

Б.Б. Шойбонов^{1,2,3}, В.Ю. Баронец^{2,3}, Л.Ф.Панченко^{1,2}, А.А. Кубатиев¹

Экспресс-способ определения холестерина в иммунных комплексах

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный научный центр наркологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119002, Москва, М. Могильцевский пер., 3

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

Разработан способ экспресс-определения холестерина в иммунных комплексах (ХИК). В предлагаемом способе преципитат иммунных комплексов, содержащих множественно модифицированные липопротеины низкой плотности, готовят из сыворотки крови человека путем обработки буфером, содержащим 8,3%-ный ПЭГ 3350 и 3,3%-ный ПВП 12600, в соотношении 1:1,2, инкубируют в течение 10 мин при комнатной температуре. Преципитат, содержащий ХИК, отделяют центрифугированием при 3100 г в течение 5 мин при 23°C, растворяют в буфере без ПЭГ и ПВП, определяют содержание холестерина с использованием ферментативного набора и при уровне содержания ХИК свыше 8,3 мг/дл констатируют повышенный уровень. Способ позволяет повысить точность количественного определения ХИК, проводить широкие скрининговые исследования для диагностики атеросклероза на доклинической стадии и контролировать эффективность проводимой терапии.

Ключевые слова: холестерин иммунных комплексов, атеросклероз, система комплемента

B.B. Shoibonov^{1,3}, V.Yu. Baronets^{1,3}, L.F. Panchenko^{1,2}, A.A. Kubatiev¹

A method of rapid determination of cholesterol in immune complexes

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, Russia, 125315, Moscow, Baltiiskaya str., 8

² National Research Center for Addictions Russian Ministry of Public Health and Social Development, , M. Mogiltzevsky, Moscow, 119002, Russia

³ Anokhin Institute of Normal Physiology, RAMS, Moscow, Russia, 125315, Moscow, Baltiiskaya str., 8

A method of rapid determination of cholesterol in immune complexes (CIC). In the proposed method precipitate immune complexes containing multiple modified low density lipoproteins from human serum are prepared by treatment with a buffer containing 8.3 PEG 3350, and 3.3% PVP 12600, in a ratio of 1:1.2, incubated for 10 min at room temperature. The precipitate containing the CIC is separated by centrifugation at 3100 g for 5 min at 23°C, dissolved in a buffer without PEG and PVP, the cholesterol is determined using an enzymatic kit and at a level of CIC more than 8.3 mg/dl ascertain higher level. The method improves the accuracy of the quantitative determination of CIC, conduct extensive screening tests to detect atherosclerosis as the pre-clinical stage and monitor the effectiveness of the therapy.

Key words: cholesterol immune complexes, atherosclerosis, complement system

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной инвалидизации и смертности во всех развитых странах [7]. Предполагается, что к 2020 г. около 40% из всех смертей в мире будет обусловлено ССЗ [16]. Заболевание инициируется накоплением липопротеинов, в первую очередь липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), во внеклеточном матриксе сосудов. Частицы ЛПНП агрегируют и подвергаются окислительной или ферментативной

модификации. Модификация ЛПНП, вызванная частично конечными продуктами липидной перекисидации, потенцирует их атерогенную природу [14]. Аутоантитела оЛПНП выявляются в сыворотке крови больных ССЗ и здоровых людей [6, 11, 13], но их роль (антиатерогенная или проатерогенная) окончательно не определена.

В настоящее время в клинической лабораторной практике отсутствуют доступные для рутинных исследований методы определения иммунных комплексов, содержащих оЛПНП (ХИК). Известные способы определения ХИК в сыворотке крови проводят преципитацию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) при разных концентрациях ПЭГ-6000

Для корреспонденции: Шойбонов Батожаб Батожаргалович, канд. хим. наук, вед. науч. сотр. лаб. биохимии ФГБУ НИИОПП РАМН, вед. науч. сотр. лаб. физиологии мотиваций ФГБУ НИИИФ РАМН. E-mail: shoibonov@mail.ru

(2,5%, 3,5% или 4%) в течение 18—24 ч при 23°C. Агрегированные иммунные комплексы, содержащие оЛПНП, осаждают центрифугированием, промывают буфером и определяют в преципитате холестерин после экстракции [2, 10, 12, 15]. Недостатком известных способов является отсутствие единых референтных величин по холестерину иммунных комплексов, длительность процедуры, неполная преципитация иммунных комплексов, содержащих множественно модифицированные липопротеины низкой плотности, и как следствие — отсутствие единых стандартных наборов для определения холестерина иммунных комплексов в условиях клинико-диагностических лабораторий.

Ранее нами был разработан способ определения уровня циркулирующих иммунных комплексов с использованием полиэтиленгликоля с молекулярной массой 3350 (ПЭГ-3350) [4]. Использование 5% ПЭГ-3350 и 50% сыворотки крови в преципитационной пробе позволило преципитировать из сыворотки преимущественно циркулирующие иммунные комплексы. Показано, что в данных условиях (10 мин при 23°C) агрегация иммунных комплексов, содержащих оЛПНП и обладающих высокой комплемент связывающей активностью, наблюдается в сыворотке крови только больных ИБС. Учитывая важную патогенетическую роль иммунных комплексов, содержащих множественно модифицированные липопротеины низкой плотности (ммЛПНП) при атеросклерозе, остается актуальной разработка простых, доступных для лабораторных исследований способов определения холестерина в иммунных комплексах (ХИК) [8, 10].

Цель работы — разработка экспресс-способа определения уровня холестерина в иммунных комплексах для рутинных исследований [5].

Методика

В работе исследовали сыворотку крови 15 доноров и 15 больных ИБС. Забор крови осуществляли из локтевой вены после 14-часового голодания. Содержание холестерина (ХС), триацилглицеридов (ТАГ) и общего белка в сыворотке крови определяли с помощью реактивов ЗАО «ЭКОлаб» (г.Электроргорск, Россия).

В работе использовали веронал, мединал, — фирмы «Seriva» (ФРГ), трис — «Merck» (ФРГ), полиэтиленгликоль 3350 «Sigma» (США), поливинилпирролидон 12600 ± 2700 «Синтвита» (Россия), препарат комплемента морской свинки, консервированные эритроциты барана — ЗАО «ЭКОлаб» (г.Электроргорск, Россия), остальные реактивы отечественного производства квалификации не ниже ч.д.а.

Приготовление эритроцитов барана, эритроцитов барана, сенсibilизированных антителами кролика (ЕА), изотонического вероналового буфера, рН 7,4 (VBS), буфера, содержащего ионы Ca^{2+} и Mg^{2+} (VBS^{2+}) общепринятыми методами [1]. Буфер для агрегации ЦИК (Буфер-1): 8,3% ПЭГ-3350 и 3,3% ПВП 12600 в 0,01 М Трис-НСl-буфере, содержащем 0,15 М NaCl, 0,02% NaN_3 , рН 7,4. Буфер для растворения ЦИК (Буфер-2): 0,01 М трис-НСl-буфер, содержащий 0,15 М NaCl, 0,02% NaN_3 , рН 7,4.

Результаты и обсуждение

Подбор оптимальной концентрации ПВП-12600 (при постоянной концентрации 4,5% ПЭГ-3350) для осаждения иммунных комплексов, содержащих множественно модифицированные ЛПНП (ммЛПНП) из пулированной сыворотки крови здоровых доноров. К 50 мкл пулированной сыворотки крови здоровых доноров добавляли по 50 мкл 10% ПЭГ-3350 и от 10 до 40 мкл раствора 20% ПВП (молекулярная масса 12600±2700), тщательно перемешивали и инкубировали 10 мин при 23°C. Контрольная проба содержала только 5% ПЭГ-3350 и 50% пулированную сыворотку крови человека. Образовавшиеся агрегаты иммунных комплексов осаждали центрифугированием при 3100g в течение 5 мин при 23°C. Супернатант тщательно декантировали, и преципитат растворяли в 50 мкл буфера-2.

Определение холестерина и белков в ПЭГ/ПВП-преципитатах, приготовленных при разных концентрациях ПВП-12600 и постоянной концентрации 4,5% ПЭГ-3350. В преципитатах после растворения в 50 мкл буфера-2 определяли содержание холестерина и общего белка с использованием наборов реактивов фирмы «ЗАО ЭКОлаб» (Россия). Белок в преципитате представлял собой циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) содержащими наряду с другими антигенами, антиген ммЛПНП. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Определение степени связывания комплемент морской свинки циркулирующими иммунными комплексами в преципитатах, приготовленных при возрастающих концентрациях ПВП и постоянной концентрации 4,5% ПЭГ-3350. К 10 мкл растворов ПЭГ/ПВП-преципитатов, разбавленных в соотношении 1:99 буфером VBS^{2+} , добавляли 20 мкл раствора, разбавленного 1:19, комплемента морской

свинки. Общий объем доводили до 0,3 мл буфером VBS²⁺ и инкубировали 20 мин при 37°C. После предварительной инкубации добавляли 200 мкл EA и повторно инкубировали 30 мин при 37°C. После 30-минутной инкубации реакцию останавливали добавлением 2,5 мл холодного раствора 0,15 М NaCl, центрифугировали и определяли величину лизиса эритроцитов по выходу гемоглобина в супернатант. Контрольная проба не содержала преципитата иммунных комплексов. Пониженный гемолиз в опытных пробах по сравнению с контролем свидетельствовал о связывании комплемента. Степень лизиса эритроцитов (У) определяли по формуле:

$$У (\%) = [(X-R)/(H-R) \times 100],$$

где H, R и X — величины оптической плотности A₄₁₂ в гемолитических системах контрольной пробы, в контроле спонтанного лизиса EA и в опытной пробе соответственно.

Степень связывания комплемента (ССК) определяли по формуле:

$$ССК (\%) = 100 - У.$$

Полученные результаты представлены в табл. 1.

Определение содержания IgG в преципитате. Приготовление эритроцитов барана, сенсибилизированных гетерофильными антителами человека. Предварительно определяли титр гетерофильных антител в сыворотке крови человека. Использовали инактивированную прогреванием при 56°C в течение 20 мин сыворотку крови человека с титром гетерофильных антител 1:512 для получения иммунного комплекса (эритроциты барана-антитела человека (EA_ч) в субагглютинирующей дозе). После 30 мин инкубации сформированный комплекс EA_ч отделяли центрифугированием, осадок 3 раза промывали 0,15 М раствором NaCl при центрифугировании и готовили 1% взвесь EA_ч.

Определение титра антител барана к IgG человека с использованием, приготовленного иммунного комплекса (EA_ч). Предварительно титровали препарат антител барана в 96-луночных круглодон-

ных иммунологических плашках, добавляли равный объем 1% суспензии EA_ч, тщательно перемешивали и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре.

После инкубации определяли конечное разведение антител барана, при котором наблюдается полная гемагглютинация. Данное разведение считается 1 гемагглютинирующей единицей (ГАЕ). В нашем случае 1 ГАЕ был титр равный 1:32400. Для реакции торможения гемагглютинации (РТГА) использовали разведение 1:8100 (4 ГАЕ) препарата антител против IgG человека.

Проведение РТГА. Предварительно титровали преципитаты иммунных комплексов, разведенных 1:99, на 12 лунок в 96-луночных круглодонных иммунологических плашках. В качестве стандарта титровали препарат IgG с исходной концентрацией 1 мг/мл. После титрования преципитатов и стандартного препарата IgG добавляли равный объем разбавленного раствора антител против IgG человека, содержащего 4 ГАЕ, т.е. препарат антител был разбавлен 1:8100. Тщательно перемешивали и добавляли равный объем 1% суспензии иммунных комплексов (EA_ч), повторно перемешивали и инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре.

После инкубации определяли для каждой пробы лунку, где наблюдалось торможение гемагглютинации. Расчеты проводили с использованием данных по торможению гемагглютинации стандартного раствора IgG человека. Полученные данные представлены в табл. 1.

Из данных, представленных в табл. 1, следует, что при концентрации 4,5% ПЭГ-3350 в сыворотке не наблюдается агрегации ни иммунных комплексов, содержащих множественно модифицированные липопротеины (ммЛПНП), ни нативных липопротеинов низкой плотности (ЛПНП). Показателем агрегации и преципитации, как иммунных комплексов, содержащих ммЛПНП, так и нативных ЛПНП, является содержание холестерина в преципитатах. Добавление ПВП-12600 в раствор сыворотки, содержащей 4,5% ПЭГ-3350, вызывает агрегацию иммунных

Таблица 1

Содержание холестерина, общего белка, IgG в преципитатах и степень связывания комплемента (ССК) иммунными комплексами, приготовленными из пулированной сыворотки крови доноров, в зависимости от концентрации ПВП-12600 при постоянной концентрации 4,5% ПЭГ-3350

| | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|------|------|------|-------|------|------|------|------|------|------|-----|
| Концентрация ПВП-12600, % | 0,3 | 0,7 | 1,0 | 1,3 | 1,8 | 2,0 | 2,3 | 2,7 | 3,0 | 3,3 | 0 |
| Холестерин, мг/дл | 1,1 | 1,3 | 2,0 | 5,3 | 7,1 | 8,5 | 10,2 | 15,7 | 20,4 | 24,2 | 0 |
| IgG мг/мл | 0,06 | 0,06 | 0,12 | 0,120 | 0,24 | 0,24 | 0,24 | 0,24 | 0,24 | 0,24 | 0 |
| Общий белок, мг/мл | 0,5 | 0,62 | 0,74 | 0,82 | 0,97 | 1,2 | 1,4 | 1,62 | 1,88 | 2,1 | 0,3 |
| ССК, % | 7 | 14 | 26 | 50 | 65 | 64 | 66 | 63 | 68 | 67 | 0 |

комплексов, содержащих ммЛПНП от 0,3% до 1,8%. Дальнейшее увеличение концентрации ПВП-12600 выше 1,8% в системе приводит к агрегации и преципитации нативных ЛПНП и ЛПОНП. Об этом свидетельствует отсутствие возрастания степени связывания комплемента преципитатами, полученными при концентрации ПВП-12600 свыше 1,8%. Сохранение степени связывания комплемента на уровне 65—68% и возрастание концентрации холестерина и общего белка в преципитатах при увеличении концентрации ПВП-12600 (более 1,8%) свидетельствует, с одной стороны, о полной агрегации иммунных комплексов, содержащих ммЛПНП, с другой стороны, об агрегации нативных ЛПНП и ЛПОНП, которые не обладают комплемент связывающей способностью.

Возрастание уровня общего белка также подтверждает агрегацию и преципитацию нативных ЛПНП и ЛПОНП. Наличие IgG в преципитатах, приготовленных в присутствии ПВП, свидетельствует об иммунных комплексах, содержащих ммЛПНП, так же как постоянный уровень IgG в преципитатах, полученных при концентрации ПВП 1,8% и выше, свидетельствует о специфической преципитации иммунных комплексов, содержащих ммЛПНП.

Таким образом, при постоянной концентрации ПЭГ 3350 (4,5%) и концентрациях ПВП-12600 в диапазоне от 0,3% до 1,8% наблюдается избирательная агрегация и преципитация иммунных комплексов, содержащих ммЛПНП, и не наблюдается агрегация и преципитация как нативных ЛПНП и ЛПОНП, так и свободных IgG.

Определение содержания холестерина в иммунных комплексах в сыворотке крови доноров и больных ишемической болезнью сердца

Приготовление преципитата сыворотки крови при условиях 1,8% ПВП-12600 и 4,5% ПЭГ-3350. К 50 мкл сыворотки крови больных ишемической болезнью сердца (ИБС) и относительно здоровых доноров добавляли 60 мкл буфера-1 и инкубировали 10 мин при 23°C. Образовавшиеся агрегаты иммунных комплексов осаждали центрифугированием при 23°C в течение 5 мин при 3100g. Супернатант декантировали и осадок растворяли в 50 мкл буфера-2. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Как видно из данных, представленных в табл. 2, в группе относительно здоровых доноров в трех пробах содержание ХИК было заметно выше, чем в остальных пробах этой контрольной группы. Полученные данные о повышенном уровне ХИК у трех доноров, возможно, свидетельствуют о субклинической стадии атеросклероза. При исключении данных доноров из группы контроля по ХИК, средний уровень ХИК составляет $7,07 \pm 1,15$, при колебании от 5,9 до 8,3 мг/дл. Следовательно, уровень ХИК до 8,3 мг/дл можно предварительно считать нормальным уровнем у здоровых людей. В группе больных ИБС в 100% случаев определяется повышенный уровень ХИК, и колебания составили от 11,7 до 40,3 мг/дл.

Ранее нами был разработан способ определения множественно модифицированных липопротеинов (ммЛПНП) и проведено исследование 750 относи-

Таблица 2

Содержание холестерина в иммунных комплексах (ХИК) в сыворотке крови доноров и больных ИБС

| Доноры | ХИК, мг/дл | Больные ИБС | ХИК, мг/дл |
|--------|-------------|-------------|--------------|
| 1 | 5,2 | 1 | 12,6 |
| 2 | 7,4 | 2 | 14,2 |
| 3 | 6,8 | 3 | 11,7 |
| 4 | 6,5 | 4 | 17,4 |
| 5 | 7,8 | 5 | 22,3 |
| 6 | 8,2 | 6 | 14,8 |
| 7 | 6,8 | 7 | 16,3 |
| 8 | 17,8 | 8 | 13,7 |
| 9 | 9,2 | 9 | 13,4 |
| 10 | 6,7 | 10 | 12,2 |
| 11 | 15,3 | 11 | 24,8 |
| 12 | 8,3 | 12 | 40,3 |
| 13 | 17,5 | 13 | 16,5 |
| 14 | 5,9 | 14 | 22,4 |
| 15 | 6 | 15 | 18,2 |
| M ± m | 9,03 ± 4,21 | M ± m | 18,05 ± 7,34 |

тельно здоровых людей [3]. У 38% обследованных был выявлен повышенный уровень ммЛПНП. Учитывая то, что у 50% людей атеросклероз развивается при нормальных показателях липидов (общий холестерин, холестерин ЛПНП и триглицериды) [9], нами были отобраны лица молодого возраста (до 40 лет) с нормальным уровнем холестерина и триглицеридов для инструментального подтверждения атеросклероза методом ультразвукографии в В-режиме толщины интимо-медиаляного слоя сонных артерий. Полученные результаты свидетельствовали о том, что только у 60% лиц с повышенным уровнем ммЛПНП наблюдалось утолщение интимо-медиаляного слоя сонных артерий, в то время как у 40% отсутствовали такие изменения. Отсутствие изменений со стороны сонных артерий при повышенном уровне ммЛПНП, возможно, было обусловлено антиатерогенным эффектом аутоиммунной реакции организма данных пациентов.

Для оценки аутоиммунной реакции организма человека на ммЛПНП нами был модифицирован способ определения циркулирующих иммунных комплексов, разработанный ранее [4]. Суть модификации заключается в комбинированном использовании ПЭГ-3350 и ПВП-12600. При увеличении концентрации ПВП-12600 до 1,8% в присутствии 4,5% ПЭГ-3350 в пулированной сыворотке крови здоровых доноров наблюдается агрегация ЦИК, содержащих оЛПНП. При концентрации ПВП-12600 выше 1,8% начинается агрегация нативных ЛПНП, о чем свидетельствовали увеличение содержания холестерина в ПЭГ/ПВП-преципитате при постоянной комплемент связывающей активности его. Таким образом, использование 1,8% ПВП, с одной стороны, позволило снизить концентрацию ПЭГ-3350 с 5% до 4,5% в преципитационной пробе. С другой стороны, при данных условиях наблюдается агрегация ЦИК, содержащих оЛПНП, в сыворотке здоровых доноров. Учитывая наличие сквенджер-рецепторов и аутоантител к оЛПНП у здоровых людей, можно считать, что выявление ЦИК, содержащих оЛПНП, является вполне логичным и свидетельствует о высокой чувствительности метода.

В известных методах преципитации ЦИК, содержащих оЛПНП, используют разные концентрации или ПЭГ-6000 (от 2,5% до 4%), или ПЭГ-8000 (3,5%), что свидетельствует о проблеме полноты осаждения циркулирующих иммунных комплексов. Контроль полноты осаждения данных комплексов с одновременным использованием теста потребления комплемента и уровня холестерина в ПЭГ/ПВП-преципитатах позволил нам подобрать оптимальные концентрации реагентов в преципитационной пробе. При этом для определения холестерина в преципитате был

использован стандартный ферментный набор, используемый в лабораторной диагностике.

Использование смеси ПЭГ-3350 и ПВП-12600 позволило также сократить до 10 мин инкубацию (23°C) преципитационной пробы, что существенно сократило время всей процедуры анализа. Агрегация ЦИК, содержащих оЛПНП, в течение 10 мин при 23°C свидетельствует о достаточно специфической агрегации ЦИК. Так, при увеличении времени инкубации до 24 ч нами не было отмечено дополнительной преципитации как белков сыворотки, так и нативных липопротеинов низкой плотности в ПЭГ/ПВП-преципитате. Кроме того, инкубация опытной преципитационной пробы при 23°C полностью исключает преципитацию криоглобулинов, которая наблюдается при 4°C, и исключает необходимость дополнительной стадии аффинной хроматографии или гель-фильтрации. Комплемент-связывающая активность и присутствие IgG в ПЭГ/ПВП-преципитате подтверждает осаждение циркулирующих иммунных комплексов, содержащих оЛПНП.

Таким образом, способ позволяет повысить точность количественного определения холестерина в циркулирующих иммунных комплексах сыворотки крови человека. Выявление повышенного уровня ХИК при широких скрининговых обследованиях может быть предиктором атеросклероза на доклинической стадии. Доступность реагентов и простота способа определения ХИК в лабораторной практике позволит изучать патогенез атеросклероза и контролировать эффективность проводимой терапии. Дальнейшие исследования циркулирующих иммунных комплексов, содержащих ммЛПНП, позволят прогнозировать индивидуальное течение атеросклеротического процесса у пациента в зависимости от степени активации системы комплемента этими комплексами на доклинической стадии заболевания.

Список литературы

1. *Меньшиков В.В., Делеторская Л.Н., Золотницкая Р.П.* и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
2. *Тертов В.В., Качарава А.Г., Саядян Х.С.* и др. Холестерин содержащие циркулирующие иммунные комплексы — компонент сыворотки крови больных с ишемической болезнью сердца, обуславливающий её атерогенность // Кардиология. — 1989. — Т. 29, №8. — С. 35—38.
3. *Шойбонов Б.Б.* Экспресс-определение модифицированных липопротеинов // Кардиология Беларуси. — 2011. — Т. 5, №18. — С. 49—50.
4. *Шойбонов Б.Б., Борголов В.М., Баронец В.Ю.* и др. Тест-система определения циркулирующих иммунных комплексов // Патент РФ №2452962 от 10.06.2012 г.
5. *Шойбонов Б.Б., Борголов В.М., Баронец В.Ю., Панченко Л.Ф., Кубатиев А.А.* Экспресс-способ опреде-

ления холестерина в иммунных комплексах // Заявка на изобретения №2012155495 от 20.12.2012 г.

6. **Ameli S., Hultgardh-Nilsson A., Regnstrom J., Calara F.** et al. Effect of immunization with homologous LDL and oxidized LDL on early atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 1996. — Vol. 16. — P. 1074–1079.

7. **Braunwald E.** Shattuck lecture — cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities // *N. Engl. J. Med.* — 1997. — Vol. 337. — P. 1360–1369.

8. **Burut D.F.P., Karim Y., Ferns G.A.A.** The Role of Immune Complexes in Atherosclerosis // *Angiology.* — 2010. — Vol. 61, №7. — P. 679–689.

9. **Crundy S.M.** Role of low-density lipoproteins in atherogenesis and development of coronary heart disease // *Clin. Chem.* — 1995. — Vol. 41. — P. 139–146.

10. **Lopes-Virella M.F., Brent McHenry M., Lipsitz S.** et al. Immune complexes containing modified lipoproteins are related to the progression of internal carotid intima-media thickness in patients with type 1 diabetes // *Atherosclerosis.* — 2007. — Vol. 190. — P. 359–369.

11. **Schumacher M., Eber B., Tatzber F.** et al. Transient reduction of autoantibodies against oxidized LDL in patients

with acute myocardial infarction // *Free Radic. Biol. Med.* — 1995. — Vol. 18. — P. 1087–1091.

12. **Szondy E., Mezey Z., Fust G.** et al. Serial measurement of circulating immune complexes in myocardial infarction // *Br. Heart J.* — 1981. — Vol. 46. — P. 93–98.

13. **Uusitupa M.I., Nishanen L., Luoma J.** et al. Autoantibodies against oxidized LDL do not predict atherosclerotic vascular disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 1996. — Vol. 16. — P. 1236–1242.

14. **Vaarala O.** Antibodies to oxidised LDL // *Lupus.* — 2000. — Vol. 9. — P. 202–205.

15. **Virella G., Carter R.E., Saad A.** et al. Distribution of IgM and IgG antibodies to oxidised LDL in immune complexes isolated from patients with type 1 diabetes and its relationship with nephropathy // *Clin. Immunol.* — 2008. — Vol. 127, №3. — P. 394–400.

16. **Willerson J.T., Ridker P.M.** Inflammation as a cardiovascular risk factor // *Circulation.* — 2004. — Vol. 109 (Suppl. 1). — P. II2–II10.

Поступила 20.03.13

Сведения об авторах:

Баронец Валерия Юрьевна, старш. науч. сотр. лаб. биохимии ФГБУ НИЦ наркологии Минздрава России, науч. сотр. лаб. физиологии мотиваций ФГБУ НИИИФ им. П.К. Анохина

Панченко Леонид Федорович, д.м.н., проф., акад. РАМН, зав. лаб. биохимии ФГБУ НИИОПП РАМН

Кубатиев Аслан Амирханович, д.м.н., проф., акад. РАМН, дир. ФГБУ НИИОПП РАМН