

УДК 618.173-085

ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКИЙ, АНТИОКСИДАНТНЫЙ И ИММУНОМОДУЛЯТОРНЫЙ ЭФФЕКТ АТОРВАСТАТИНА В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

С. А. Уразгильдеева¹, Л. В. Шатилина³, Ю. В. Скоробогатова⁴,
М. М. Мнускина⁵, И. Н. Макарова⁵, А. Н. Дрыгин², В. С. Гуревич²

¹ ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет»

² ФГБУЗ «Клиническая больница № 122 имени Л. Г. Соколова
Федерального медико-биологического агентства»

³ ФГБУ «НИИ экспериментальной медицины» СЗО РАМН

⁴ Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии имени В. А. Алмазова

⁵ ГУЗ «Городской консультативный диагностический центр №1»

S. A. Urazgildeeva¹, L. V. Shatilina³, Yu. V. Skorobogatova⁴,
M. M. Mnuskina⁵, I. N. Makarova⁵, A. N. Drygin², V. S. Gurevich²

LIPID-LOWERING, ANTIOXIDANT AND AN IMMUNOMODULATORY EFFECT OF ATORVASTATIN IN POSTMENOPAUSE

¹ Saint Petersburg State University

² Sokolov' Hospital N 122 of the Federal Medical and Biological Agency

³ Scientific research institute of experimental medicine NWB RAMS

⁴ Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre

⁵ The city advisory diagnostic center N 1

РЕФЕРАТ. Цель исследования. Изучение влияния аторвастатина на содержание липидов крови, уровень антител к окисленным липопротеидам низкой плотности (АТ к ок-ЛПНП) и показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) у женщин постменопаузального возраста с ишемической болезнью сердца (ИБС).

Методы. Уровень липидов крови определяли энзиматическим методом, АТ к ок-ЛПНП в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа, ПОЛ – методом индуцированной хемилюминесценции.

Результаты. У всех пациенток в результате 4-недельного курса аторвастатина (10 мг в день) был достигнут выраженный гиполипидемический эффект. Интенсивность индуцированной хемилюминесценции после курса аторвастатина снизилась с $1336,61 \pm 48,02$ до $1142,75 \pm 47,36$ имп./30 с ($p < 0,01$). Показатель общей антиокислительной активности достоверно повысился с $13,70 \pm 0,28$ до $14,54 \pm 0,24$. Содержание в крови АТ к ок-ЛПНП достоверно снизилось ($W = 91$, $p < 0,05$). Наибольшим этот эффект был при гипо- α -холестеринемии.

Выводы. Торможение аторвастатином атерогенной модификации ЛПНП имеет важное значение при лечении ИБС у женщин в период постменопаузы, когда из-за низкой продукции эстрогенов уменьшен антиоксидантный потенциал плазмы крови, что увеличивает риск коронарных событий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аторвастатин, постменопауза, аутоантитела, окисленные ЛПНП.

SUMMARY. Objective. To study the influence of atorvastatin on lipid levels, antibodies to oxidized low-density lipoprotein (Ab to ox-LDL) and lipid peroxidation (LPO) in postmenopausal women with coronary heart disease (CHD).

Methods. Lipid levels were determined enzymatically, Ab to ox-LDL in serum by solid phase immunoenzyme analysis, LPO – by induced chemiluminescence method.

Results. All patients were given 4-weeks course of atorvastatin (10 mg/day) and marked hypolipidemic effect was achieved. Induced chemiluminescence intensity after a course of atorvastatin decreased from $1336,61 \pm 48,02$ to $1142,75 \pm 47,36$ imp./30 s ($p < 0,01$). Index of total antioxidant activity significantly increased from $13,70 \pm 0,28$ to $14,54 \pm 0,24$. Blood levels of Ab to ox-LDL was significantly decreased ($W = 91$, $p < 0,05$). This effect was greatest at hypo- α -cholesterolemia.

Conclusions. Atorvastatin inhibition of atherogenic LDL modification is important in the treatment of coronary heart disease in postmenopausal women, who due to a low production of estrogen have the reduced antioxidant capacity of blood plasma, which increases the risk of coronary events.

KEY WORDS: atorvastatin, postmenopausal period, antibodies, oxidized low-density lipoprotein.

Увеличение частоты развития ишемической болезни сердца (ИБС) у женщин после наступления менопаузы связано в значительной степени со снижением продукции эстрогенов, которое приводит к существенным сдвигам в липидном спектре крови с повышением доли атерогенных липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), резкому

снижению антиоксидантного потенциала плазмы и активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4, 12]. Окисленные ЛПНП (ок-ЛПНП) не только являются основным источником холестерина в атеросклеротических бляшках, но и индуцируют образование специфических аутоантител (АТ) к ок-ЛПНП. Повышенное формирование мо-

дифицированных ЛПНП и стимуляция аутоиммунных реакций рассматриваются как важные факторы локального воспаления и дестабилизации атеросклеротических бляшек, что, по современным представлениям, играет ведущую роль в прогрессировании клинических осложнений атеросклероза [2, 13].

Следует отметить, что результаты исследований по применению гормональной заместительной терапии (ГЗТ) для вторичной профилактики ИБС у женщин в постменопаузе оцениваются как неоднозначные [15, 17, 18]. В то же время наиболее эффективными гиполипидемическими и антиатеросклеротическими средствами по-прежнему остаются ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы – статины, существенно снижающие уровень атерогенных ЛПНП и, соответственно, частоту коронарных эпизодов. В настоящее время активно изучаются плейотропные эффекты статинов, к которым, в частности, относится и уменьшение степени окисления ЛПНП. Так, недавно показано, что один из наиболее эффективных препаратов этого ряда – аторвастатин – позитивно влияет на показатели перекисного окисления при гиперхолестеринемии [3].

Цель исследования. Изучение влияния аторвастатина на уровень АТ к ок-ЛПНП, показатели ПОЛ и содержание липидов крови у женщин постменопаузального возраста.

Материалы и методы исследования. В одинарное слепое, плацебо неконтролируемое исследование было включено 20 женщин с ИБС и первичной гиперхолестеринемией в постменопаузальном периоде. Средний возраст обследованных составил $67,3 \pm 4,0$ года, продолжительность менопаузы – от 2 до 29 лет. Среди пациенток преобладали больные со стенокардией напряжения, у 7 регистрировалась стенокардия напряжения II функционального класса, у 11 – III функционального класса, у 1 – спонтанная стенокардия. Восемь женщин перенесли в прошлом (от 2 до 7 лет назад) инфаркт миокарда. Проявления сердечной недостаточности не выше II стадии по NYHA отмечались у 8 больных. Гипертонической болезнью страдали 19 женщин. Гиперлипидемия IIa и IIb типа по классификации D. Fredricsen регистрировалась соответственно у 9 и 11 больных, в 9 случаях она сочеталась с гипо- α -холестеринемией. Все пациентки соблюдали гиполипидемическую диету. На время исследования были отменены антиоксиданты и препараты ГЗТ. Аторвастатин назначали в суточной дозе 10 мг.

Показатели липидного спектра сыворотки, содержание АТ к ок-ЛПНП крови, показатели ПОЛ оценивали до начала терапии и через месяц лечения.

Кровь для исследования брали утром после 14-часового голодания. Цельную кровь отбирали в сухие стеклянные пробирки для получения сы-

воротки. Полученную в ходе центрифугирования (30 мин при 2000 g) сыворотку тестировали на наличие гемоглобина для исключения гемолиза.

Уровень общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), ХС липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) в сыворотке крови определяли при помощи реагентов фирмы BIOCON (Германия). Содержание ХС ЛПНП рассчитывали по формуле M. Friedwald [14].

АТ к ок-ЛПНП в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-системы IMMCO Diagnostics (США). Результаты выражали в условных ферментативных единицах Е/мл.

Об активности ПОЛ судили по образованию свободных радикалов, определяемых методом индуцированной хемилюминесценции по значению интенсивности ($I_{хл}$) и светосуммы свечения ($S_{хл}$) при добавлении к 0,1 мл сыворотки 0,2 мл 2% раствора перекиси водорода, 0,4 мл 0,01 мМ раствора сульфата железа и 0,4 мл фосфатного буфера (рН = 7,4). Процесс регистрировали в течение 30 с на хемолюминометре БХЛ-06. Величины $I_{хл}$ и $S_{хл}$ выражали в импульсах за 30 с. Общую антиоксидантную активность (АОА) рассчитывали как отношение $S_{хл}$ к $I_{хл}$ [1].

Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы прикладного статистического анализа MicroCal Origin, v. 2.8. с использованием оценки средних значений и средней ошибки, однофакторного вариационного анализа (ANOVA), t-критерия Стьюдента и непараметрического метода (критерия Уилкоксона).

Результаты исследования. У всех пациенток в результате 4-недельного курса аторвастатина было достигнуто достоверное снижение среднего уровня общего ХС (с $7,95 \pm 0,33$ до $5,57 \pm 0,27$ ммоль/л, $p < 0,0001$, т. е. на 29,9%) и ХС ЛПНП (с $5,59 \pm 0,32$ до $3,49 \pm 0,29$ ммоль/л, $p < 0,05$, или на 37,6%). При этом у 12 пациенток был достигнут уровень ХС ЛПНП 3,5 ммоль/л, а у 16 – 4,0 ммоль/л. Средний уровень ТГ в исследованной группе снизился с $2,85 \pm 0,29$ до $1,93 \pm 0,20$ ммоль/л ($p < 0,05$), или на 32,3%.

Содержание ХС ЛПВП повысилось в среднем на 10,1%. Отдельно были проанализированы данные, полученные у больных с гипо- α -холестеринемией. В этой подгруппе уровень ХС ЛПВП достоверно повысился с $0,89 \pm 0,089$ до $1,01 \pm 0,02$ ммоль/л ($p < 0,005$).

Интенсивность индуцированной хемилюминесценции после применения аторвастатина снизилась с $1336,61 \pm 48,02$ до $1142,75 \pm 47,36$ имп./30 с ($p < 0,01$). Показатель общей антиокислительной активности достоверно повысился с $13,70 \pm 0,28$ до $14,54 \pm 0,24$ (см. табл.).

Индивидуальные значения уровня АТ к ок-ЛПНП в сыворотке крови обследованных больных пред-

Таблица

Влияние терапии аторвастатином на показатели перекисного окисления липидов у женщин постменопаузального возраста

Показатели	До начала терапии	Через месяц	F	p
$I_{\text{хл}}$, имп./30 с	1336,61 ± 48,02	1142,75 ± 47,36	8,263	<0,01
$S_{\text{хл}}$, имп./30 с	18265,51 ± 700,01	16537,18 ± 610,84	3,460	>0,05
АОА	13,70 ± 0,28	14,54 ± 0,24	5,158	<0,03

ставлены на рисунке. Так как при анализе результатов выборки выявлено нерегулярное распределение значений в общей группе, для оценки изменений титра АТ к ок-ЛПНП был применен метод непараметрической статистики с использованием критерия Уилкоксона. Обнаружено достоверное снижение содержания в крови АТ к ок-ЛПНП ($W = 91, p < 0,05$). В подгруппе больных ИБС с гипо- α -холестеринемией статистическая достоверность снижения содержания АТ к ок-ЛПНП с $21,04 \pm 3,31$ до $12,13 \pm 1,17$ Е/мл ($p < 0,03$) была рассчитана параметрически с использованием критерия Стьюдента.

Обсуждение результатов исследования. Обнаруженное в настоящем исследовании снижение содержания в крови общего ХС и ХС ЛПНП у пациенток постменопаузального возраста с ИБС было зарегистрировано уже через месяц терапии аторвастатином в дозе 10 мг в сутки, которая считается начальной. Эти данные совпадают с сопоставимыми по длительности лечения результатами 6-недельного двойного слепого рандомизированного плацебоконтролируемого исследования гиполипидемического эффекта аторвастатина, назначавшегося один раз в сутки в

разных дозах больным с первичной гиперхолестеринемией, где наблюдалось достоверное снижение уровня общего ХС и ХС ЛПНП (соответственно на 30 и 41%) при назначении дозы 10 мг [16].

Эффект, полученный нами в отношении ТГ, совпадает с результатами другого исследования влияния аторвастатина, в котором при суточной дозе 10 мг в течение 6 недель уровень ТГ снижался на 27% [5]. Таким образом, в нашем исследовании подтвердилось представление о том, что аторвастатин оказывает гипотриглицеридемическое действие уже в низких дозировках.

В наших предыдущих работах было показано, что ЛПВП обладают собственной антиоксидантной активностью и могут способствовать замедлению перекисления атерогенных ЛПНП *in vivo* [6]. В настоящем исследовании увеличение пула антиатерогенных ЛПВП под влиянием аторвастатина совпало со снижением интенсивности ПОЛ и увеличением общей антиокислительной активности крови, что свидетельствует о благоприятном влиянии аторвастатина не только на уровень липидов, но и на интенсивность перекисной модификации ЛПНП.

Антиоксидантное действие некоторых других гиполипидемических средств продемонстрировано и другими авторами. В основном это были эксперименты *in vitro* [7]. В настоящем исследовании такой эффект аторвастатина приобретает особое значение в связи с тем, что он получен при лечении женщин с ИБС постменопаузального возраста, так как хорошо известно, что у них наблюдается снижение антиоксидантного потенциала, в частности, вследствие уменьшения уровня эстрогенов [8].

Наиболее информативным показателем, отражающим степень и патогенетическую значимость перекисления ЛПНП, является уровень АТ к ок-ЛПНП, так как за счет иммунологического ответа организма проявляются обусловленные аутоиммунными реакциями нарушения функции эндотелия и тромбогенного потенциала, которые способствуют прогрессированию заболевания [9]. В литературе имеются противоречивые данные о влиянии ГЗТ на этот показатель. Так, N. Hoogerbrugge с соавторами выявили достоверное снижение титра АТ к ок-ЛПНП в ответ на терапию эстрогенами у 25 женщин постменопаузального возраста [10]. Однако в исследовании А. М. Heikkinen и соавторов не было получено значимых различий по уровню АТ к ок-ЛПНП, содер-

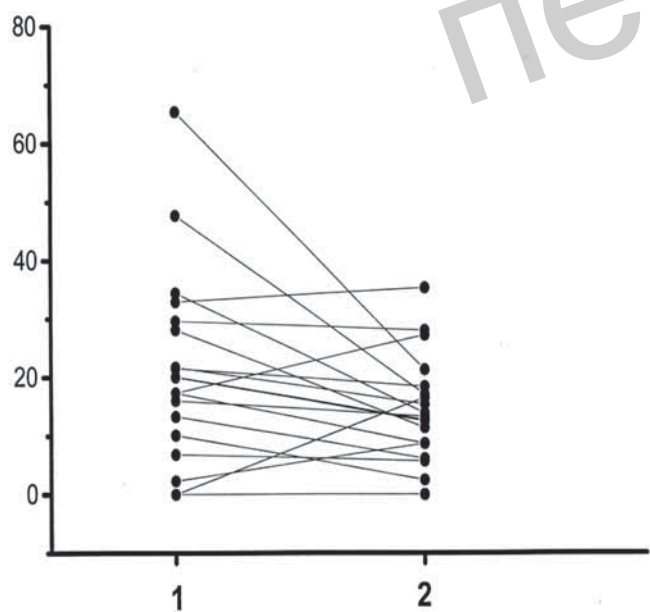


Рис. Индивидуальные значения содержания антител к окисленным липопротеидам в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста до начала терапии аторвастатином (1) и через месяц терапии (2). По оси абсцисс отложены условные единицы – Е/мл.

жанию ЛПВП и ТГ в группах больных ИБС, получавших и не получавших ГЗТ в течение года [15]. Вместе с тем, несмотря на то, что имеются надежные подтверждения позитивного действия ингибиторов ГМГ-коензим А редуктазы для вторичной профилактики ИБС в постменопаузе, практически отсутствуют подобные исследования, посвященные влиянию гиполипидемической терапии статинами на титр АТ к ок-ЛПНП без сопутствующей ГЗТ.

Обнаруженное в нашей работе снижение содержания в крови АТ к ок-ЛПНП в некоторой степени объясняют результаты исследования В. Fuhrman с соавторами, которые обнаружили торможение аторвастатином включения ок-ЛПНП в дифференцирующиеся моноциты [11]. В том же исследовании продемонстрировано увеличение под действием аторвастатина активности параоксоназы – фермента, обеспечивающего антиоксидантную функцию ЛПВП. В этой связи небезын-

тересным представляется выявленное нами после курса аторвастатина в подгруппе пациенток с гипо- α -холестеринемией, где изначально снижен антиоксидантный потенциал ЛПВП, еще более значимое, чем в общей группе, снижение содержания АТ к ок-ЛПНП.

Обсуждаемые результаты свидетельствуют о том, что в ряду плейотропных эффектов аторвастатина существенное место занимают его положительное влияние на поддержание оптимального антиоксидантного потенциала плазмы крови и торможение аутоиммунных реакций, связанных с атерогенной модификацией ЛПНП. Это имеет особое значение при лечении ИБС у женщин в период постменопаузы, когда риск развития коронарных событий может быть значительно уменьшен своевременным назначением препаратов, компенсирующих снижение активности естественных антиатерогенных факторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузьмина Е. И., Нелюбин А. С., Щенникова М. К. Применение индуцированной хемилюминесценции для оценки свободнорадикальных реакций в биологических субстратах // Биохимия и биофизика микроорганизмов. – Горький, 1983. – P. 41–48.
2. Antibodies against cardiolipin and oxidatively modified LDL in 50-year-old men predict myocardial infarction / R. Wu, S. Nityanand, L. Berglund [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1997. – Vol. 17. – P. 3159–3163.
3. Effect of atorvastatin on LDL oxidation and antioxidants in normocholesterolemic type 2 diabetic patients / W. A. Oranije, J. P. Sels, G. J. Rondas-Colbers [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2001. – Vol. 311 (9). – P. 91–94.
4. Effects of postmenopausal estrogen replacement on the concentrations and metabolism of plasma lipoproteins / B. W. Walsh, I. Schiff, B. Rosner [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1991. – Vol. 325. – P. 1196–1204.
5. Efficacy and safety of atorvastatin 10 mg every other day in hypercholesterolemia / C. Piamsomboon, P. Laothavorn, S. Saguanwong [et al.] // *J. Med. Assoc. Thai.* – 2002. – Vol. 85. – P. 297–330.
6. Antioxidative activity of high density lipoproteins in vivo / A. N. Klimov, V. S. Gurevich, A. A. Nikiforova [et al.] // *Atherosclerosis.* – 1993. – Vol. 100. – P. 13–18.
7. Mueck A. O., Seeger H., Wallwiener D. Fluvastatin combined with 17-beta-estradiol: effect on the oxidation of human low density lipoprotein // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* – 2000. – Vol. 108 (4). – P. 315–317.
8. Wenger N. K., Speroff L., Packard B. Cardiovascular health and disease in women // *N. Engl. J. Med.* – 1993. – Vol. 329. – P. 247–256.
9. Patients with early-onset peripheral vascular disease have increased levels of autoantibodies against oxidized LDL / C. Bergmark, R. Wu, U. de Faire [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1995. – Vol. 15. – P. 441–445.
10. Estrogen replacement decreases the level of antibodies against oxidized low-density lipoprotein in postmenopausal women with coronary heart disease / N. Hooperbrugge, M.C. Zillikens, H. Jansen [et al.] // *Metabolism.* – 1998. – Vol. 47. – P. 675–680.
11. Atorvastatin therapy in hypercholesterolemic patients suppresses cellular uptake of oxidized-LDL by differentiating monocytes / B. Fuhrman, L. Koren, N. Volkova [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2002. – Vol. 164. – P. 179–185.
12. Evidence for interference in estradiol-17-beta inactivation to estrone by oxidized low-density lipoprotein and selected lipid peroxidation products / W. Abplanalp, M. Rymaszewski, J. Adamski [et al.] // *J. Lab. Clin. Med.* – 1999. – Vol. 134. – P. 253–259.
13. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis / J. T. Salonen, S. Yla-Herttuala, R. Yamamoto [et al.] // *Lancet.* – 199. – Vol. 339. – P. 883–887.
14. Friedwald M. T., Levy R. I., Fredrickson D. S. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge // *Clin. Chem.* – 1972. – Vol. 18. – P. 499–502.
15. Postmenopausal hormone replacement therapy and autoantibodies against oxidized LDL / A. M. Heikkinen, L. Niskanen, S. Yla-Herttuala [et al.] // *Maturitas.* – 1998. – Vol. 29. – P. 155–161.
16. Reduction of LDL cholesterol by 25% to 60% in patients with primary hypercholesterolemia by atorvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor // J. W. Nawrocki, S. R. Weiss, M. H. Davidson [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1995. – Vol. 15. – P. 678–682.
17. Seeger H., Wallwiener D., Mueck A. O. Additive antioxidative effect of hormone replacement therapy combined with a statin // *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* – 2000. – Vol. 27. – P. 178–181.
18. Welty F. K. Cardiovascular disease and dyslipidemia in women // *Arch. Intern. Med.* – 2001. – Vol. 161. – P. 514–522.