

Биохимические маркеры атерогенных нарушений в системе липопротеинов: связь с биологическим и хронологическим старением сосудов

Н. В. Гомыранова, В. А. Метельская, О. Н. Ткачева, И. Н. Озерова, Н. В. Перова, И. Д. Стражеско
ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» МЗ РФ, Москва

Абстракт

Цель. Выяснить, вовлечены ли нарушения в системе липопротеинов в изменения показателей сосудистого старения, связанного или не связанного с хронологическим возрастом человека.

Материалы и методы. В исследование включено 202 пациента обоего пола 30–75 лет без клинических проявлений атеросклероза, не получавших регулярной терапии сердечно-сосудистыми препаратами. В зависимости от биологического возраста сосудов (эластичные или жесткие) и хронологического возраста (годы) пациенты были разделены на 4 группы. Концентрацию липидов и аполипопротеинов (апо) AI и B определяли рутинными лабораторными методами. Скорость распространения пульсовой волны (СРПВ) > 10 м/с использовали как показатель жесткости сосудов. Субфракционный спектр липопротеинов низких плотностей определяли при использовании «Липопринт-системы» (Quantimetrix Lipoprint system, США).

Результаты. В группе условно молодых с жесткими сосудами по сравнению с лицами с эластичными сосудами выявлен более высокий уровень общего холестерина (ХС) и ХС липопротеинов низкой плотности (ЛНП). В группе условно старых пациентов с жесткими сосудами по сравнению с эластичными сосудами уровень триглицеридов (ТГ) оказался выше, а уровень ЛП(а) – ниже. Обнаружено, что, независимо от возраста пациентов, доля липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП) выше у лиц с жесткими сосудами по сравнению с пациентами с эластичными сосудами. В группе условно старых с жесткими сосудами в пределах фракции липопротеинов промежуточной плотности (ЛПП) доля подфракции наиболее крупных частиц ниже, чем в группе условно старых с эластичными сосудами и в группе условно молодых с жесткими сосудами, а доля мелких частиц ЛПП-В и особенно подфракции ЛПП-А – выше.

Заключение. Повышенная жесткость сосудов у хронологически старых пациентов ассоциируется с увеличенной долей более мелких подфракций ЛПП, по размеру близких к ЛНП. Более высокие уровни ХС и ХС ЛНП в группе молодых с жесткими сосудами могут способствовать преждевременному развитию атеросклероза.

Ключевые слова: жесткость сосудов, биологический возраст, хронологический возраст, липопротеины.

Biochemical markers of atherogenic shifts in lipoprotein profile: the relationship with biological and chronological vascular aging

N. V. Gomyranova, V. A. Metelskaya, O. N. Tkacheva, I. N. Ozerova, N. V. Perova, I. D. Strazhesko
National Research Center for Preventive Medicine, Moscow, Russia

Abstract

Aim. To explore the relationship between atherogenic shifts in lipoprotein profile, if any, and vascular aging.

Materials and methods. Totally 202 subjects of both sexes aged 30–75 years without clinical manifestations of atherosclerosis-related diseases which didn't receive regular cardiovascular therapy were included into the study. Depending on biological age of vessels (flexible or stiff) and chronological age (years) patients were divided into 4 groups. Pulse wave velocity (PWV) > 10 m/s was used as a measure of arterial stiffness. Lipid and apolipoprotein (apo) AI and B levels were determined by routine laboratory methods. The low densities lipoproteins subfractions distribution was analyzed using Lipoprint LDL System.

Results. *In subjects qualified as «young» with stiff vessels in comparison with «young» ones with flexible vessels higher levels of total cholesterol (C) and low density lipoprotein (LDL)-C were found. In subjects qualified as «old», triglycerides (TG) concentration was higher and Lp(a) – lower in those with stiff than with flexible vessels. The subfractional lipoprotein analysis revealed: the VLDL portion was higher in subjects with stiff arteries irrespective of age. In «old» subjects with stiff vessels the portion of the largest particles within intermediate density lipoprotein (IDL) range was the lowest as compared to all other groups. On the other hand, in «old» subjects with elevated arterial stiffness significantly more small particles of IDL-B, and especially IDL-A subfractions, were found.*

Conclusion. *The increased arterial stiffness at chronologically old patients was associated with elevated portion of small dense IDL particles, by the size close to potentially atherogenic LDL.*

Keywords: *arterial stiffness, biological age, chronological age, pulse wave velocity, lipoproteins.*

Хронологический возраст человека является одним из основных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). В детерминации биологического возраста человека ключевую роль играет физиологическое состояние сосудов. В последние годы успехи в изучении биологии сосудов позволили установить некоторые механизмы сосудистого старения. Было показано, что ассоциированные с возрастом изменения сосудов на органном уровне проявляются в расширении диаметра аорты, утолщении стенки артерий (в первую очередь за счет утолщения интимы), эндотелиальной дисфункции и в повышении показателей жесткости артерий [1]. Именно увеличение жесткости сосудов считается главным признаком их старения и связано с отложением кальция в стенке сосуда, повышением количества коллагена и снижением содержания эластина, развитием дисфункции эндотелия [2, 3]. Известно, что чем более выражены возрастные изменения стенки сосуда, тем быстрее развивается атеросклероз, который, в свою очередь, ускоряет возрастные изменения [4, 5]. Увеличение жесткости артерий может быть результатом сочетания ряда взаимосвязанных возрастных и патологических нарушений и может приводить к серьезным отрицательным гемодинамическим последствиям. Наиболее признанным показателем жесткости и, соответственно, старения сосудистой стенки в настоящее время считается скорость распространения пульсовой волны (СРПВ).

Наряду с увеличением жесткости сосудов существенный вклад в развитие их возрастных изменений вносят нарушения транспорта липидов в составе липопротеинов плазмы крови [4]. Липопротеины плазмы крови, транспортирующие холестерин (ХС) и триглицериды (ТГ), находятся в непосредственном контакте с эндотелием сосудистой стенки и вовлечены в нарушение или восстановление эндотелиальной функции. Показано, что появление и накопление в плазме крови химически модифицированных липопротеинов, особенно липопротеинов низкой плотности (ЛНП), в том числе мелких плотных окисленных гликозилированных частиц, ассоциировано со старением человеческого организма [6–8]. На скорость старения сосудистой

стенки могут влиять и факторы, регулирующие функционирование липид-транспортной системы, поэтому изучение связи различных показателей системы липопротеинов с жесткостью сосудов как индикатором их старения является актуальной задачей.

Целью работы было выяснить: вовлечены ли нарушения в системе липопротеинов в изменения СРПВ как показателя сосудистого старения, связанного или не связанного с хронологическим возрастом человека.

Материалы и методы

Исследование является открытым одномоментным нерандомизированным. В исследование включено 202 пациента обоего пола 30–75 лет (М/Ж 68/134). Критериями исключения были любые хронические соматические заболевания, в том числе клинические проявления атеросклероза, артериальная гипертония 2–3 степени, сахарный диабет, онкологические заболевания, а также беременность, период лактации, отказ от участия в исследовании. Всеми пациентами было подписано информированное согласие на участие в исследовании. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» МЗ РФ.

Клиническое обследование включало: оценку семейного анамнеза (выявление случаев ССЗ у родственников первой линии – у женщин моложе 65 лет, у мужчин моложе 55 лет), измерение роста, веса, расчет индекса массы тела, измерение окружности талии, дуплексное сканирование сонных артерий с определением толщины комплекса интима – медиа, наличия и структуры атеросклеротических бляшек.

Жесткость артериальной стенки оценивали по СРПВ, используя прибор SphygmoCor (AtCorMedical, Австралия). Пульсовые волны регистрировали последовательно высокоточным аппланационным тонометром, который накладывался на проксимальную (сонную) и, с коротким промежутком, на дистальную (бедренную)

артерии, при этом одновременно регистрировали электрокардиограмму (ЭКГ). СРПВ вычисляли с использованием времени прохождения волны между точками регистрации, определяемого с помощью зубца R на ЭКГ. Жесткими считали артерии при СРПВ > 10 м/с [9].

Кровь брали из локтевой вены натощак спустя 12 часов после последнего приема пищи. Сыворотку получали путем центрифугирования крови при 1000 G в течение 15 мин. Концентрацию общего ХС, ХС ЛНП, липопротеинов высокой плотности (ХС ЛВП), ТГ, аполипопротеинов (апо) AI и B, липопротеина (ЛП) (а) определяли на биохимическом анализаторе «Сапфир-400» (Япония) с использованием ферментных наборов.

Для характеристики спектра липопротеинов, в том числе ЛНП, используют различные методы: ультрацентрифугирование в градиенте солевой плотности, электрофорез в градиентном полиакриламидном геле, ядерный магнитный резонанс и др. [10–12]. Однако применение этих методов в клинических целях затруднено из-за необходимости использовать дорогостоящее оборудование, а также длительности выполнения исследования. В настоящей работе анализ субфракционного спектра ЛНП проводили с использованием электрофореза в готовых трубочках с 3%-ным полиакриламидным гелем с последующим сканированием и компьютерной обработкой данных («Липопринт-ЛНП-система» – Quantimetrix Lipoprint LDL System, США). С помощью этого метода идентифицируют следующие липопротеины и их субфракции: липопротеины очень низкой плотности (ЛОНП); три субфракции липопротеинов промежуточной плотности (ЛПП) – ЛПП-С, ЛПП-В, ЛПП-А; до четырех субфракций ЛНП – крупные ЛНП-1 и менее крупные ЛНП-2; мелкие ЛНП-3 и еще более мелкие ЛНП-4, а также ЛВП [13–15]. Результаты представлены в виде процентного содержания (доли) той или иной субфракции (площадь под кривой субфракции липопротеинов). За 100 % принимали сумму площадей под кривой всех липопротеинов сыворотки крови.

Статистический анализ результатов проводили с использованием пакетов статистических программ Statistica 8.0. Данные представлены как среднее арифметическое (Mean) \pm стандартное отклонение (SD). Сравнение средних величин проводилось с помощью t-test Стьюдента. Различия, при которых $p < 0,05$, рассматривали как статистически значимые.

Результаты и обсуждение

Корреляционный анализ (ранговый коэффициент Спирмана) позволил выявить относительно невысокую, но достоверную взаимосвязь между СРПВ и рядом показателей спектра липопротеинов плазмы крови: с уровнем общего ХС ($r = 0,178$; $p = 0,012$), концентрацией апо В – основного белка

липопротеинов низких плотностей ($r = 0,255$; $p = 3 \times 10^{-4}$) и величиной отношения апо В/апо AI ($r = 0,256$; $p = 2,5 \times 10^{-4}$).

В зависимости от СРПВ (эластичные или жесткие) и хронологического возраста человека пациентов разделили на 4 группы: условно молодые (в возрасте ≤ 45 лет) с эластичными или жесткими сосудами и условно старые (в возрасте > 45 лет) с эластичными или жесткими сосудами. Биологический условный возраст сосудов соответствует степени жесткости сосудистой стенки (молодые сосуды – с нормальной жесткостью, СРПВ ≤ 10 м/с; старые сосуды – жесткие, СРПВ > 10 м/с). Сформированы следующие группы: 1-я группа: условно молодые пациенты с эластичными сосудами ($n = 56$), средний возраст $35 \pm 6,4$ лет; 2-я группа: условно молодые пациенты с жесткими сосудами ($n = 30$), средний возраст $38 \pm 5,7$ лет; 3-я группа: условно старые пациенты с эластичными сосудами ($n = 39$), средний возраст $57 \pm 7,1$ лет; 4-я группа: условно старые пациенты с жесткими сосудами ($n = 77$), средний возраст $58 \pm 8,3$ лет.

В табл. 1 представлены показатели липидного профиля включенных в исследование пациентов в соответствующих группах.

В группе условно молодых с жесткими сосудами (2-я группа) по сравнению с условно молодыми с эластичными сосудами (1-я группа) выявлен более высокий уровень ХС и ХС ЛНП. Обнаружены различия по уровню ТГ и ЛП (а) у условно старых пациентов с жесткими сосудами (4-я группа) по сравнению с условно старыми пациентами с эластичными сосудами (3-я группа). При этом у лиц с эластичными сосудами обнаружены зависимые от возраста различия: у лиц условно старых уровни ХС и ХС ЛНП оказались более высокими. В группе условно старых пациентов уровень ТГ был выше у лиц с жесткими сосудами по сравнению с лицами с эластичными сосудами, а уровень ЛП (а) – достоверно ниже.

В табл. 2 показано, что при практически одинаковом содержании во всех группах апо AI уровень апо В оказался выше во всех группах по сравнению с условно молодыми с эластичными сосудами (1-я группа), однако статистической значимости различия достигли только при сравнении с условно старыми с эластичными сосудами (3-я группа).

При определении субфракционного спектра липопротеинов крови (табл. 3) обнаружено: доля ЛОНП выше у лиц с жесткими сосудами, независимо от возраста пациентов (2-я и 4-я группы), по сравнению с пациентами с эластичными сосудами соответствующих возрастных групп. В группе условно старых с жесткими сосудами (4-я группа) в пределах фракции ЛПП доля подфракции наиболее крупных частиц ЛПП-С ниже, чем в группах условно старых с эластичными сосудами (3-я группа) и условно молодых с жесткими сосудами (2-я группа). В то же время доля мелких частиц ЛПП-В, и особенно подфракции ЛПП-А, оказалась

Таблица 1. Уровень липидов сыворотки крови пациентов, различающихся по биологическому и хронологическому возрасту.

Группы	ХС	ТГ	ХС ЛНП	ХС ЛВП	ЛП(а)
	ммоль/л				мг/дл
1. Возраст < 45 лет СРПВ ≤ 10 м/с	5,1 ± 0,85	1,0 ± 1,12	3,5 ± 0,79	1,3 ± 0,33	24,8 ± 32,9
2. Возраст < 45 лет СРПВ > 10 м/с	5,8 ± 0,78	1,3 ± 0,55	4,1 ± 0,77	1,1 ± 0,35	29,4 ± 38,1
р 2-1	0,0009		0,002		
3. Возраст > 45 лет СРПВ ≤ 10 м/с	6,0 ± 1,26	1,2 ± 0,68 ^а	4,2 ± 0,81 ^а	1,2 ± 0,34	42,8 ± 52,4
4. Возраст > 45 лет СРПВ > 10 м/с	5,8 ± 1,23	1,6 ± 0,92	3,9 ± 1,12	1,2 ± 0,30	23,4 ± 28,6
р 4-3		0,021			0,014

Примечание: ЛП(а) – липопротеин (а); СРПВ – скорость распространения пульсовой волны; ТГ – триглицериды; ХС – холестерин; ХС ЛНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; ХС ЛВП – холестерин липопротеинов высокой плотности.

Достоверность различий между группами 3-1: ^а р < 0,05.

Таблица 2. Уровень аполипопротеинов сыворотки крови пациентов, различающихся по биологическому и хронологическому возрасту.

Группы	апо АІ	апо В	апо В/АІ
	мг/дл		
1. Возраст < 45 лет СРПВ ≤ 10 м/с	169 ± 28,6	89 ± 24,4	0,55 ± 0,19
2. Возраст < 45 лет СРПВ > 10 м/с	167 ± 31,6	111 ± 23,8	0,70 ± 0,21
р 2-1		0,0001	
3. Возраст > 45 лет СРПВ ≤ 10 м/с	178 ± 32,7	108 ± 27,6 ^а	0,62 ± 0,19
4. Возраст > 45 лет СРПВ > 10 м/с	171 ± 30,9	111 ± 29,4	0,67 ± 0,20

Примечание: апо – аполипопротеины; СРПВ – скорость распространения пульсовой волны.
Достоверность различий между группами 3-1: ^а р < 0,05.

выше в группе условно старых с жесткими сосудами (3-я группа).

Иными словами, у условно старых пациентов с жесткими сосудами в пределах промежуточной фракции между ЛОНП и ЛНП, т.е. подфракции ЛПП, отмечается сдвиг в сторону более мелких частиц, близких к ЛНП. Подтверждением этих данных служит прямая корреляционная связь между СРПВ и процентным содержанием ЛОНП ($r=0,310$; $p=10^{-5}$) и относительно мелких ЛПП-В ($r=0,284$; $p=6 \times 10^{-5}$) и обратная зависимость между СРПВ и долей крупных частиц фракции ЛПП-С ($r=0,145$; $p=0,045$) и ЛНП-1 ($r=0,152$; $p=0,035$). Обращает на себя внимание факт наличия наиболее мелких плотных частиц подфракции ЛНП-4 у большего числа пациентов с жесткими сосудами, по сравнению

с лицами с эластичными сосудами, независимо от возраста: 28,5 против 17,9 % ($\chi^2=3,21$).

Таким образом, повышенная жесткость сосудов у хронологически старых пациентов ассоциируется с увеличенной долей более мелких подфракций ЛПП (ЛПП-В и ЛПП-А), близких к ЛНП. Обнаружено также большее количество лиц с наличием мелких плотных частиц ЛНП-4. Полученные данные позволяют полагать, что сдвиги в субфракционном спектре ЛПП и ЛНП в сторону более мелких частиц сопряжены с биологическим старением сосудов и развитием атеросклероза.

Повышение показателей жесткости сосудов сопряжено с повышенной долей ЛОНП как в группе условно молодых, так и в группе условно старых, тогда как повышение уровня ТГ имело место только

Таблица 3. Субфракционный спектр липопротеинов низких плотностей пациентов, различающихся по биологическому и хронологическому возрасту.

Группы	ЛОНП	ЛПП-С	ЛПП-В	ЛПП-А	ЛНП-1	ЛНП-2	ЛНП-3	ЛНП-4
	процентное содержание							
1. Возраст < 45 лет СРПВ ≤ 10 м/с	13,7 ± 4,32	10,9 ± 3,44	7,8 ± 1,48	9,4 ± 2,83	19,6 ± 4,29	7,6 ± 4,12	1,41 ± 2,03	0,32 ± 1,53
2. Возраст < 45 лет СРПВ > 10 м/с	16,5 ± 3,94	10,9 ± 3,44	8,5 ± 1,35	9,3 ± 3,12	18,1 ± 4,43	9,4 ± 5,31	2,09 ± 2,57	0,29 ± 0,78
p 2-1	0,004							
3. Возраст > 45 лет СРПВ ≤ 10 м/с	14,6 ± 4,69	11,5 ± 4,69	8,8 ± 1,83 ^{aa}	8,9 ± 2,04	18,9 ± 4,49	9,4 ± 4,39	1,98 ± 4,69	0,25 ± 0,46
4. Возраст > 45 лет СРПВ > 10 м/с	16,9 ± 4,01	9,6 ± 2,58 ^b	9,4 ± 1,83 ^b	10,4 ± 3,10	17,7 ± 4,43	8,5 ± 4,99	1,46 ± 1,64	0,26 ± 0,51
p 4-3	0,008	0,0002		0,012				

Примечание: ЛОНП – липопротеины очень низкой плотности; ЛПП (С, В, А) – липопротеины промежуточной плотности; ЛНП (1, 2, 3, 4) – липопротеины низкой плотности; СРПВ – скорость распространения пульсовой волны. Достоверность различий между группами 3-1: ^{aa}p < 0,01; 4-2: ^bp < 0,05.

в группе условно старых пациентов, что может свидетельствовать о замедлении у них процессов утилизации ТГ. Установлена специфика в липидно-белковых показателях: группа молодых по хронологическому возрасту, но имеющих жесткие (биологически старые) сосуды, характеризуется более высоким уровнем ХС и ХС ЛНП, что может способствовать преждевременному развитию атеросклероза.

Авторы выражают благодарность

Старшему научному сотруднику Исаякиной О. Ю. за проведение измерения скорости распростране-

ния пульсовой волны. Аспирантам Плоховой Е. В. и Пыхтиной В. С. за подбор и клиническое обследование пациентов, включенных в исследование. Биологу КДЛ, к.б.н. Александрович О. В. за проведение биохимических исследований.

Конфликт интересов

Конфликт интересов отсутствует.

Список литературы

1. Virmani R, Avolio AP, Mergner WJ, et al. Effect of aging on aortic morphology in populations with high and low prevalence of hypertension and atherosclerosis: comparison between occidental and Chinese communities. *Am J Pathol.* 1991;139:1119-29.
2. Lim MA, Townsend RR. Arterial compliance in the elderly: its effect on blood pressure measurement and cardiovascular outcomes. *Clin Geriatr Med.* 2009;25:191-205.
3. Ziemann SJ, Melenovsky V, Kass DA. Mechanisms, pathophysiology, and therapy of arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:939-43.
4. Miao DM, Ye P, Xiao WK, et al. Influence of low high-density lipoprotein cholesterol on arterial stiffening and left ventricular diastolic dysfunction in essential hypertension. *J Clin Hypertens.* 2001;13(10):710-5.
5. Hristov M, Zernecke A, Schober A, et al. Adult progenitor cells in vascular remodeling during atherosclerosis. *Biol Chem.* 2008;389:837-44.
6. Andrassy M, Volz HC, Igwe JC, et al. High-mobility group box-1 in ischemia-reperfusion injury of the heart. *Circulation.* 2008;117:3216-26.
7. Palumbo R, Galvez BG, Pusterla T, et al. Cells migrating to sites of tissue damage in response to the danger signal HMGB1 require NF-kappaB activation. *J Cell Biol.* 2007;179:33-40.
8. Barzilai N, Atzmon G, Schechter C, et al. Unique lipoprotein phenotype and genotype associated with exceptional longevity. *JAMA.* 2003;290(15):2030-40.
9. Van Bortel ML, Laurent S, Boutouyrie P, et al. Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J Hypertension.* 2012;30(3):445-8.

10. Chung M, Lichtenstein AH, Ip S, et al. Comparability of methods for LDL subfraction determination: A systematic review. *Atherosclerosis*. 2009;205:342-8.
11. Varady KA, Lamarche B. Lipoprint adequately estimates LDL size distribution, but not absolute size, versus polyacrylamide gradient gel electrophoresis. *Lipids*. 2011;46(12):1163-7.
12. Banuls C, Bellod L, Jover A, et al. Comparability two different polyacrylamide gel electrophoresis methods for free classification of LDL pattern type. *Clin Chim Acta*. 2012;413(1-2):251-7.
13. Hoefner DM, Hodel SD, O'Brein JF, et al. Development of a rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System. *Clin Chem*. 2001;47(2):266-74.
14. Ozerova IN, Perova NV, Metelskaya VA, et al. Low-density lipoprotein subfractions and varying degree of coronary stenosis. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2013;12(4):16-20. Russian (Озерова ИИ, Перова НВ, Метельская ВА, с соавт. Субфракционный спектр липопротеинов низких плотностей при разной степени стенозов коронарных артерий. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2013;12(4):16-20).
15. Utkina EA, Afanasyeva OI, Yezhov MV, et al. Association between different lipoprotein subfractions and coronary atherosclerosis in middle-aged men on statin therapy. *Cardiovestnik*. 2014;1:68-76. Russian (Уткина ЕА, Афанасьева ОИ, Ежов МВ, с соавт. Связь различных подфракций липопротеидов с коронарным атеросклерозом у мужчин среднего возраста, получавших терапию статинами. *Кардиологический вестник*. 2014;1:68-76).



Уважаемые коллеги!

Редакция журнала «Атеросклероз и дислипидемии» сердечно поздравляет с юбилейной датой одного из авторов статьи, крупнейшего российского биохимика, доктора медицинских наук, ведущего научного сотрудника отдела изучения биомаркеров риска хронических неинфекционных заболеваний ФГБУ «ГНИЦ ПМ» МЗ РФ, посвятившего многие годы изучению липидов и внесшего большой вклад в понимание патогенеза атеросклероза, профессора

Перову Наталью Владимировну

и желает ей многих лет плодотворной и счастливой жизни.

Коллектив редколлегии

