

Circulating Oxidized LDL and Conventional Biomarkers
of Cardiovascular Disease in a Cohort of Navajo
Community Members

*Окисленные липопротеины низкой плотности
(ЛНП) в крови и обычные био-маркеры сердечно-
сосудистых заболеваний у населения Навахо*

Molly E. Harmon
University of New Mexico

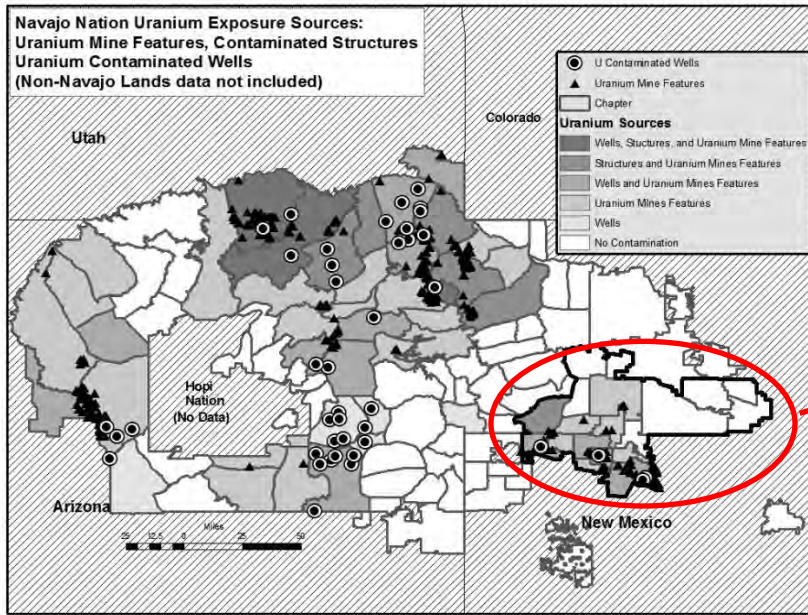
November 20, 2014

A link between uranium mining and cardiovascular disease

Связь между добычей урана и сердечно-сосудистыми заболеваниями

DiNEH Project Study Area

Регион, который был исследован



Major Contaminants

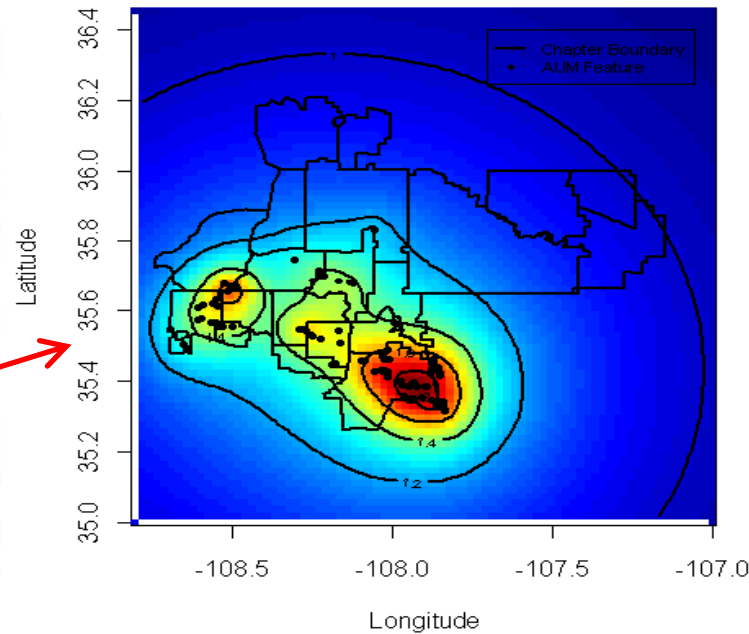
Uranium Arsenic

Основные загрязняющие вещества

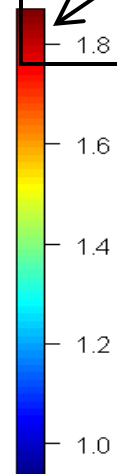
Уран Мышьяк

Eastern Agency

Восточный регион



Risk for HTN doubles
 Удваивается риск



● AUM Features

Risk gradient for hypertension as a function of proximity to abandoned uranium mines

Риск гипертонии в зависимости от близости к заброшенным урановым рудникам

Cardiovascular and Metabolic disease in the Navajo Nation

Сердечно-сосудистые и метаболические заболевания у навахо

- Increasing prevalence in recent decades Увеличение распространенности в последние десятилетия (Hoy et al, 1995; Mendlein et al, 1997; Percy et al, 1997; Will et al, 1997; White et al, 1997; Lombard et al, 2006)
- Leading cause of non-accidental death Главная причина смерти, не связанная с несчастным случаем (Mendlein et al, 1997)
- Navajo Health and Nutrition Survey Опрос населения навахо о здоровье и питании (Mendlein et al, 1997; Percy et al, 1997; Will et al, 1997; White et al, 1997)
- Strong Heart Study Исследование сердца (Howard et al, 1999)
- Type 2 Diabetes-1930s: 1 in 6,000; 1990s: 4x rate of U.S. estimate
Диабет 2 типа в 1930-х годах: 1 на 6000; в 1990-х на 4 чаще, чем во всех США (Salsbury CG, 1937; Will et al, 1997)

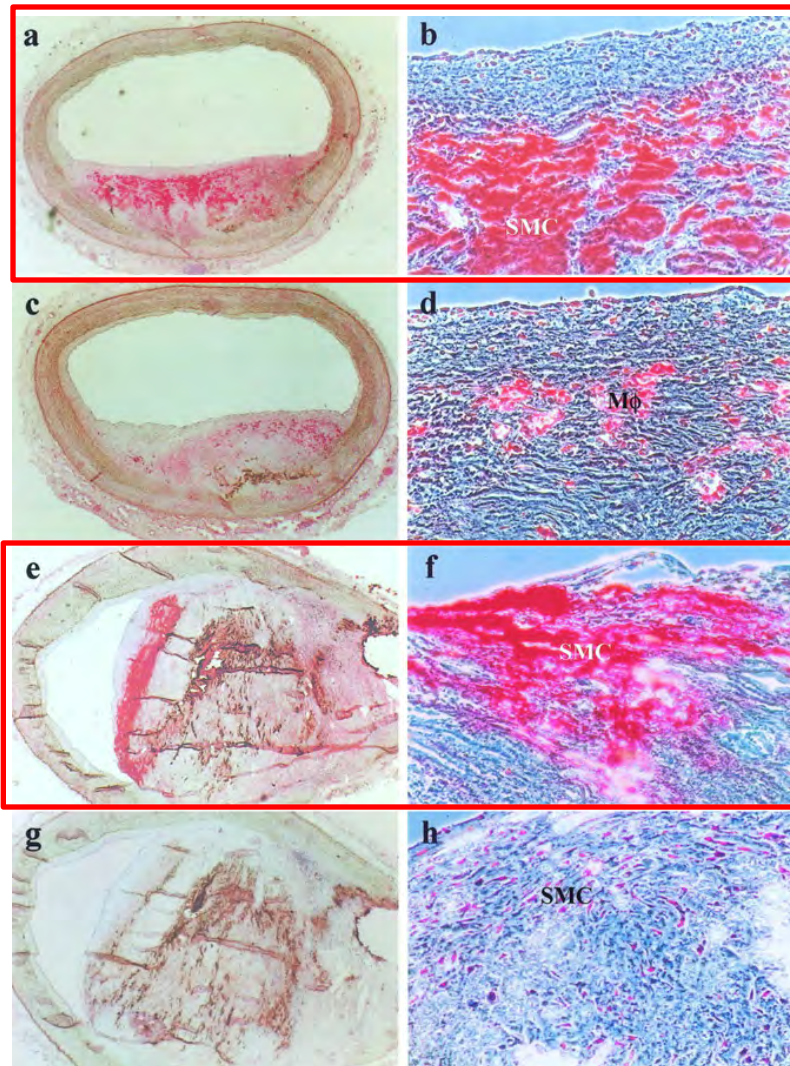
Conventional and Novel CVD Biomarkers

Обычные и новые биомаркеры сердечно-сосудистых заболеваний

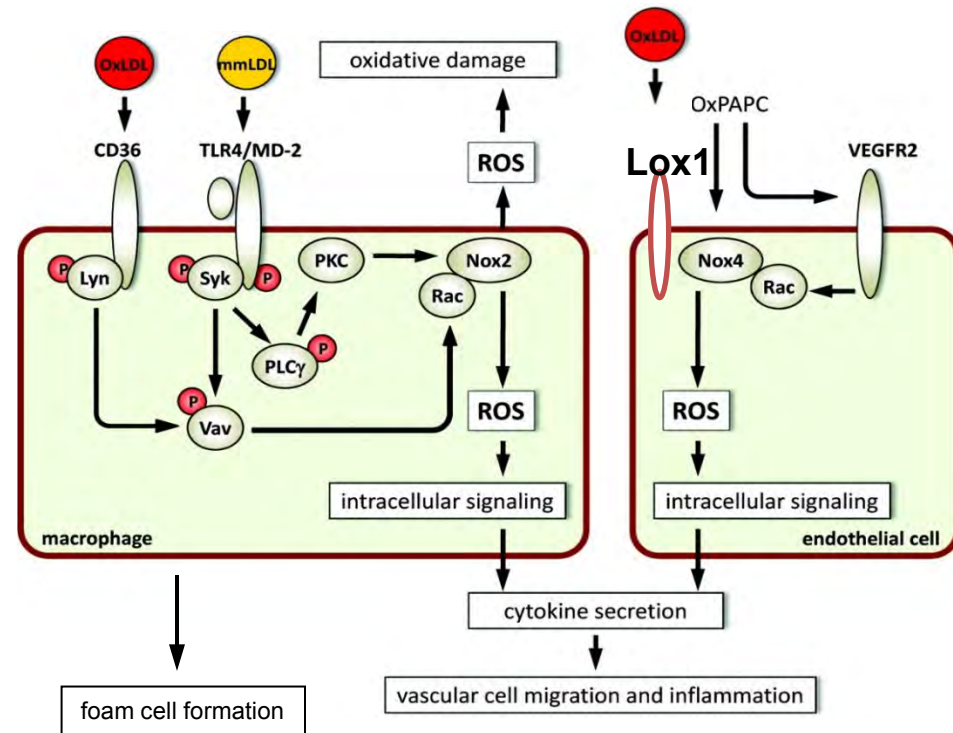
- CRP, IL6, **oxLDL** С-реактивные белки, интерлейкин-6, Уровни окисленных липопротеинов низкой плотности (ОЛНП)
- OxLDL may improve risk prediction and reclassification ОЛНП
может улучшить прогноз рисков и реклассификации

OxLDL is involved in the pathogenesis of atherosclerosis

ОЛНП участвует в патогенезе атеросклероза



Red = mAb specific for oxLDL



Oxidizing agents **Окислители:**
 Cellular enzymes **Энзимы в клетке**
 ROS **Реактивные формы кислорода**
 NOS **Синтазы оксида азота**
Metal ions (Cu) Ионы металлов (Cu)

Мышьяк, сердечно-сосудистые заболевания и ОЛНП

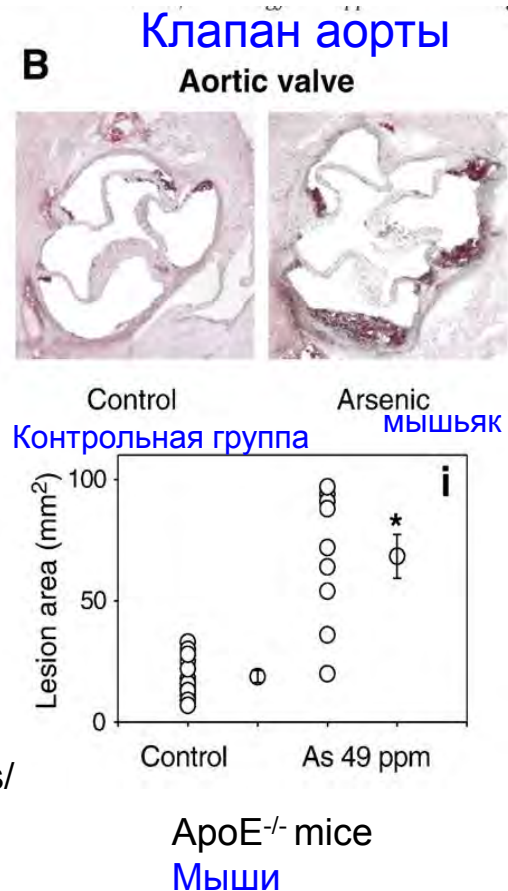
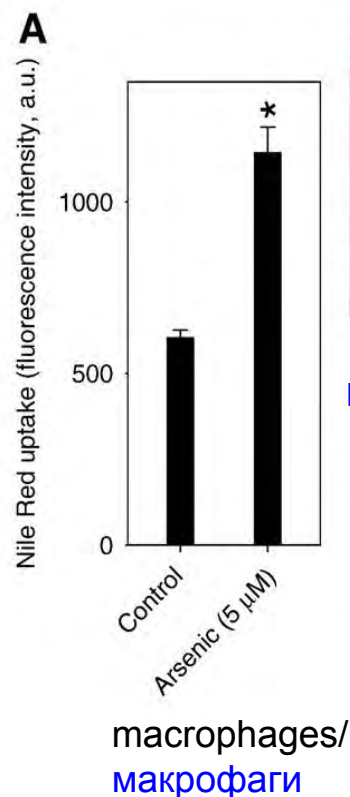
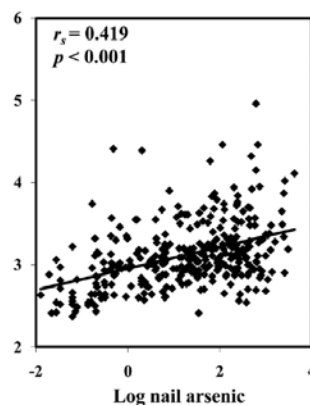
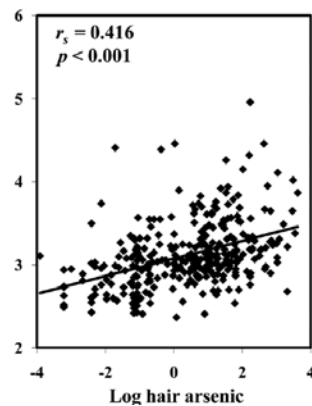
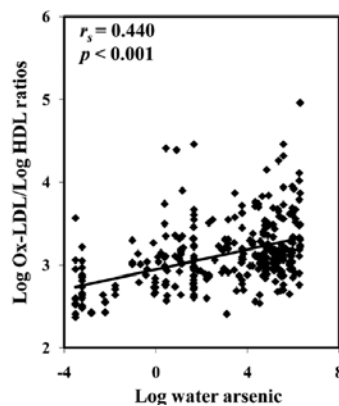
Epidemiology: Well-established link between CVD and arsenic.

Эпидемиология: прочно установившаяся связь между сердечно-сосудистыми заболеваниями и мышьяком

Chen et al., 1996; Rahman et al., 1999; Wang et al., 2002; Tseng et al., 2003; Chen et al., 2007; Meliker et al., 2007; Tseng et al., 2008; Navas-Acien et al., 2009; Wang et al., 2009; Cheng et al., 2010; Medrano et al., 2010; Chen et al., 2011...

Bangladesh Study/Исследование в Бангладеш

Parameters	Nonendemic	Arsenic-endemic	<i>p</i>
TG (mg/dl)	103.6 ± 47	98.3 ± 39.3	0.312
TC (mg/dl)	147.3 ± 35.2	127.2 ± 32.1	<0.001
LDL (mg/dl)	88.7 ± 31.9	73.6 ± 31.1	<0.001
HDL (mg/dl)	42.9 ± 14.1	30.9 ± 10.1	<0.001
Ox-LDL (U/l)	39.7 ± 11	51.5 ± 19.6	<0.001
CRP (mg/l)	0.78 ± 0.88	1.92 ± 2.47 ^a	<0.001
ICAM-1 (ng/ml)	371.4 ± 112.2	529.3 ± 154.3	<0.001
VCAM-1 (ng/ml)	420.3 ± 129.9 ^b	606 ± 222.7	<0.001



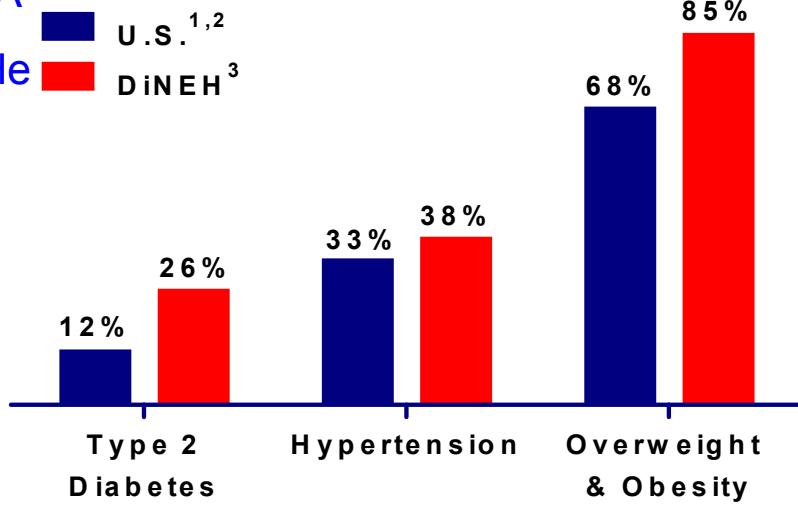
Navajo Cohort CVD Risk Factors

Факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний у Навахо

Prevalences of CVD Related Health Conditions

Распространенность сердечно-сосудистых заболеваний, связанных с состоянием здоровья

США
Дине

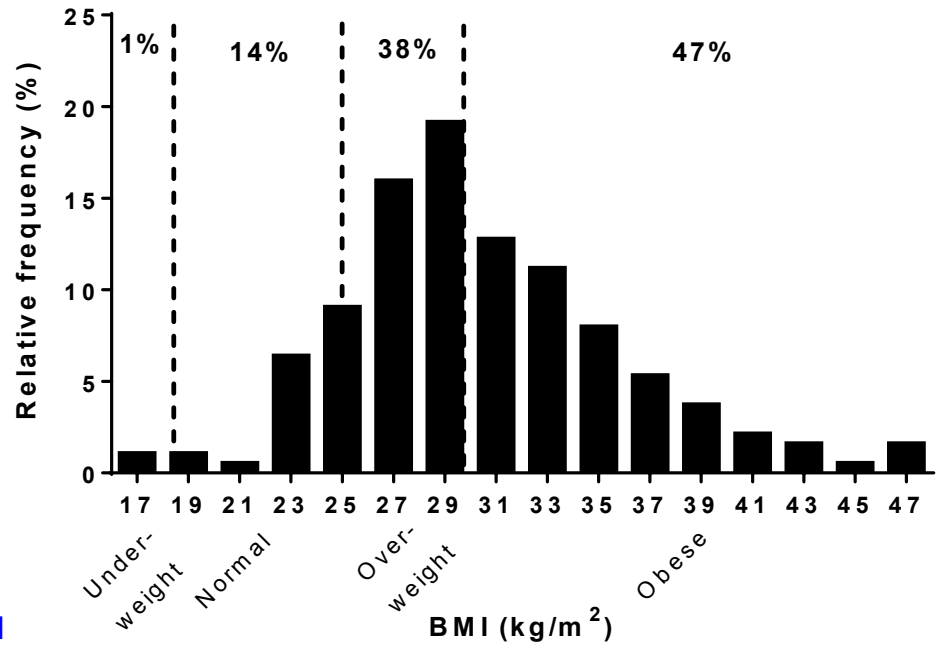


Диабет 2 типа

Гипертензия

Лишний вес и ожирение

BMI Distribution/Распределение индекса массы тела



Недостаток веса

Нормальный вес

Лишний вес

Ожирение

¹ CDC, 2014; ²Go et al, Circ., 2014; ³Self-report

Demographic and Clinical Characteristics of the DiNEH Cohort

Демографические и клинические характеристики участников проекта ДиНЕ

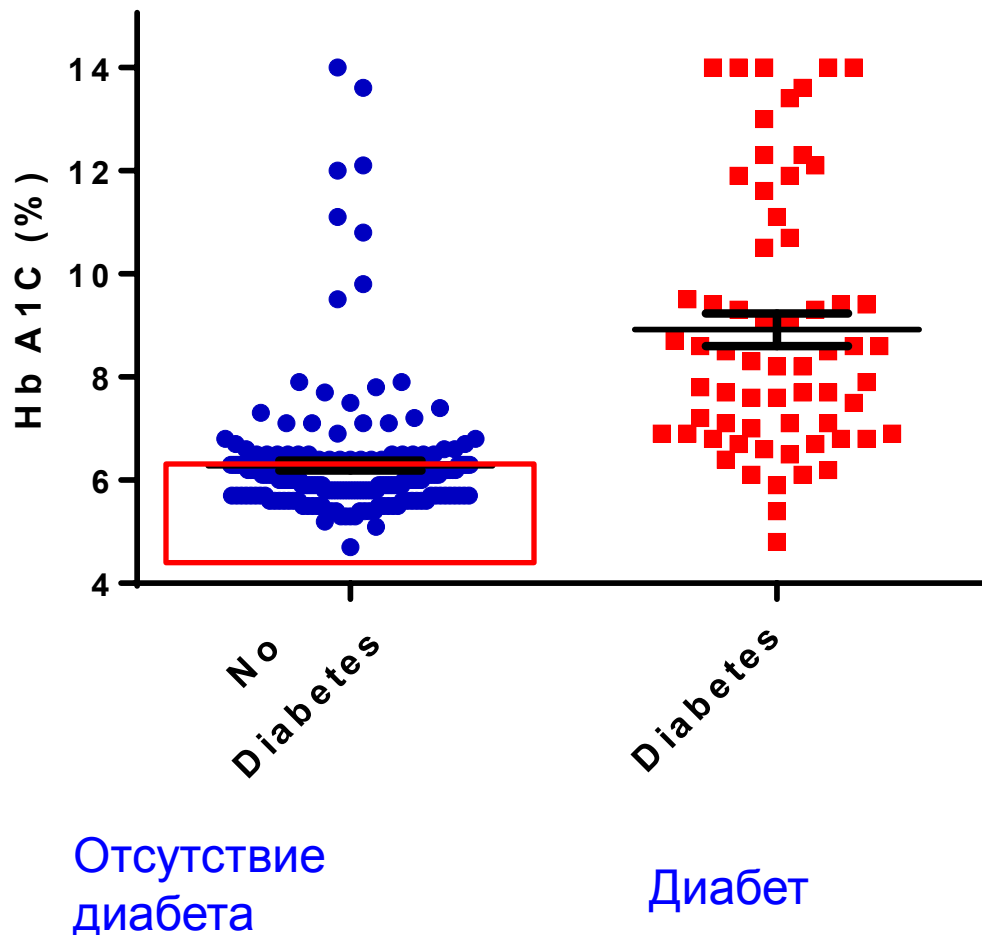
Characteristics of Study Participants Характеристики участников исследования		n
Age, years Возраст, лет	55.3 ± 14.3	252
Women, % Женщины, %	57.5	252
Total Cholesterol, mg/dL Общий холестерин мг/дл	186 ± 35.2	217
LDL, mg/dL (Direct) ЛПНП, мг/дл (прямой)	107.9 ± 31.8	211
HDL, mg/dL ЛПВП, мг/дл	48.1 ± 15.9	217
Triglycerides, mg/dL Триглицериды, мг/дл	209.6 ± 130.2	217
Glucose (non-fasting), mg/dL Глюкоза (не натощак), мг/дл	124.3 ± 82.4	249
HbA1c, % Гемоглобин А1с, %	7.0 ± 2.1	249
Normal (<5.6%), % В норме (<5.6%)	15.7	
Pre-diabetes (5.7-6.4%), % Преддиабет	45.8	
Diabetes (>6.5%), % Диабет	38.6	
CRP, mg/L С-реактивный белок, мг/л	4.3 ± 9.6	249
oxLDL, U/L ОЛНП, ед/л	48.5 ± 17.0	252

Clinical HbA1C vs Self-Report of Type 2 Diabetes

Клинический гемоглобин A1c в противопоставлении с собственным сообщением о диабете 2 типа

HbA1c Classification
Классификация
гемоглобина A1c

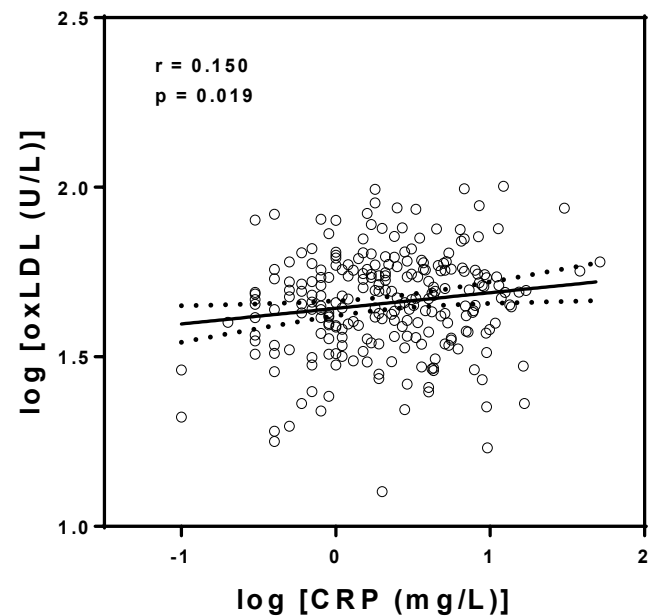
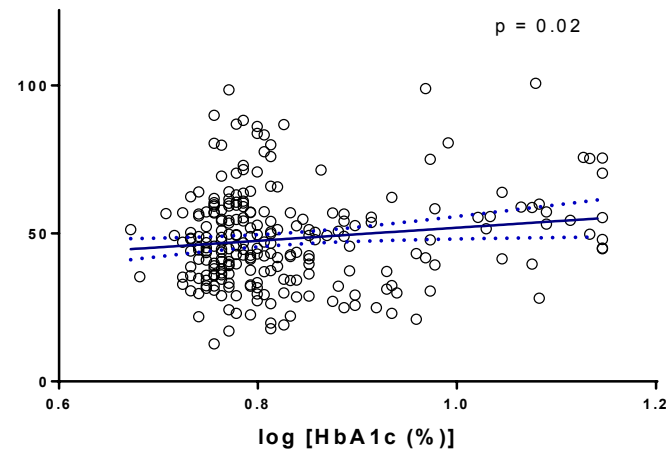
Normal **В норме**: <5.6%
Pre-diabetes
Преддиабет: 5.7-6.4%
Diabetes **Диабет**: >6.5%



OxLDL Interactions

Взаимосвязь ОЛНП

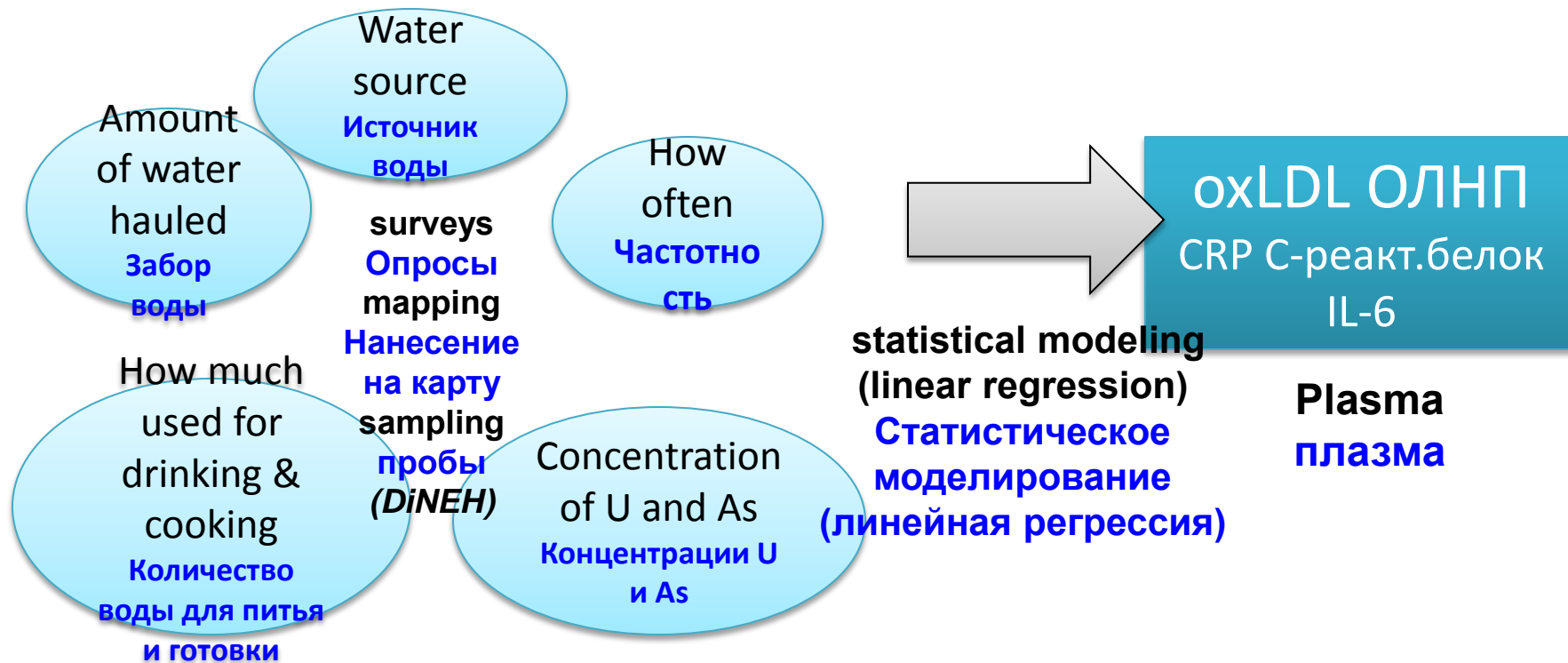
Factor	log sLOX1		log oxLDL		log oxLDL/LDL		oxLDL/HDL	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Age (yrs) Возраст, лет	-0.133	0.035	-0.070	0.268	-0.065	0.350	-0.135	0.046
Glucose (mg/dl) Глюкоза мг/дл	0.044	0.487	0.187	0.003	0.193	0.005	0.229	0.001
log HbA1c (%)	0.001	0.981	0.144	0.023	0.179	0.010	0.172	0.011
SBP (mmHg)	-0.209	0.001	0.099	0.119	0.014	0.837	0.116	0.090
DBP (mmHg)	-0.123	0.053	0.177	0.005	0.067	0.337	0.216	0.002
log IL6 (pg/ml)	0.132	0.036	-0.163	0.009	-0.076	0.272	-0.121	0.077
log CRP (mg/L)	0.079	0.212	0.146	0.021	0.147	0.034	0.167	0.015
log sLOX1 (pg/ml)			-0.031	0.625	0.213	0.002	0.068	0.322
log oxLDL (U/L)	-0.031	0.625						
log oxLDL/LDL	0.213	0.002	0.523	<0.0001				
oxLDL/HDL	0.068	0.322	0.829	<0.0001	0.569	<0.0001		



Is there a link between arsenic and uranium and oxLDL? **Существует ли связь между мышьяком, ураном и ОЛНП?**

Environmental exposure to heavy metal contaminants may promote or exacerbate cardiovascular disease *through the oxidation of circulating LDL cholesterol*

Воздействие загрязняющих веществ тяжелых металлов на окружающую среду может способствовать или увеличивать сердечно-сосудистые заболевания посредством окисления циркулирующего холестерина ЛПНП



Bayesian analysis was used to determine if the average annual intake of arsenic/uranium was a predictor of the level of oxLDL **Байесовский анализ был использован, чтобы определить, является ли среднегодовое потребление мышьяка/урана прогностическим фактором уровня ОЛНП**

Population-level association between toxic metal exposure and LDL oxidation
 Связь между воздействием токсических металлов и окислением ЛПНП и численностью популяции

FINAL REGRESSION MODEL	Estimate	Standard Error	t value	P value
Конечная модель регрессии	Значение	Типичная ошибка	коэффициент	коэффициент
(Intercept Интерсепт)	3.8041	0.0227	167.7919	0.0000
Уран (интерсепт) Uranium	0.0063	0.0030	2.0861	0.0380
(Intercept)	3.7969	0.0228	166.2948	0.0000
Мышьяк (высокий) Arsenic (high)	0.2192	0.0780	2.8090	0.0054

Уран
(интерсепт)

Мышьяк
(высокий)

- Average annual intake of uranium, as a continuous variable, is weakly associated with oxLDL. Среднегодовое потребление урана, как непрерывная переменная, слабо связано с ОЛНП
- “High” average annual intake of arsenic is a significant predictor of oxLDL
«Высокое» среднегодовое потребление мышьяка является существенным прогностическим фактором ОЛНП

Arsenic and uranium may directly oxidize human LDL Мышьяк и уран могут непосредственно окислять ЛПНП человека

LDL only Только ЛПНП

(-) control (контр. группа)

Plasma: 100 mg/dl

Плазма: 100 мг/дл

Metals

Металлы

Copper Sulfate (сульфат меди)

(+) control (контр. группа)

15 μM -450 μM

Buffer: PBS

Plasma: \sim 4-24 μM

Sodium Arsenite (арсенит натрия)

0.02-0.7 μM

Buffer: PBS

Plasma: \sim 0-0.1 μM

and/or

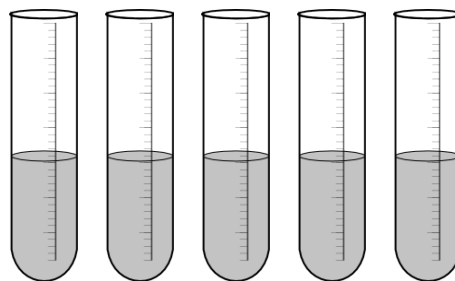
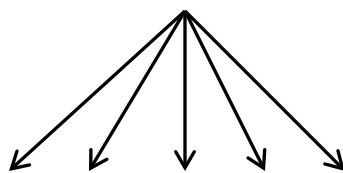
Uranyl Acetate (ацетат уранила)

0.3-300 nM

Buffer: HEPES

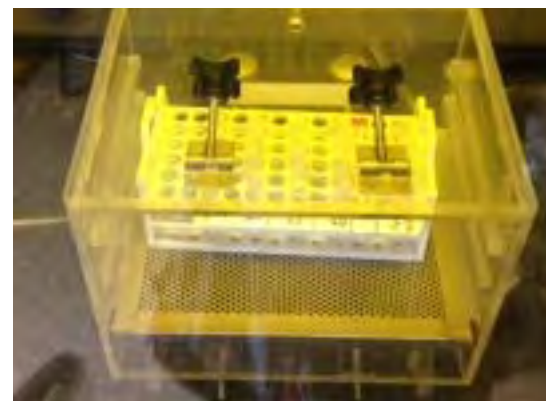
Plasma: \sim 0.009-0.3 nM

Human LDL + metal + buffer
ЛПНП чел.+металл+буффер



1 2 3 4 5hr

Nitrogen chamber
Азотная камера



Incubate 37°C, up to 5 hours
Инкубируется при 37°C, до 5 ч.



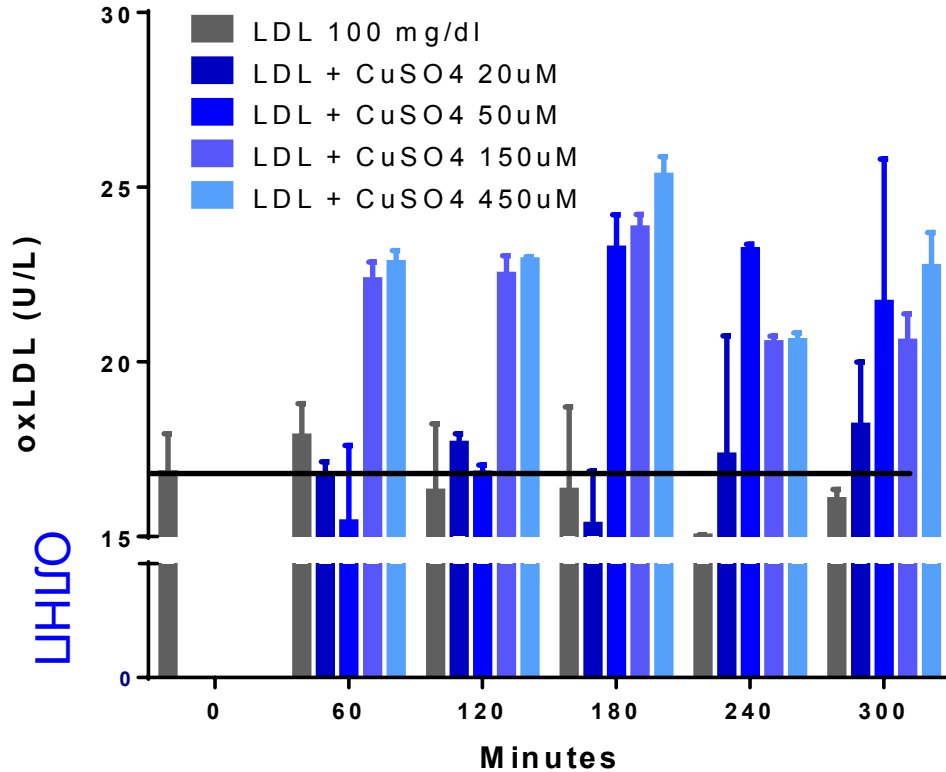
Stop
reaction:
EDTA

Measure oxLDL

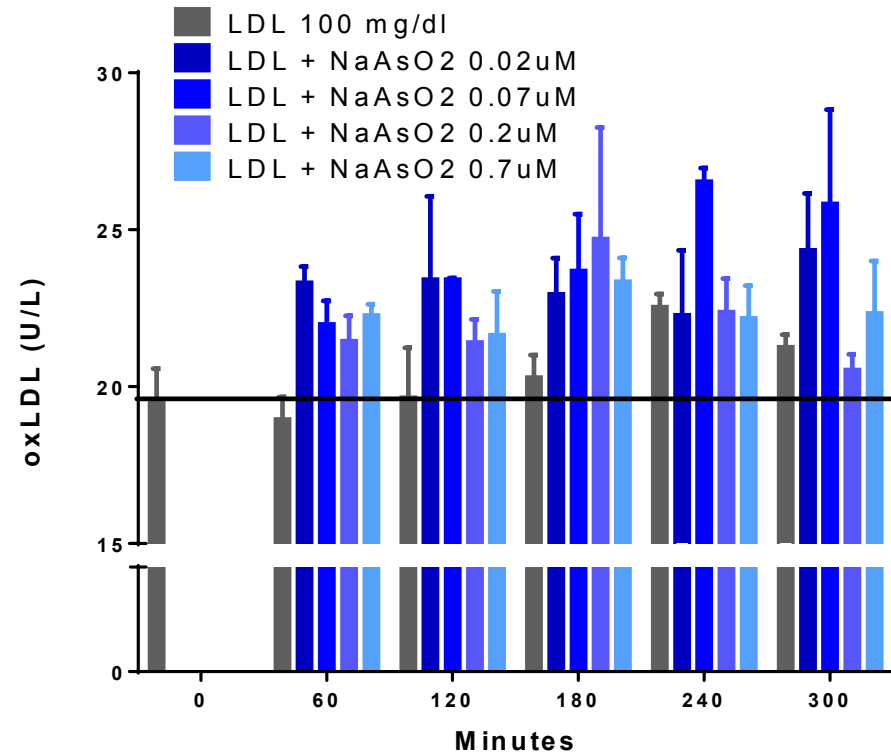
Измерение ОЛНП

- ELISA (protein) ИФА
- TBARS (lipid) Побочные продукты (липид)

Arsenic directly oxidizes LDL Мышьяк непосредственно окисляет ЛПНП



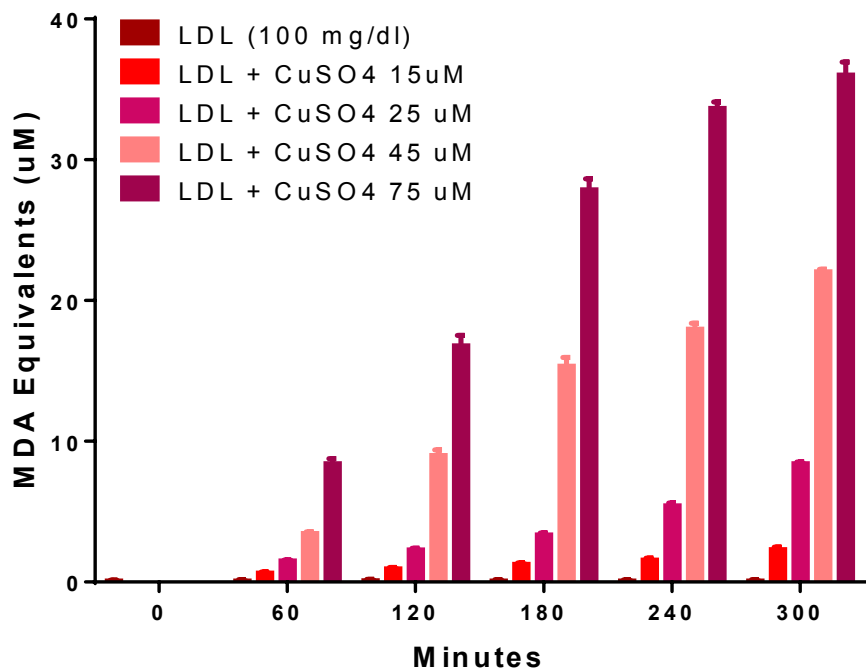
Copper (control) медь (контр.гр.)



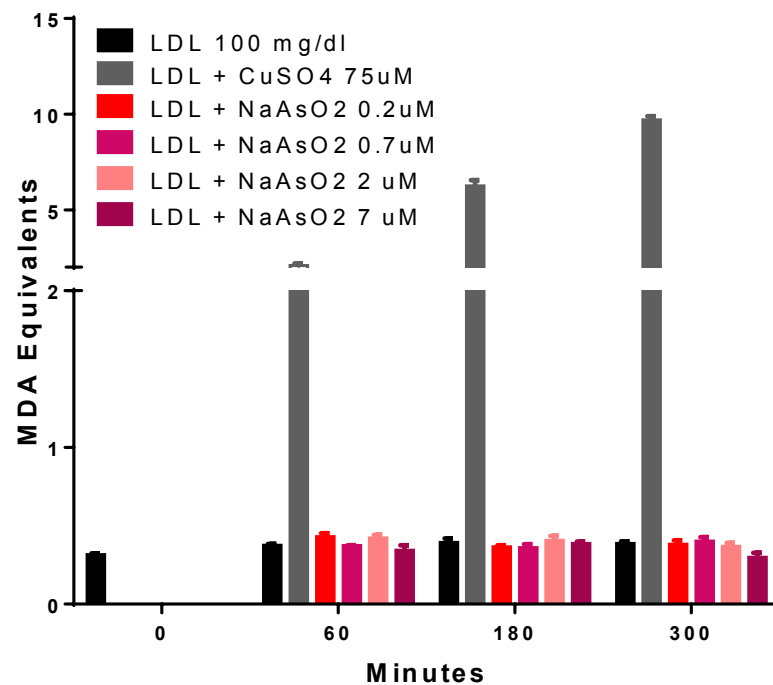
Arsenic Мышьяк

Arsenic does not appear to be involved in the lipid oxidation of human LDL

Мышьяк, кажется, не связан с окислением липидов человеческого ЛПНП



Copper (control) Медь (контроль)



Arsenic Мышьяк

TBARS Assay (побочные продукты)

Acknowledgements

Committee Members

Mentor: Matthew Campen, PhD

CoMentor: Johnnye Lewis, PhD

Melissa Gonzales, PhD

Laurie Hudson, PhD

Campen Lab

Current:

Selita Lucas

Mario Aragon

Heidi Cung

Guy Herbert

Katherine Zychowski, PhD

Former:

Michael Paffett, PhD

Meghan Channell

Hudson Lab

Karen Cooper, PhD

Благодарности

DiNEH Project

Lewis Lab

Curtis Miller, PhD

Bernadette Pacheco

Miranda Cajero

Southwest Research and Information Center

Chris Shuey, MPH

Sandy Ramone

Teddy Nez

Navajo Nation

Funding

Cardiovascular Training Grant, US

EPA STAR Award #R83399001-0,

NIEHS P30 ES-012072, R25

ES013208, & R01 ES014565 and

M01-RR-00997