки антиоксидантного потенциала ЛПНП исследованы концентрации в них α -токоферола и ретинола. При ИБС концентрации α -токоферола и ретинола в ЛПНП были снижены (рис. 2). Так, у мужчин с КА концентрация α -токоферола в ЛПНП была ниже в 1,3 раза ($p < 0,01$), чем у практически здоровых мужчин ($1,35 \pm 0,22$ и $1,83 \pm 0,25$ мг/мг белка ЛПНП, соответственно). Концентрация ретинола в ЛПНП у лиц с ИБС была ниже в 1,4 раза ($p < 0,01$), чем у мужчин контрольной группы ($56,7 \pm 9,9$ и $79,9 \pm 11,2$ мкг/мг белка ЛПНП соответственно).

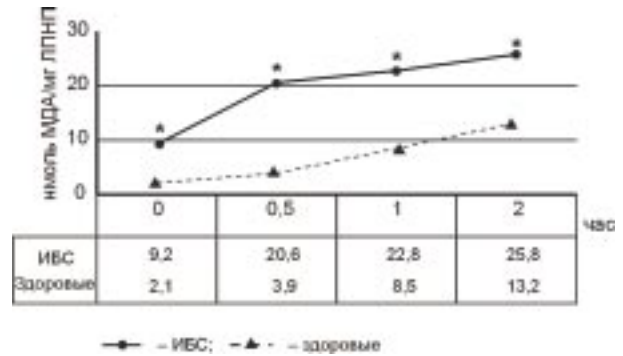


Рис. 1. Резистентность ЛПНП к окислению у мужчин с коронарным атеросклерозом в сравнении с контрольной группой лиц. * – отличия при $p < 0,001$

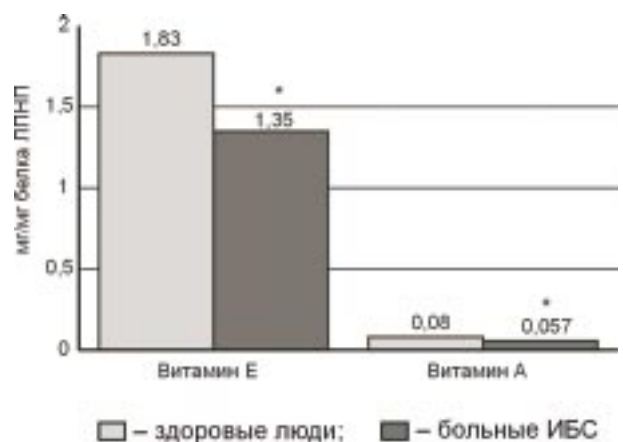


Рис. 2. Концентрация витаминов Е и А в ЛПНП у мужчин с коронарным атеросклерозом в сравнении с контрольной группой лиц. * – отличия при $p < 0,01$

Полученные данные согласуются с результатами оценки показателя устойчивости ЛПНП к окислению в двух обследованных нами группах мужчин и не противоречат данным мировой и отечественной литературы [1, 2, 9, 12]. Действительно, при ИБС содержание антиоксидантов в ЛПНП, особенно α -токоферола как основного защитника их против окисления, низкое [9]. С другой стороны, интенсивность свободнорадикальных процессов при ИБС высокая и собственных антиоксидантных систем крови и ЛПНП недостаточно для достижения баланса в системе “оксидант-антиоксидант”. В связи с этим при ИБС повышены процессы ПОЛ в ЛПНП, что приводит к их окислительной модификации [1, 12] и сниженной устойчивости к окислению.

Таким образом, с помощью собственных биохимических методов исследования у мужчин с ИБС, документированной данными коронароангиографии, выявлены потенциально атерогенные изменения в ЛПНП. Они заключаются в значительно повышенном уровне продуктов ПОЛ в ЛПНП, значительно сниженной резистентности

ЛПНП к окислению, вероятно, в результате сниженных в них концентраций жирорастворимых антиоксидантов. Отмечены также не только повышенный уровень общего ХС и низкий ХС-ЛПВП у этих пациентов, но и высокие концентрации ТГ крови.

Выводы. У мужчин с коронароангиографически подтвержденной ИБС значительно повышен исходный уровень продуктов ПОЛ в ЛПНП, снижены резистентность ЛПНП к окислению и концентрации в них α -токоферола и ретинола по сравнению со здоровыми мужчинами.

У мужчин с коронароангиографически подтвержденной ИБС повышен уровень общего ХС, снижен уровень ХС-ЛПВП и значительно повышена концентрация ТГ крови в сравнении со здоровыми мужчинами.

BLOOD LIPID PROFILE AND RESISTANCE OF BLOOD LIPOPROTEINS TO OXIDATION IN PATIENTS WITH CORONARY ATHEROSCLEROSIS IN WESTERN SIBERIA

M.I. Voevoda, Yu.I. Ragino, E.V. Semaeva, E.V. Kashtanova, M.V. Ivanova, A.M. Chernjavsky, Yu.P. Nikitin

Blood lipids profile and oxidative-antioxidative potential of low density lipoproteins (LDL) in patients with coronary atherosclerosis (CA) in Western Siberia were characterized. The group of CA patients included 62 men at the age of 38–60. All patients had clinical diagnosis of CA, documented by coronarangiographic method, and history of myocardial infarction or unstable angina pectoris. The control group of subjects included 95 men at the age of 35–59 with normal levels of blood lipids and without clinical manifestation of CA. TCH, CH-HDL, TG, the initial level of peroxidation lipid (POL) products in LDL, oxidative resistance of LDL in vitro, concentrations of α -tocopherol and retinol in LDL were evaluated in two groups. Results. All CA patients had elevated TCH level, significantly elevated TG level, reduced CH-HDL level, elevated initial level of POL products in LDL, low oxidative resistance of LDL and reduced concentrations of α -tocopherol and retinol in LDL in comparison with control group patients. These results indicate that not only hypercholesterolemia, but also elevated TG level, reduced CH-HDL level and oxidative-antioxidative disturbance in LDL play important role in pathogenesis of coronary atherosclerosis in Western Siberia.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободно-радикальные процессы при заболеваниях сердеч-

- но-сосудистой системы // Кардиология. 2000. № 7. С. 48–62.
2. Никитин Ю.П., Душкин М.И., Рагино Ю.И. Резистентность к окислению субфракций липопротеинов низкой плотности у больных ишемической болезнью сердца // Там же. 1998. № 10. С. 48–52.
 3. Рагино Ю.И., Душкин М.И. Простой метод исследования резистентности к окислению гепарин-осажденных β -липопротеинов сыворотки крови // Клиническая лабораторная диагностика. 1998. № 3. С. 6–9.
 4. Рагино Ю.И., Каштанова Е.В. Простой способ оценки концентрации витаминов Е и А в липопротеинах низкой плотности // Там же. 2002. № 12. С. 11–14.
 5. Шишло Л.А., Жбанов И.В., Михайлов Ю.Е., Шабалкин Б.В. Влияние дислипидемии на состояние коронарного русла и проходимость аортокоронарных шунтов после реваскуляризации миокарда // Кардиология. 2000. № 10. С. 23–26.
 6. Chapman M.J., Bruckert E. The atherogenic role of triglycerides and small, dense low density lipoproteins: impact of ciprofibrate therapy // Atherosclerosis. 1996. Vol. 124. P. 921–928.
 7. Cominacini L., Garbin U., Cenci B. et al. Predisposition to LDL oxidation during copper-catalyzed oxidative modification and its relation to α -tocopherol content in humans // Clin. Chem. Acta. 1991. Vol. 204. P. 57–68.
 8. Esterbauer H., Striege G., Puhl H., Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human LDL // Free Rad. Res. Commun. 1989. Vol. 6. P. 67–72.
 9. Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jurgens G. The role lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL // Free Radic. Biol. Medicine. 1992. Vol. 13. P. 341–390.
 10. Krauss R.M. Low-density lipoprotein subclasses and risk of coronary artery disease // Curr. Opin. Lipidol. 1991. Vol. 2. P. 248–252.
 11. Schuh J., Fairclough G.F. and Haschemeyer R.H. Oxygen-mediated heterogeneity of apo-low density lipoprotein // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1978. Vol. 75. P. 3173–3179.
 12. Steinberg D. Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime // Nature Medicine. 2002. Vol. 8. P. 1211–1218.
 13. Steinbrecher U.P. Oxidatively modified lipoproteins // Curr. Opin. Lipidol. 1990. Vol. 1. P. 411–415.
 14. Taylor S.L., Lamden M.P., Tappel A.L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis // Lipids. 1976. Vol. 11. P. 530–538.
 15. Westhuyzen J. The oxidation hypothesis of atherosclerosis: an update // Source Ann. Clin. Lab. Sci. 1997. Vol. 27. P. 1–10.