

УДК 616.153.915:616-097.3:616.1

Фефелова Е.В., Максименя М.В., Терешков П.П., Цыбиков Н.Н.

**ВЛИЯНИЕ КУРЕНИЯ И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ
НА СОДЕРЖАНИЕ ОКИСЛЕННЫХ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ
И АНТИТЕЛ К НИМ У ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ И ПАЦИЕНТОВ
С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА***ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита*

Резюме. Изучалось содержание окисленных липопротеинов и антител к ним у практически здоровых и лиц, страдающих ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью. Установлено, что среди здоровых лиц наиболее высокое содержание окисленных ЛПНП и антител регистрировалось у молодых и увеличивалась со стажем курения. При ишемической болезни сердца уровень окисленных ЛПНП характеризует тяжесть патологического процесса.

Ключевые слова: окисленные липопротеины, антитела к окисленным липопротеинам, возраст, курение, сердечно-сосудистые заболевания.

*Fefelova E.V., Maksimenya M.V., Tereshkov P.P., Tzybikov N.N.***INFLUENCE OF SMOKING AND HYPERTENSION ON THE CONTENT OF OXIDIZED
LOW-DENSITY LIPOPROTEINS AND THEIR ANTIBODIES IN HEALTHY SUBJECTS
AND PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE**

Summary. The aim of this study was to determine distinctions in the level of oxidated lipoproteins of low density (LPLD), antibodies to them in practically healthy persons of different age groups and in patients with ischemic heart disease and hypertension. The highest content of oxidated LPLD and antibodies was established to be registered in young persons of healthy group and increased with experience of smoking. To establish regional reference of oxidated LPLD and antibodies it is important to take into account the patients' age and other factors. In ischemic heart disease the level of oxidated LPLD characterizes the severity of pathologic process.

Keywords: oxidated lipoproteins of low density (LPLD), antibodies to lipoproteins, age, smoking, cardiovascular diseases.

Введение. Известно, что окисленные ЛПНП (о-ЛПНП) обладают более атерогенными свойствами, чем нативные [3, 4, 5, 6], поэтому многие исследователи указывают на то, что не уровень общего ХС и ХС ЛПНП, а содержание о-ЛПНП является наиболее важным диагностическим маркером атеросклероза [3, 15]. Установлено, что окисленные ЛПНП, проявляя иммуногенные свойства, индуцируют образование специфических аутоантител к ним [3, 4, 5, 6, 15]. Ряд авторов указывает на корреляцию между продукцией антител к о-ЛПНП и прогрессированием атеросклероза. [12, 15]. С другой стороны, показано атеропротективное действие антител и потенциальный терапевтический эффект [1]. У человека антитела к о-ЛПНП обнаруживаются как у здоровых лиц, так и у пациентов с ишемической болезнью сердца [9]. В литературе имеются единичные и противоречивые данные об изменении содержания о-ЛПНП и антител к ним в зависимости от возраста, стажа курения и сердечно-сосудистой патологии.

Цель работы: установить различия в уровне окисленных ЛПНП, антител к ним у практически здоровых лиц разных возрастных категорий с разным стажем курения и у пациентов с ИБС и гипертонической болезнью.

Материалы и методы. На первом этапе обследованы 76 практически здоровых лиц в возрасте от 18 до 75 лет, которые были разделены на три группы в зависимости от возраста: от 18 до 35 лет (средний возраст 21,7); от 36 до 59 лет (45,9 года), от 60 до 75 лет (65,8 лет). На втором этапе – первую группу разбили на 4 подгруппы: 1 – некурящие (контроль), 2 – стаж курения до 5 лет, 3 – стаж курения от 5 до 10 лет, 4 – стаж курения 10 и более лет. На третьем этапе проведен сравнительный анализ показателей, полученных у лиц второй возрастной группы с таковыми у 60 кардиологических больных в возрасте от 40 до 60 лет, нахо-

дившихся на стационарном лечении. В зависимости от диагноза больные были распределены на группы по 15 человек в каждой: страдающие гипертонической болезнью (I и II стадии; риск 3, H 0), стабильной стенокардией напряжения (III функциональный класс H I), нестабильной стенокардией (H I), инфарктом миокарда (острая стадия, H I).

Материалом для исследования служила кровь, взятая утром натощак из локтевой вены. В сыворотке крови всех обследуемых определяли содержание окисленных ЛПНП и антител к ним методом ИФА, с использованием тест-наборов «Biomedica» (Германия), параметры липидного спектра – с помощью коммерческих наборов реактивов компании «HUMAN» (Германия). Концентрацию гомоцистеина в образцах определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовой детекцией при 330 нм и разделением на колонке Chromolith 100 × 4,6 мм с использованием в качестве элюента ацетонитрил – 0,05 М лимонную кислоту (10:90, v/v) [2].

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы Statistica 6.1. Описательная статистика представлена медианой и межквартильным интервалом (25-го; 75-го перцентилей); сравнение независимых выборок проводили с помощью U-критерия Манна-Уитни для парных признаков. Осуществляли корреляционный (ранговая корреляция по Спирмену) анализ. Различия двух сравниваемых величин считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Во всех группах здоровых лиц параметры липидного спектра не выходили за пределы референсных значений, во второй группе значения холестерина ЛПОНП, триглицеридов и индекса атерогенности были максимальными. Полученные нами данные согласуются с литературными [9]. Однако наиболее высокий уровень о-ЛПНП и антител к ним регистрировался у молодых лиц: значения о-ЛПНП составили 536,1% ($p < 0,001$) и 563,8% ($p < 0,001$) от таковых во второй и третьей группе, содержание антител к ним – 244,9% ($p < 0,05$) от значений второй и 361,6 % ($p < 0,05$) – от третьей групп (табл. 1).

Высокий уровень о-ЛПНП можно объяснить более высокой интенсивностью метаболических процессов у молодых [8], а повышенное содержание антител к ним – регуляцией уровня антигенов и таким образом ингибирования процесса атерогенеза [12]. Выявлено наличие прямой сильной связи в первой возрастной группе между концентрацией ЛПНП и антител к о-ЛПНП ($r=0,91$; $p < 0,001$), сохранение данной зависимости во 2 группе ($r=0,55$; $p < 0,05$). В третьей группе не было обнаружено существенных взаимосвязей между показателями липидного спектра и значениями о-ЛПНП, уровнем антител.

Таблица 1

Показатели окисленных ЛПНП и антител к ним в сыворотке крови у здоровых лиц разных возрастных групп (Ме (25-й; 75-й))

| Группы /Параметры | о-ЛПНП, мкг/мл | Ат к о-ЛПНП, мМЕ/мл |
|-----------------------------------|----------------------------------|--|
| 1 группа – от 18 до 35 лет (n=46) | 3,27 (0,980; 3,88) | 853,20 (373,90; 1674,90) |
| 2 группа – от 36 до 59 лет (n=15) | 0,61 (0,41; 0,66) $p < 0,001$ | 348,35 (216,75; 448,35) $p = 0,047$ |
| 3 группа – от 60 до 75 лет (n=15) | 0,58 (0,40; 0,64) $p < 0,001$ | 235,95 (170,95; 540,43) $p = 0,015$ |

Примечание: p – уровень статистической значимости различий с показателями первой группы.

Так как нами были зарегистрированы высокие цифры о-ЛПНП и антител к ним у молодых лиц, мы попытались проследить изменение их уровня в зависимости от стажа курения. Известно несколько гипотез, обосновывающих основные пути цитотоксического влияния компонентов дыма сигарет на эндотелий сосудов:

- прямое повреждение эндотелиоцитов;
- изменение структуры и функции лейкоцитов крови – трансформация моноцитов в макрофаги секреторного типа и продуцирование ими цитокинов;

- иммунотоксический путь повреждения клеток – фиксация гликопротеидов табака (гаптена) на поверхности эндотелиоцитов с формированием полноценного антигена и индукцией образования к ним антител;
- иммуноаллергический механизм – образование антител к гликопротеинам табака и секреция медиаторов повреждения [16].

Одним из возможных повреждающих механизмов является повышение уровня гомоцистеина. Никотин вызывает снижение концентрации витамина В₆, необходимого для превращения гомоцистеина в цистотионин и тем самым приводит к повышению уровня гомоцистеина [14, 16].

В ходе проведенных исследований нами зарегистрирован рост уровня окисленных ЛПНП в зависимости от стажа курения. Так, при стаже курения до 5 лет их количество увеличивается в 7 раз, при стаже от 5 до 10 лет и более 10 лет – более чем в 20 раз (табл. 2).

Таблица 2

Содержание окисленных липопротеидов и антител к ним в сыворотке крови у молодых людей в зависимости от стажа курения (Ме (25-й; 75-й))

| | Окисленные ЛПНП мкг/мл | АТ к окисленным ЛП, мЕд/мл | Гомоцистеин, мкмоль/л | Окисленные МДА ЛП, мкг/мл | Соотношение окисленных МДА ЛП/общее содержание окисленных ЛПНП, % |
|---------------------------------------|--|--|--|--|--|
| Некурящие (контрольная группа) (n=10) | 0,36 (0,25; 0,37) | 243,40 (143,40; 348,80) | 5,70 (5,00; 6,46) | 0,00 (0,00; 0,12) | 0,0085 (0,0026; 32,61) |
| Стаж курения до 5 лет (n=12) | 2,49 (2,41; 2,50) p ₁ <0.001 | 203,20 (198,9; 855,2) p ₁ =0.025 | 11,20 (10,49; 17,18) p ₁ <0.001 | 0,40 (0,4; 0,578) p ₁ <0.001 | 16,40 (12,21; 17,23) p ₁ =0,55 |
| Стаж курения 5-10 лет (n=12) | 8,54 (6,47; 9,04) p ₁ <0.001 p ₂ <0.001 | 373,90 (373,90; 594,50) p ₁ <0.001 p ₂ <0.001 | 13,40 (12,94; 13,40) p ₁ <0.001 | 4,82 (3,94; 4,84) p ₁ <0.001 p ₂ <0.001 | 56,68 (50,22; 74,45) p ₁ <0.001 p ₂ <0.001 |
| Стаж курения 10 и более лет (n=12) | 7,42 (3,91; 7,75) p ₁ <0.001 p ₂ <0.001 | 1434,00 (885,0; 1674,00) p ₁ <0.001 p ₂ <0.001 p ₃ <0.001 | 14,30 (11,50; 17,18) p ₁ <0.001 | 6,01 (2,03; 7,09) p ₁ <0.001 p ₂ <0.001 | 77,53 (57,99; 95,56) p ₁ <0.001 p ₂ <0.001 p ₃ =0,016 |

Примечание: n – число обследованных; p₁ – уровень статистической значимости различий групп никотинзависимых лиц по сравнению с контрольной группой, p₂ – уровень статистической значимости различий 1 опытной группы со второй и третьей, p₃ – уровень статистической значимости различий второй группы по сравнению с третьей.

Содержание гомоцистеина имело значимые различия между группой контроля и курящими молодыми людьми. Тем не менее, повышение концентрации его в зависимости от стажа курения нами зафиксировано не было. Известно, что окислительные модификации ЛПНП могут происходить как в присутствии ионов тяжелых металлов [5, 6], так и под действием макрофагов [11], эндотелиальных клеток [14], и полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) [11]. Предположительно существует два основных механизма окисления ЛПНП клетками: с помощью клеточной липоксигеназной активности и под действием выделяемых клетками метаболитов кислорода (АФК) [11]. Поэтому нами также был определен уровень окисленных липопротеидов малоновым диальдегидом. Максимальная концентрация их зафиксирована у никотинзависимых лиц со стажем курения 10 и более лет и составила около 80% от всех окисленных ЛПНП. Увеличение окисленных малоновым диальдегидом ЛПНП у

молодых людей со стажем курения 5 и более лет свидетельствует об активном течении процессов перекисного окисления липидов и срыве механизмов антиоксидантной защиты. Уровень аутоантител к окисленным ЛПНП возрастал только при стаже курения 5 и более лет: в 1,5 раза у курящих более 5 лет, и в 6 раз при стаже курения более 10 лет.

На третьем этапе исследования, проведенный сравнительный анализ концентрации о-ЛПНП и аутоантител к ним при сердечно-сосудистых заболеваниях показал что, при гипертонической болезни (табл. 3) значения о-ЛПНП существенно не отличались от контрольных, однако при этом содержание антител у больных оказалось ниже контроля на 48,9% ($p < 0,05$). Данный факт может быть обусловлен либо снижением иммунной реакции на о-ЛПНП, либо усилением потребления антител из-за связывания их с антигенами на ранних стадиях атеросклероза. У лиц с ИБС наблюдалось повышение концентрации о-ЛПНП, причем с усилением тяжести заболевания их величины возрастали (табл. 3).

Таблица 3

Уровень окисленных ЛПНП и антител к ним в сыворотке крови у лиц с гипертонической болезнью и с ИБС (Ме (25-й; 75-й))

| Группы / Параметры | о-ЛПНП, мкг/мл | Ат к о-ЛПНП, мМЕ/мл |
|---------------------------------|--|---|
| Контроль (n=15) | 0,61 (0,41; 0,66) | 348,35 (216,75; 448,35) |
| Больные с ГБ (n=15) | 0,58 (0,32; 0,85) | 178,15 (137,66; 214,10) $p=0.027$ |
| Стабильная стенокардия (n=15) | 0,71 (0,52; 0,84) $p=0.048$ | 149,45 (81,43; 212,28) $p=0.006$ |
| Нестабильная стенокардия (n=15) | 0,98 (0,73; 1,06) $p < 0.001$ $p_1=0.040$ | 130,75 (114,90; 442,55) |
| ИМ (n=15) | 2,46 (2,41; 2,67) $p < 0.001$ $p_1 < 0.001$ $p_2 < 0.001$ | 224,15 (219,48; 1238,40) $p=0.047$ $p_1=0.029$ $p_2=0.036$ |

Примечание: p – уровень статистической значимости различий с показателями контрольной группы; p_1 – уровень статистической значимости различий с показателями при стабильной стенокардии; p_2 – уровень статистической значимости различий с показателями при нестабильной стенокардии.

При стабильной стенокардии цифры о-ЛПНП были на 15,5% ($p < 0,05$) выше контроля, а антител – ниже на 57,1% ($p=0.006$). При нестабильной стенокардии концентрация о-ЛПНП превышала контроль на 60,6% ($p < 0,001$), и таковую у пациентов со стабильным течением заболевания – на 39,0% ($p < 0,05$), регистрировался существенный разброс в значениях антител. У пациентов с ИМ величины о-ЛПНП еще более увеличились и составляли 403,1% ($p < 0,001$) от контроля. Однако уровень антител был ниже контроля на 35,6% ($p=0.047$), но выше, чем при стабильной стенокардии на 50,0% ($p < 0,05$), и при нестабильной – на 71,4% ($p < 0,05$).

Выводы. У здоровых лиц максимальные значения о-ЛПНП регистрируются в молодом возрасте, их концентрация напрямую зависит от стажа курения. Параметры о-ЛПНП и антител к ним могут иметь самостоятельную диагностическую ценность при развитии атеросклероза лишь с учетом возраста и наличия вредной привычки. При ишемической болезни сердца прослеживается взаимосвязь между уровнем о-ЛПНП и тяжестью патологического процесса.

Литература:

1. Груздева О.В. Роль свободных жирных кислот в развитии клинических осложнений атеросклероза / О.В. Груздева, О.Л. Барбараш, Е.И. Паличева // Атеросклероз – 2011. – Т. 7., № 1 – С. 19 – 25.

2. Дутов А.А. Определение гомоцистеина и цистеина в плазме/сыворотке крови ВЭЖХ методом с УФ детекцией и твердофазной экстракцией на полимерном сорбенте / А.А. Дутов, Д.А. Никитин, А.А. Федотова // Биомедицинская химия. – 2010. – Т. 56, вып. 5. – С. 609-615.
3. Жданова О.Ю. Аутоантитела к модифицированным липопротеинам человека и их роль в атерогенезе : автореф. дис... к.б.н. : 03.00.04. / О.Ю. Жданова – Санкт-Петербург., 2005. – 17 с.
4. Ланкин В.З. Особенности модификации липопротеидов низкой плотности в развитии атеросклероза и сахарного диабета типа 2 / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Е.М. Кумскова // Кардиологический вестник. – 2008. – том III (XV), №1: – С.60-67.
5. Мельниченко А.А. Атерогенная модификация липопротеидов. Роль в атерогенезе / А.А. Мельниченко, А.Н. Орехов, И.А. Собенин. – LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH, 2013 – 253 с.
6. Орехов А.Н. Модифицированные липопротеиды и атеросклероз. Обнаружение, характеристика, механизмы модификации, атерогенность / А.Н. Орехов, В.В. Тертов, И.А. Собенин. – LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH, 2012 – 295 с.
7. Синькова Г.М. Оценка прогностической значимости факторов общего сердечно-сосудистого риска для развития инфаркта миокарда у больных артериальной гипертензией в Иркутской области [Электронный ресурс] / Г.М. Синькова, А.В. Синьков // Забайкальский медицинский вестник. – 2011. – № 2. – С. 42-46. – Режим доступа: <http://medacadem.chita.ru/zmv>
8. Терешина Е.В. Возрастные изменения метаболизма и терапевтическая стратегия в лечении больных пожилого и старческого возраста / Е.В. Терешина, Н.Н. Доронина, О.П. Плетенева. // в Сб. «Актуальные проблемы геронтологии». – М. – 1999. – С. 225 - 226.
9. Титов В.Н. Липопротеины очень низкой и низкой плотности: функция, транспорт жирных кислот и диагностическое значение (лекция) // Клиническая лабораторная диагностика. 2000. – № 11. – С. 25-32.
10. Цыбиков Н.Н. Роль гомоцистеина в патологии человека / Н.Н. Цыбиков, Н.М. Цыбикова // Успехи современной биологии, 2007. – Т.127.- № 5. – С. 471 –482.
11. Abdalla, D. S. P.; Costa Rosa, L. F. B. P.; Monteiro, H. P.; Campa, A.; Curi, R. (1994) Human macrophage metabolism of low density lipoprotein oxidized by stimulated neutrophils and ferritin. *Atherosclerosis*, 107:157-163. Mackness MI, Durrington PN. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 1995; 115: 243-253.
12. Garrido-Sanchez L. Anti-oxidized LDL antibody levels are reduced in women with hypertension / L.Garrido-Sanchez, E. Garcia-Fuentes, F.Cardona // *Eur.J.Clin. Invest.* – 2009. – V. 36, № 9. – P. 800–806.
13. Johnston N. Biochemical indicators of cardiac and renal function in a healthy elderly population./ N. Johnston, T. Jernberg, B. Lindahl // *Clin Biochem.* – 2004. – №37:210. – P. 6
14. Jones B. G. Lipid peroxidation and homocysteine induced toxicity / B.G. Jones, F.A. Rose, N. Tudball // *Atherosclerosis* 1994. - Vol. 105. - P. 165-170.
15. Maiolino G. The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: the myths and the facts / G. Maiolino, G. Rossitto, P.Caielli // *Mediators of Inflammation.* – V. 2013. – 1-13 p.
16. Scefler S.I. Cigarette smoking potentates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patient with COPD / S.I.. Scefler, H. Eigen // *Eur.Respir. J.* – 2003. – V. 54. – P. 346-354.
17. Shoenfeld Y. Are Anti-Oxidized Low-Density Lipoprotein Antibodies Pathogenic or Protective? / Y. Shoenfeld, R. Wu., L.D. Dearing // *Circulation.*– 2004. – V. 110. – P. 2552 – 2558.