

И.А. Собенин<sup>2</sup>, В.П. Карагодин<sup>1</sup>, А.А. Мельниченко<sup>1</sup>, А.Н. Орехов<sup>1,2</sup>

## Холестерин циркулирующих иммунных комплексов как индикатор атеросклероза

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт атеросклероза Российской Академии естественных наук, 143025, Москва, Инновационный Центр Сколково, ул. Новая, д.100

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

*Изучена диагностическая и прогностическая значимость иммунного холестерина у 98 мужчин в возрасте 40–74 лет с ранним бессимптомным атеросклерозом сонных артерий. Прогрессирование атеросклероза оценивали по изменению толщины интимо-медиаляльного слоя (ИМС) сонных артерий с помощью ультрасонографии высокого разрешения в В-режиме. У пациентов с повышенным уровнем иммунного холестерина толщина ИМС сонных артерий была достоверно увеличена. Из всех изученных липидных параметров только иммунный холестерин и холестерин липопротеидов низкой плотности (ЛНП) были достоверно сопряжены со степенью выраженности атеросклероза. Исходная толщина ИМС составляла  $0,939 \pm 0,015$  мм. Динамика изменений толщины ИМС характеризовалась медленным увеличением со скоростью  $0,029 \pm 0,011$  мм за 2 года наблюдения ( $p=0,028$ ). Достоверное увеличение толщины ИМС было отмечено у 53,1% больных, и у 21,4% наблюдалась спонтанная регрессия поражений. Повышенный уровень иммунного холестерина, наряду с повышенным уровнем общего холестерина и холестерина ЛНП, имел прогностическую значимость в отношении прогрессирования каротидного атеросклероза. Нормальный уровень иммунного холестерина (ниже 16 мкг/мл) был единственным липидным параметром, предвещающим отсутствие прогрессирования каротидного атеросклероза в течение 2 лет с прогностической значимостью 78,3%. Результаты данного исследования показывают, что содержание иммунного холестерина в крови не только является маркером раннего атеросклероза, но также имеет высокую прогностическую ценность.*

**Ключевые слова:** атеросклероз; липопротеиды низкой плотности; циркулирующие иммунные комплексы; ультразвуковая диагностика; толщина интимо-медиаляльного слоя

I.A. Sobenin<sup>2</sup>, V.P. Karagodin<sup>1</sup>, A.A. Melnichenko<sup>1</sup>, A.N. Orekhov<sup>1,2</sup>

## Cholesterol of circulating immune complexes as an atherosclerosis indicator

<sup>1</sup> Institute for Atherosclerosis Research, Russian Academy of Natural Sciences, Institute for Atherosclerosis Research, Skolkovo Innovative Center, 143025, 100 Novaya Str., Moscow, Russia

<sup>2</sup> Institute for General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

*In the present 2-years prospective study, the diagnostic and prognostic significance of immune cholesterol was assessed in 98 asymptomatic men aged 40–74 with early atherosclerosis. The rate of carotid atherosclerosis progression was estimated by high-resolution B-mode ultrasonography as the increase in carotid intima-media thickness (IMT) of common carotid arteries. The patients with elevated baseline levels of immune cholesterol were characterized by significantly higher levels of total and LDL (low density lipoproteins) cholesterol as well as significantly increased mean IMT of common carotid arteries. Among all baseline lipid parameters, only immune cholesterol and LDL cholesterol were contingent with the extent of early carotid atherosclerosis ( $p=0.042$  and  $p=0.049$ , respectively) and had the highest levels of relative risk and odds ratio. Carotid atherosclerosis progression was characterized by slow IMT increase at a rate of  $0.029 \pm 0.011$  mm per two years over the mean baseline IMT of  $0.939 \pm 0.015$  mm ( $p=0.028$ ). A significant IMT increase was registered in 53.1% ( $n=52$ ) patients, IMT significant reduction was observed in 21.4% ( $n=21$ ) patients. The increased level of immune cholesterol along with total serum cholesterol and LDL cholesterol had rather high prognostic significance with the respect of atherosclerosis progression. The normal level of immune cholesterol (below than 16.0 mg/ml) was the only lipid parameter that predicted the absence of carotid atherosclerosis progression for two following years at prognostic value of 78.3%. The results of the study allow assuming that immune cholesterol level may be employed not only as a marker of early atherosclerosis, but also has a sufficient prognostic value for clinical implications.*

**Key words:** atherosclerosis, low density lipoproteins, circulating immune complexes, ultrasonography, intima-media thickness

**Для корреспонденции:** Карагодин Василий Петрович, канд. биол. наук, доцент «НИИ атеросклероза» РАЕН.  
E-mail: vpk@mail.ru

## Методика

Атеросклероз в настоящее время является наиболее распространенным и социально значимым заболеванием в индустриальных странах, и его клинические проявления занимают до 65% в структуре общей смертности.

В развитие атеросклероза вносят вклад не только различные нарушения липидного обмена, регуляции свертывающей системы крови, метаболизма сосудистой стенки, регуляции артериального давления, но и иммунологические факторы, такие, как аутоантитела против модифицированных липопротеидов низкой плотности (ЛНП) и ЛНП-содержащие циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК).

На уровне артериальной стенки типичной чертой раннего атеросклеротического поражения является внутриклеточное отложение липидов [6]. Было установлено, что модифицированные ЛНП и особенно ЛНП-содержащие иммунные комплексы способны вызывать существенное накопление холестерина в клетках интимы аорты человека [7, 14, 15]. Накопление липидов в клетках приводит к прогрессированию процессов атерогенеза, включающих избыточный синтез компонентов соединительнотканного матрикса, повышение пролиферативной активности и, возможно, развитие локальных воспалительных реакций [8]. Повышенное количество ЛНП-содержащих ЦИК в крови, определяемое по уровню иммунного холестерина (Х-ЦИК), характерно для атеросклероза коронарных и периферических артерий [10]. Уровень Х-ЦИК коррелирует со степенью выраженности и распространенностью атеросклеротических поражений и обладает высокой диагностической значимостью. Прогностическая значимость данного параметра ранее не изучалась. Можно предположить, что ЛНП-содержащие ЦИК имеют важное значение в прогрессировании атеросклероза, поскольку могут вызывать накопление холестерина в клетках сосудистой стенки.

В данном исследовании была изучена связь между уровнем Х-ЦИК и прогрессированием атеросклероза.

В исследовании приняли участие 98 мужчин в возрасте 40—74 лет с ранним бессимптомным атеросклерозом сонных артерий. Ультразвуковое обследование проводилось трижды перед включением в исследование, 1 раз в 3 мес. в течение первого года наблюдения, 1 раз в 6 мес. в течение второго года наблюдения, и трижды по окончании исследования. Протокол ультразвукового обследования включал сканирование обеих сонных артерий в В-режиме в трех проекциях до области каротидного синуса с помощью линейного датчика 7,5 МГц [12]. Толщину интимо-медиального слоя (ИМС) измеряли по видеозаписи с помощью компьютерной программы Pro-sound (R.Seltzer, США). Измерения проводили на участке общей сонной артерии длиной 10 мм, непосредственно прилегающему к каротидному синусу. Содержание холестерина и триглицеридов в сыворотке крови определяли с помощью ферментативных наборов (Boehringer Mannheim GmbH, Германия). Уровень иммунного холестерина определяли по содержанию холестерина в ЦИК, выделенных из сыворотки крови путем преципитации иммунных комплексов полиэтиленгликолем 6000 [10]. Статистическую оценку значимости различий проводили с использованием пакета SPSS 10.1.7 (SPSS Inc., США).

## Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены исходные клинические и биохимические характеристики участников исследования. Для установления диагностической и прогностической значимости уровня иммунного холестерина и других липидных показателей, их пороговые значения для данной выборки были определены методом наибольшего  $\chi^2$ . Пороговое значение для иммунного холестерина составило 16 мкг/мл. У пациентов с повышенным уровнем иммунного холестерина также отмечалось повышенное содержание общего холестерина и холестерина ЛНП. Средняя и максимальная толщина

Таблица 1

Исходные клинические и биохимические показатели

Показатель	Все больные (n=98)	Х-ЦИК $\leq$ 16,0 мкг/мл (n=55)	Х-ЦИК $>$ 16,0 мкг/мл (n=43)
Толщина ИМС, мм	0,939 $\pm$ 0,015	0,920 $\pm$ 0,008	0,963 $\pm$ 0,018 *
Возраст, лет	60,6 $\pm$ 0,8	60,2 $\pm$ 0,5	61,1 $\pm$ 0,8
Общий холестерин, мг/дл	231 $\pm$ 4	224 $\pm$ 2	240 $\pm$ 3 *
Триглицериды, мг/дл	196 $\pm$ 10	203 $\pm$ 6	187 $\pm$ 9
Холестерин ЛВП, мг/дл	42,6 $\pm$ 1,1	42,0 $\pm$ 0,6	43,4 $\pm$ 1,0
Холестерин ЛНП, мг/дл	149 $\pm$ 4	141 $\pm$ 2	159 $\pm$ 3 *
Х-ЦИК, мкг/мл	14,9 $\pm$ 0,7	9,3 $\pm$ 0,6	22,1 $\pm$ 2,8 *

Примечание. \* — статистически значимое различие между больными с нормальным и повышенным уровнем Х-ЦИК,  $p < 0,05$

ИМС у пациентов с повышенным уровнем Х-ЦИК была достоверно выше, чем у пациентов с нормальным уровнем Х-ЦИК (табл. 1).

Анализ сопряженности липидных показателей с исходной толщиной ИМС сонных артерий выявил, что только уровни Х-ЦИК и холестерина ЛНП были достоверно сопряжены со степенью выраженности каротидного атеросклероза и при этом имели высокие значения относительного риска и отношения шансов (табл. 2).

Показатель Х-ЦИК имел наивысшую чувствительность и специфичность по сравнению с другими липидными параметрами, то есть обладал диагностической ценностью. Следует отметить, что такие показатели, как общий холестерин, холестерин ЛНП и липопротеидов высокой плотности (ЛВП), характеризовались чувствительностью, сравнимой с Х-ЦИК, но их специфичность была низкой. Уровень триглицеридов сыворотки крови не имел достоверной диагностической значимости.

Увеличение толщины ИМС сонных артерий составило в среднем  $0,029 \pm 0,011$  мм за 2 года наблюдения при исходной средней толщине ИМС  $0,939 \pm 0,015$  мм ( $p=0,028$ ). Таким образом, динамика изменений толщины ИМС может быть расценена как медленное, но статистически достоверное прогрессирование каротидного атеросклероза. Индивидуальные изменения толщины ИМС расценивались как прогрессирование, регрессия или стабильное состояние на основании статистически достоверных

различий между средними величинами трех измерений при включении и по завершении исследования. Прогрессирование атеросклероза было отмечено у 52 больных (53,1%). Спонтанная регрессия была отмечена у 21 больного (21,4%). Соответственно, у 25 больных (25,5%) за 2 года наблюдения толщина ИМС достоверно не изменилась.

Анализ сопряженности липидных показателей с динамикой изменений толщины ИМС выявил, что только уровень Х-ЦИК был достоверно сопряжен с прогрессированием каротидного атеросклероза и имел высокие показатели относительного риска и отношения шансов (табл. 3). Повышенный уровень Х-ЦИК наряду с повышенным общим холестерином и повышенным холестерином ЛНП имел достаточно высокую прогностическую значимость. Повышенный уровень триглицеридов сыворотки крови, как и сниженный уровень холестерина ЛВП, не имели прогностической значимости в отношении прогрессирования каротидного атеросклероза. Нормальный уровень Х-ЦИК (менее 16 мкг/мл) был единственным параметром, предвещающим отсутствие прогрессирования каротидного атеросклероза в течение 2 лет с прогностической значимостью 78,3% (табл. 3).

Нормальные уровни общего холестерина, холестерина ЛНП и ЛВП и триглицеридов не обладали достоверной прогностической ценностью.

В течение последних десятилетий активно изучалась роль ЛНП-содержащих ЦИК в атерогенезе. Наличие в крови аутоантител к ЛНП является ре-

Таблица 2

Диагностическая значимость липидных показателей и Х-ЦИК

Показатель	$\chi^2$	p	Относительный риск	Отношение шансов	Чувствительность, %	Специфичность, %
Х-ЦИК	8,490	0,045	1,18	1,43	64,7 (62,1–67,1)	60,1 (56,8–65,9)
Холестерин ЛНП	7,102	0,049	1,11	1,35	61,7 (56,5–66,8)	42,9 (38,8–47,0)
Холестерин ЛВП	3,987	0,159	1,12	1,33	61,8 (58,2–65,4)	45,3 (39,3–51,3)
Общий холестерин	1,605	0,373	1,11	1,20	61,6 (58,3–65,0)	45,7 (39,3–52,2)
Триглицериды	0,128	0,820	0,97	0,94	50,2 (39,9–61,0)	38,1 (34,1–42,2)

Примечание. В скобках указан 95%-ный доверительный интервал

Таблица 3

Прогностическая значимость липидных показателей и Х-ЦИК

Показатель	$\chi^2$	p	Относительный риск	Отношение шансов	Значимость повышенных показателей, %	Значимость нормальных показателей, %
Х-ЦИК	15,602	0,001	2,57	6,25	63,5 (53,6–71,5)	78,3 (67,1–87,3)
Холестерин ЛНП	0,031	0,904	0,96	0,92	72,4 (67,7–77,6)	58,1 (53,5–62,9)
Общий холестерин	0,031	0,904	0,97	0,91	64,3 (56,0–72,8)	39,0 (34,2–43,5)
Триглицериды	0,010	0,973	0,99	0,98	36,3 (31,0–41,3)	34,8 (30,1–39,0)
Холестерин ЛВП	0,008	0,986	1,00	1,00	48,0 (42,4–53,7)	43,4 (38,7–47,4)

Примечание. В скобках указан 95%-ный доверительный интервал

зультатом иммунного ответа организма на модификацию липопротеидов [19]. ЛНП-содержащие ЦИК были обнаружены в крови больных при атеросклерозе [9, 10, 13, 14]. Было установлено, что уровень Х-ЦИК в крови больных коронарным атеросклерозом повышен по сравнению со здоровыми лицами [14, 15]. Анализ физико-химических свойств ЛНП, входящих в состав ЛНП-содержащих ЦИК, показал, что антигеном для формирования подобных комплексов являются множественно-модифицированные (десиазированные) ЛНП [16]. ЛНП-содержащие ЦИК вызывают накопление холестерина в культивируемых клетках интимы аорты человека [15] и в макрофагах [4]. Удаление ЛНП-содержащих ЦИК из сыворотки крови больных атеросклерозом приводит к существенному снижению ее атерогенного потенциала [9, 14]. Поскольку накопление холестерина в клетках сопровождается стимуляцией других проявлений атерогенеза на клеточном уровне [8], то возможно, что присутствие ЛНП-содержащих ЦИК в крови способствует возникновению и прогрессированию атеросклеротического процесса в сосудистой стенке.

Однако некоторые авторы предполагают, что формирование ЦИК аутоиммунных комплексов модифицированный липопротеин низкой плотности — антигеном может носить защитный характер: такие комплексы обладают меньшей способностью индуцировать накопление эфиров холестерина в макрофагах по сравнению с исходными модифицированными липопротеинами и быстро элиминируются из кровотока [1].

В ряде исследований у больных с ишемической болезнью сердца (ИБС) выявлено повышение уровня ЦИК и показана их связь с течением ИБС и нарушениями липидного обмена, уровнями окисленных ЛНП [2, 18]. Согласно экспериментальным данным, ЦИК, в зависимости от изоформа входящих в их состав антигенов, способны индуцировать секрецию провоспалительных цитокинов, матриксных металлопротеиназ, генерацию кислородных радикалов [17]. Эти молекулярные механизмы определяют патофизиологическое значение ЦИК иммунных комплексов в развитии атеросклеротических поражений стенки сосуда.

Атерогенные свойства ЛНП-содержащих ЦИК позволяют предлагать использование Х-ЦИК в качестве биохимического маркера атеросклероза. Недавно была выявлена взаимосвязь между уровнем Х-ЦИК и наличием коронарных и экстракоронарных стенозов. Диагностическая значимость Х-ЦИК у больных с выраженными клиническими проявлениями атеросклероза оказалась выше, чем у широко используемых биохимических маркеров атеросклероза, таких, как общий холестерин и холестерин ЛНП, холестерин ЛВП и соотношение апоВ:апоА-I [10]. В настоящем исследовании диагностическая значи-

мость Х-ЦИК была оценена у пациентов с бессимптомным ранним атеросклерозом. Было установлено, что повышенный уровень Х-ЦИК ассоциирован с увеличенной толщиной ИМС сонных артерий, ультрасонографическим признаком раннего атеросклероза [3]. Чувствительность и специфичность Х-ЦИК оказалась наивысшей по сравнению с другими липидными параметрами.

Помимо диагностической значимости, повышенный уровень Х-ЦИК при раннем атеросклерозе имеет также и высокое прогностическое значение, сравнимое с повышенными уровнями общего холестерина и холестерина ЛНП. Следует отметить, что нормальный уровень Х-ЦИК оказался единственным высокозначимым биохимическим маркером, прогнозирующим отсутствие прогрессирования атеросклероза в течение 2 последующих лет.

Связь ЛНП-содержащих ЦИК с прогрессированием атеросклероза изучена недостаточно. Было показано, что титр антител к модифицированным ЛНП имеет прогностическую значимость в отношении острого инфаркта миокарда [11], но прогностическая ценность ЛНП-содержащих ЦИК не была оценена. Результаты недавнего 20-летнего проспективного исследования показали, что повышенный уровень ЦИК и антител к кардиолипину ассоциирован с риском инфаркта миокарда [5]. Тем не менее, состав ЦИК не был охарактеризован, поэтому невозможно сделать вывод об участии модифицированных ЛНП в формировании иммунных комплексов. В нашем исследовании впервые установлена прогностическая значимость ЛНП-содержащих ЦИК, определяемых по уровню Х-ЦИК, в отношении прогрессирования раннего атеросклероза.

Результаты данного исследования показывают, что содержание иммунного холестерина в крови не только является маркером раннего атеросклероза, но также имеет высокую прогностическую ценность. Тем не менее, требуются дальнейшие проспективные исследования для выявления атерогенной роли этого параметра.

*Работа была поддержана Министерством образования и науки РФ.*

### Список литературы

1. *Климов А.Н., Денисенко А.Д.* Может ли иммунная система защищать нас от атеросклероза? // Мед. акад. журн. — 2008. — Т. 8, №2. — С. 115–117.
2. *Bing H., Wang J., Zhang C., Cai H.* Positive correlation between in vivo oxidized LDL and LDL immune complexes // Clin. Biochem. — 2004. — Vol. 37, №1. — P. 72–75.

3. *Craven T.E., Ryu J.E., Espeland M.A.* et al. Evaluation of the associations between carotid artery atherosclerosis and coronary artery stenosis. A case-control study // *Circulation*. — 1990. — Vol. 82. — P. 1230—1242.
4. *Klimov A.N., Denisenko A.D., Vinogradov A.G.* et al. Accumulation of cholesteryl esters in macrophages incubated with human lipoprotein-antibody autoimmune complex // *Atherosclerosis*. — 1988. — Vol. 74. — P. 41—46.
5. *Mustafa A., Nityanand S., Berglund L.* et al. Circulating immune complexes in 50-year-old men as a strong and independent risk factor for myocardial infarction // *Circulation*. — 2000. — Vol. 102. — P. 2576—2581.
6. *Orekhov A.N., Tertov V.V., Novikov I.D.* et al. Lipids in cells of atherosclerotic and uninvolved human aorta. I. Lipid composition of aortic tissue and enzyme-isolated and cultured cells // *Exp. Mol. Pathol.* — 1985. — Vol. 42. — P. 117—137.
7. *Orekhov A.N., Tertov V.V., Mukhin D.N., Mikhailenko I.A.* Modification of low density lipoprotein by desialylation causes lipid accumulation in cultured cells: discovery of desialylated lipoprotein with altered cellular metabolism in the blood of atherosclerotic patients // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1989. — Vol. 162. — P. 206—211.
8. *Orekhov A.N., Tertov V.V., Kudryashov S.A., Smirnov V.N.* Triggerlike stimulation of cholesterol accumulation and DNA and extracellular matrix synthesis induced by atherogenic serum or low density lipoprotein in cultured cells // *Circ. Res.* — 1990. — Vol. 66. — P. 311—320.
9. *Orekhov A.N., Kalenich O.S., Tertov V.V., Novikov I.D.* Lipoprotein immune complexes as markers of atherosclerosis // *Int. J. Tissue React.* — 1991. — Vol. 13. — P. 233—236.
10. *Orekhov A.N., Kalenich O.S., Tertov V.V.* et al. Diagnostic value of immune cholesterol as a marker for atherosclerosis // *J. Cardiovasc. Risk*. — 1995. — Vol. 2. — P. 459—466.
11. *Puurunen M., Manttari M., Manninen V.* et al. Antibody against oxidized low-density lipoprotein predicting myocardial infarction // *Arch. Intern. Med.* — 1994. — Vol. 154. — P. 2605—2609.
12. *Salonen R., Nyssonen K., Porkkala E.* et al. Kuopio Atherosclerosis Prevention Study (KAPS). A population-based primary preventive trial of the effect of LDL lowering on atherosclerotic progression in carotid and femoral arteries // *Circulation*. — 1995. — Vol. 92. — P. 1758—1764.
13. *Szondy E., Horvath M., Mezey Z.* et al. Free and complexed anti-lipoprotein antibodies in vascular diseases // *Atherosclerosis*. — 1983. — Vol. 49. — P. 69—77.
14. *Tertov V.V., Orekhov A.N., Kacharava A.G.* et al. Low density lipoprotein-containing circulating immune complexes and coronary atherosclerosis // *Exp. Mol. Pathol.* — 1990. — Vol. 52. — P. 300—308.
15. *Tertov V.V., Orekhov A.N., Sayadyan K.S.* et al. Correlation between cholesterol content in circulating immune complexes and atherogenic properties of CHD patients' serum manifested in cell culture // *Atherosclerosis*. — 1990. — Vol. 81. — P. 183—189.
16. *Tertov V.V., Sobenin I.A., Orekhov A.N.* et al. Characteristics of low density lipoprotein isolated from circulating immune complexes // *Atherosclerosis*. — 1996. — Vol. 122. — P. 191—199.
17. *Virella G., Atchley D., Koskinen S.* et al. Proatherogenic and proinflammatory properties of immune complexes prepared with purified human oxLDL antibodies and human oxLDL // *Clin. Immunol.* — 2002. — Vol. 105, №1. — P. 81—92.
18. *Wang J., Qiang H., Zhang C.* et al. Detection of IgG-bound lipoprotein(a) immune complexes in patients with coronary heart disease // *Clin. Chim. Acta.* — 2003. — Vol. 327, №1—2. — P. 115—122.
19. *Yla-Herttuala S., Palinski W., Rosenfeld M.E.* et al. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man // *J. Clin. Invest.* — 1989. — Vol. 84. — P. 1086—1095.

Поступила 01.12.11

#### Сведения об авторах:

Орехов Александр Николаевич, д-р биол. наук, зав. лаб. клеточных механизмов атерогенеза ФГБУ «НИИОПП» РАМН

Мельниченко Александра Александровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., НИИ атеросклероза РАЕН

Собенин Игорь Александрович, д-р мед. наук, ФГБУ «НИИОПП» РАМН