

ИММУННЫЙ ХОЛЕСТЕРИН В КРОВИ – ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ

И.А.Собенин², В.П. Карагодин¹, А.А. Мельниченко¹, А.Н. Орехов^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт атеросклероза, 121355, Москва, ул. Ивана Франко, д. 4, к. 1, тел. +7 (495)4120113, +7(495)4121557, office@inat.ru,

²Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8, тел. +7(499)6012181, niiopp@mail.ru

Резюме:

Известно, что повышенный уровень иммунного холестерина (циркулирующих иммунных комплексов, содержащих липопротеиды низкой плотности) является характерным маркером атеросклероза. Нами 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-медиального слоя (ИМС) сонных артерий с помощью ультразвукографии 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.

IMMUNE CHOLESTEROL LEVEL IN BLOOD - PROGNOSTIC VALUE FOR CLINICAL IMPLICATIONS

I.A. Sobenin, V.P.Karagodin, A.A. Melnichenko, A.N.Orekhov

¹Institute for Atherosclerosis Research: 4-1 I. Franko Str., 121355, Moscow, Russia.

²Institute of General Pathology and Pathophysiology: 8 Baltiyskaya Str., 125315, Moscow, Russia.

Summary:

It has been shown that the high level of LDL-containing circulating immune complexes (immune cholesterol) is characteristic for both coronary and extracoronary atherosclerosis. 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 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 ± 0.011 mm per two years over the mean baseline IMT of 0.939 ± 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 $16.0 \mu\text{g/ml}$) 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.

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

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

ВВЕДЕНИЕ

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 [1]. Было установлено, что модифицированные ЛНП и особенно ЛНП-содержащие иммунные комплексы способны вызывать существенное накопление холестерина в клетках интимы аорты человека [2-4]. Накопление липидов в клетках приводит к прогрессированию процессов атерогенеза, включающих избыточный синтез компонентов соединительнотканного матрикса, повышение пролиферативной активности и,

возможно, развитие локальных воспалительных реакций [5]. Повышенное количество ЛНП-содержащих ЦИК в крови, определяемое по уровню иммунного холестерина (Х-ЦИК), характерно для атеросклероза коронарных и периферических артерий [6]. 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.

ЦЕЛЬ

Цель данного исследования - изучить связь между уровнем Х-ЦИК в крови и прогрессированием атеросклероза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проспективном 2-летнем исследовании участвовали 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 месяца в течение первого года наблюдения, 1 раз в 6 месяцев 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 [7]. Толщину ИМС измеряли по видеозаписи с помощью компьютерной программы Prosound (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 [6]. Статистическую оценку достоверности различий проводили с использованием пакета SPSS 10.1.7 (SPSS Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 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 χ^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 ИМС у пациентов с повышенным уровнем Х-ЦИК была достоверно выше, чем у пациентов с нормальным уровнем Х-ЦИК (Таблица 1).

Таблица 1. Исходные клинические и биохимические показатели.

Показатель	Все больные (n=98)	Х-ЦИК	
		≤16.0 мкг/мл (n=55)	>16.0 мкг/мл (n=43)
Толщина ИМС, мм	0,939±0,015	0,920±0,008	0,963±0,018 *
Возраст, лет	60,6±0,8	60,2±0,5	61,1±0,8
Общий холестерин, мг/дл	231±4	224±2	240±3 *
Триглицериды, мг/дл	196±10	203±6	187±9
Холестерин ЛВП, мг/дл	42,6±1,1	42,0±0,6	43,4±1,0
Холестерин ЛНП, мг/дл	149±4	141±2	159±3 *
Х-ЦИК, мкг/мл	14,9±0,7	9,3±0,6	22,1±2,8 *

*, достоверное различие между больными с нормальным и повышенным уровнем Х-ЦИК, $p < 0,05$.

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 (таблица 2).

Таблица 2. Диагностическая значимость липидных показателей и Х-ЦИК.

Показатель	χ^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	1,605	0,373	1,11	1,20	61,6	45,7

холестерин					(58,3-65,0)	(39,3-52,2)
Триглицериды	0,128	0,820	0,97	0,94	50,2	38,1
					(39,9-61,0)	(34,1-42,2)

Примечание: в скобках указан 95% доверительный интервал.

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 (таблица 3).

Таблица 3. Прогностическая значимость липидных показателей и Х-ЦИК.

Показатель	χ^2	p	Относит ельный риск	Отноше ние 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	0,031	0,904	0,96	0,92	72,4	58,1

ЛНП					(67,7-77,6)	(53,5-62,9)
Общий холестерин	0,031	0,904	0,97	0,91	64,3	39,0
Триглицериды	0,010	0,973	0,99	0,98	36,3	34,8
Холестерин ЛВП	0,008	0,986	1,00	1,00	48,0	43,4
					(31,0-41,3)	(30,1-39,0)
					(42,4-53,7)	(38,7-47,4)

Примечание: в скобках указан 95% доверительный интервал.

Повышенный уровень X-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 X-ЦИК (менее 16 мкг/мл) был единственным параметром, предвещающим отсутствие прогрессирования каротидного атеросклероза в течение 2 лет с прогностической значимостью 78,3% (таблица 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 результатом иммунного ответа организма на модификацию липопротеидов [8]. ЛНП-содержащие ЦИК были обнаружены в крови больных при атеросклерозе [4;6;9;10]. Было установлено, что уровень X-ЦИК в крови больных коронарным атеросклерозом повышен по сравнению со здоровыми лицами [3;4]. Анализ физико-химических свойств ЛНП, входящих в состав ЛНП-содержащих ЦИК, показал, что антигеном для формирования подобных комплексов являются множественно-модифицированные (десалирированные) ЛНП [11]. ЛНП-содержащие ЦИК вызывают накопление холестерина в культивируемых клетках интимы аорты человека [3] и в макрофагах [12]. Удаление ЛНП-ЛНП-содержащих ЦИК из сыворотки крови больных атеросклерозом приводит к существенному снижению ее атерогенного потенциала [4;10]. Поскольку накопление холестерина в клетках сопровождается стимуляцией других проявлений атерогенеза на клеточном уровне [5], то возможно, что присутствие ЛНП-содержащих ЦИК в крови способствует возникновению и прогрессированию атеросклеротического процесса в сосудистой стенке.

Атерогенные свойства ЛНП-содержащих ЦИК позволяют предлагать использование X-ЦИК в качестве биохимического маркера атеросклероза. Недавно была выявлена взаимосвязь между уровнем X-ЦИК и наличием коронарных и экстракоронарных стенозов. Диагностическая значимость X-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 [6]. В настоящем исследовании диагностическая значимость X-ЦИК была оценена у пациентов с бессимптомным ранним атеросклерозом. Было установлено, что повышенный уровень X-ЦИК ассоциирован с увеличенной толщиной ИМС сонных артерий, ультрасонографическим признаком раннего атеросклероза [13]. Чувствительность и специфичность X-ЦИК оказалась наивысшей по сравнению с другими липидными параметрами.

Помимо диагностической значимости, повышенный уровень X-ЦИК при раннем атеросклерозе имеет также и высокое прогностическое значение, сравнимое с повышенными уровнями общего холестерина и холестерина ЛНП. Следует отметить, что нормальный уровень X-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 [14], 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 [15]. 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 X-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.

ЛИТЕРАТУРА

1. Orekhov A.N., Tertov V.V., Novikov I.D. et al. 1985. Lipids in cells of atherosclerotic and uninvolved human aorta. I. Lipid composition of aortic tissue and enzyme-isolated and cultured cells. *Exp. Mol. Pathol.* 42: 117-137.
2. Orekhov A.N., Tertov V.V., Mukhin D.N., Mikhailenko I.A. 1989. 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.* 162: 206-211.
3. Tertov V.V., Orekhov A.N., Sayadyan K.S. et al. 1990. Correlation between cholesterol content in circulating immune complexes and atherogenic properties of CHD patients' serum manifested in cell culture. *Atherosclerosis.* 81: 183-189.
4. Tertov V.V., Orekhov A.N., Kacharava A.G. et al. 1990. Low density lipoprotein-containing circulating immune complexes and coronary atherosclerosis. *Exp. Mol. Pathol.* 52: 300-308.
5. Orekhov A.N., Tertov V.V., Kudryashov S.A., Smirnov V.N. 1990. Triggerlike stimulation of cholesterol accumulation and DNA and extracellular matrix synthesis induced by atherogenic serum or low density lipoprotein in cultured cells. *Circ. Res.* 66: 311-320.
6. Orekhov A.N., Kalenich O.S., Tertov V.V. et al. 1995. Diagnostic value of immune cholesterol as a marker for atherosclerosis. *J. Cardiovasc. Risk.* 2: 459-466.
7. Salonen R., Nyssonen K., Porkkala E. et al. 1995. 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.* 92: 1758-1764.
8. Yla-Herttuala S., Palinski W., Rosenfeld M.E. et al. 1989. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J. Clin. Invest.* 84: 1086-1095.
9. Szondy E., Horvath M., Mezey Z. et al. 1983. Free and complexed anti-lipoprotein antibodies in vascular diseases. *Atherosclerosis.* 49: 69-77.
10. Orekhov A.N., Kalenich O.S., Tertov V.V., Novikov I.D. 1991. Lipoprotein immune complexes as markers of atherosclerosis. *Int. J. Tissue React.* 13: 233-236.
11. Tertov V.V., Sobenin I.A., Orekhov A.N. et al. 1996. Characteristics of low density lipoprotein isolated from circulating immune complexes. *Atherosclerosis.* 122: 191-199.
12. Klimov A.N., Denisenko A.D., Vinogradov A.G. et al. 1988. Accumulation of cholesteryl esters in macrophages incubated with human lipoprotein-antibody autoimmune complex. *Atherosclerosis.* 74: 41-46.

13. Craven T.E., Ryu J.E., Espeland M.A. et al. 1990. Evaluation of the associations between carotid artery atherosclerosis and coronary artery stenosis. A case-control study. *Circulation*. 82: 1230-1242.
14. Puurunen M., Manttari M., Manninen V. et al. 1994. Antibody against oxidized low-density lipoprotein predicting myocardial infarction. *Arch. Intern. Med.* 154: 2605-2609.
15. Mustafa A., Nityanand S., Berglund L. et al. 2000. Circulating immune complexes in 50-year-old men as a strong and independent risk factor for myocardial infarction. *Circulation*. 102: 2576-2581.