

# АТЕРОГЕННЫЙ ЭФФЕКТ СЫВОРОТКИ КРОВИ БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ

З.С. Алекберова<sup>1</sup>, Е.В. Герасимова<sup>1</sup>, И.А. Собенин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ Институт ревматологии РАМН,

<sup>2</sup>Институт экспериментальной кардиологии РКНПК МЗ РФ, Москва

## Резюме

**Цель.** Оценить связь атерогенности сыворотки крови больных СКВ с активностью заболевания и приемом глюкокортикоидов (ГК).

**Материал и методы.** В исследование включены 40 молодых женщин с СКВ: 20 больных, не получающие ГК, - 1-ая группа и 20 больных, длительно леченных малыми дозами ГК (< 15 мг/сут), - 2-ая группа. Группы различались по длительности и активности СКВ (2,6±1,8 и 16,2±1,9 лет; 17,5±4,8 и 5,7±3,8 баллов по SLEDAI соответственно). Контрольная группа состояла из 20 здоровых женщин. Атерогенность сыворотки определяли в культуре перитонеальных макрофагов мышей линии BALB/c по накоплению внутриклеточного холестерина (ХС), индуцированному сывороткой крови больных.

**Результаты.** 90% сывороток больных и лишь 15% сывороток здоровых лиц обладали атерогенными свойствами, то есть вызывали в среднем 2-кратное накопление ХС в культивируемых клетках. Частота выявления атерогенных свойств сыворотки у больных, длительно страдающих СКВ, была несколько выше. Атерогенность сыворотки крови была выше в 1-ой группе, чем во 2-ой (221±13% и 185±11%, p=0,044). Атерогенность коррелировала с индексом активности SLEDAI (r=0,82, p=0,04). Ассоциации с показателями липидного спектра крови (общий ХС, триглицериды, ХС липопротеидов низкой плотности (ЛНП) и ХС липопротеидов высокой плотности (ЛВП)) получено не было.

**Заключение.** Имеется прямая зависимость атерогенности сыворотки от активности заболевания, что указывает на роль иммунологических нарушений в атерогенезе у больных СКВ.

**Ключевые слова:** системная красная волчанка, атерогенность, атеросклероз.

В последние годы активно изучается роль аутоиммунного воспаления в развитии и прогрессировании атеросклеротического поражения сосудов. Моделью системного аутоиммунного воспаления можно считать системную красную волчанку (СКВ), в основе которой лежат многочисленные нарушения иммунорегуляции, следствием чего является гиперпродукция органоспецифических аутоантител, реагирующих с различными компонентами клетки. Среди множества антител при СКВ основная роль отводится антителам к ДНК, образующим циркулирующие и фиксированные в тканях иммунные комплексы (ДНК-антиДНК - ИК) [11].

Будучи эндогенными макромолекулами белка, ИК поглощаются в крови и тканях моноцитами-макрофагами [1,17]. Гораздо активнее с клеточной поверхностью макрофагов и фибробластов при СКВ связываются ИК в присутствии липопротеидов низкой плотности (ЛНП), что, видимо, обусловлено взаимодействием IgG - двухспиральная ДНК - ЛНП - клеточная мембрана [8,9]. Захват макрофагами ЛНП-содержащих ИК *in vitro* протекает по типу сквенджер-захвата, особенностью которого является неконтролируемость процесса поглощения эфиров холестерина (ХС), приводящая к перегрузке клеток ХС и трансформацией макрофагальной клетки в пенистую. Показано, что ХС-содержащая ИК, выделенные из крови больных атеросклерозом, при инкубации с мышинными перитонеальными макрофагами и гладкомышечными клетками интимы аорты человека вызывают многократное увеличение внутриклеточного содержания эфиров ХС в этих клетках и, в конечном счете, трансформацию их в пенистые клетки, то есть оказывают атерогенный эффект на клеточном уровне [10,21].

Впервые атерогенный эффект сыворотки крови больных СКВ был продемонстрирован работами А.Е. Кабакова и соавт. Показана возможность рецепторного поглощения фибробластами кожи человека ЛНП-содержащих ИК, полученных из сыворотки больных СКВ, и продемонстрировано цитотоксическое действие ИК в присутствии ЛНП [8]. При инкубации гладкомышечных клеток интимы аорты человека как с сывороткой больных, так и с циркулирующими ИК, выделенными из сыворотки и содержащими ЛНП, было продемонстрировано соответственно 1,5-6 и 3-4 кратное увеличение внутриклеточного содержания эфиров ХС [7].

**Целью работы** было определение атерогенности сыворотки крови больных СКВ и оценка связи ее с активностью заболевания и приемом глюкокортикоидов (ГК).

## Материалы и методы

Обследовано 40 женщин с достоверной СКВ (по критериям Американской Коллегии Ревматологов, 1982 г. [19]) в возрасте 16-45 лет (ср. 33,2±6,6 лет). Больные были разделены на 2 группы: 1-я - 20 больных до назначения ГК, с давностью СКВ 2,6±1,8 лет; 2-ая - 20 больных, получающих ГК в ср. 12,9±1,9 лет. Активность по SLEDAI в 1 группе составляла 17,5±4,8 баллов (4 - 46 баллов), во 2-й - 5,7±3,8 баллов (0-16 баллов). В исследование не включались больные, имеющие такие факторы кардиоваскулярного риска, как ожирение, курение, нефротический синдром, артериальная гипертензия, постменопаузальный период. Контрольную группу составили 20 женщин того же возраста, не имевших факторов риска развития атеросклероза и сопряженных с ним заболеваний. Общая характеристика обследованных представлена в таблице 1.

Атерогенность сыворотки определяли в культуре мышечных макрофагов, выделенных по общепринятой методике

Таблица 1  
Общая характеристика женщин с СКВ

Показатель	1 группа СКВ (n=20)	2 группа СКВ (n=20)	Контроль (n=20)
Возраст, годы	30,2±6,6	36,2±1,9	32,4±2,9
Возраст начала СКВ, годы	21,6±7,6	20±2,4	-
Длительность СКВ, годы	2,6±1,8	16,2±1,9 *	-
SLEDAI, баллы	17,5±4,8	5,7±3,8 *	-
Длительность ГК терапии, годы	-	12,9±1,9	-
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	22±2,7	22±0,6	22±4,8

\*, достоверное различие между группами,  $p < 0,05$ .

[6], по накоплению внутриклеточного холестерина, индуцированному 10 % сывороткой крови пациенток [20]. Атерогенный потенциал сыворотки крови выражали в процентах от содержания ХС в контрольных клетках. Уровень липидов в сыворотке крови определяли ферментативным методом с использованием наборов "Boehringer Mannheim GmbH", Германия.

Статистическую оценку достоверности различий проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA.

#### Результаты исследования

Подавляющее большинство сывороток больных СКВ (n=36, 90%) обладали атерогенными свойствами, т.е. были способны увеличивать содержание ХС в мышинных макрофагах за 3 часа инкубации в 2 - 6 раз. Атерогенные свойства сыворотки крови несколько чаще выявлялись у больных с большей давностью СКВ (95% во 2-й и 85% в 1-ой группах). Из 20 сывороток здоровых лиц лишь 3 (15%) были атерогенными.

Сыворотка крови больных СКВ вызывала в среднем 2-кратное накопление ХС в клетках, что достоверно отличалось от здорового контроля (203±15 % и 130±13 % от контрольных величин,  $p < 0,001$ ). Атерогенность сывороток оказалась выше в группе больных с высокой активностью СКВ без лечения, чем в группе больных СКВ, активность которой достаточно контролировалась ГК (221±13% и 185±11%,  $p=0,044$ ) (табл. 2). Значения атерогенности сыворотки больных колебались в пределах 140-640 % и 80-270 % по группам соответственно.

Накопление внутриклеточного ХС, индуцированное сывороткой крови больных СКВ, не было связано с кон-

центрацией липидов сыворотки крови. Как следует из табл. 2, в 1-ой группе больных с самой высокой атерогенностью уровни общего ХС и ХСЛНП были ниже, хотя и не достоверно, по сравнению со 2-ой группой и со здоровым контролем. Какой-либо коррелятивной связи атерогенности сыворотки с показателями липидного спектра крови (общий ХС, ТГ, ХСЛНП, ХСЛВП) не было выявлено.

Отмечена прямая зависимость атерогенности сыворотки крови больных 1-ой группы от активности СКВ: атерогенность коррелировала с индексом активности SLEDAI ( $r=0,82$ ,  $p=0,044$ ). На фоне приема ГК атерогенность сыворотки крови снижалась, но оставалась все же достоверно выше, чем атерогенность в здоровом контроле (185±11% и 130±13%,  $p=0,0025$ ). Полученные данные позволяют обсуждать роль иммунопатологических нарушений, лежащих в основе патогенеза аутоиммунных заболеваний, в развитии ускоренного атеросклероза при СКВ.

#### Обсуждение

В данном исследовании мы подтвердили, что сыворотка больных СКВ содержит атерогенные факторы, стимулирующие накопление эфиров ХС в культивируемых макрофагах. Можно предположить, что проникновение эфиров ХС в макрофагальную клетку возрастает при увеличении в сыворотке крови общего ХС и ХС ЛНП, однако в нашем исследовании, как и в других [10], атерогенность не зависела от липидного спектра. "Донорами" эфиров ХС, кроме нативных ЛНП, могут являться модифицированные ЛНП или ЛНП-содержащие ИК. Вероятно, и модифицированные ЛНП, и ЛНП-содержащие ИК присутствуют в крови больных СКВ *in vivo*. С клеткой быстрее взаимодействуют ИК, т.к. содержащаяся в их составе молекула ДНК имеет на своей поверхности большее количество мест для связывания с рецепторами макрофагов, чем свободные ЛНП [4]. Неспецифическая связь ЛНП с ДНК делает частицу более стабильной, что предотвращает деградацию этих богатых ХС липид-белковых комплексов в лизосомах клетки, нарушая при этом нормальный метаболизм эфиров ХС и приводя к их внутриклеточной аккумуляции [4,18].

Кроме того, сам процесс образования ИК сопровождается агрегацией и адсорбцией их на клеточной поверхности с последующим эндоцитозом в основном через Fc-рецепторы иммуноглобулина [5,14]. Было показано, что ИК, связанные с Fc-рецепторами макрофагов, стимулируют продукцию различных цитокинов (интерлейкина (ИЛ)-1, ИЛ-6, ИЛ-8, фактора некроза опухоли, макрофагального колониестимулирующего фактора), протеолитических энзимов (преимущественно металлопротеиназ), окислительноактивных форм свободных радикалов, что, в свою очередь, приводит к окислению ЛНП и повышению экспрессии сквенджер-рецепторов на поверхности макрофагов [9,16]. Через данные рецепторы осуществляется проникновение модифицированных *in vitro* ЛНП [15]. Остаются открытыми вопросы о присутствии в крови больных СКВ модифицированных (десалирированных) ЛНП, выявленных в крови пациентов с атеросклерозом, и о механизмах их взаимодействия с клеткой [2].

С компонентами клеточной мембраны и экстрацеллюлярного матрикса могут также связываться и антитела к нативной ДНК, но, как было показано, значение данного взаимодействия невелико [8,13].

Существует возможность связывания ЛНП с другими аутоантителами без участия ДНК. В этой роли могут выступать антифосфолипидные антитела (аФЛ). Известно, что они также вносят вклад в атерогенность при СКВ. Была описана корреляция между уровнем аФЛ и пролиферацией интимы аорты [3].

ЛНП-содержащие ИК - не единственный атерогенный фактор при СКВ. Так, сами компоненты экстрацеллюлярного матрикса - эластан, коллаген, фибронектин или протеогликаны - могут образовывать комплексы с ЛНП, что также

Таблица 2  
Липидный спектр и уровень атерогенности сыворотки крови больных СКВ и в контрольной группе

Группы	Атерогенность, %	ХС, мг/дл	ТГ, мг/дл	ХС ЛВП, мг/дл	ХС ЛНП, мг/дл
Здоровые n=20	130 ± 13	178 ± 9	76 ± 7	58 ± 2	91 ± 8
1 группа СКВ n=20	221 ± 13*	154 ± 29	96 ± 17	49 ± 7	87 ± 28
2 группа СКВ n=20	185 ± 11**,**	190 ± 11	126 ± 17*	61 ± 4	102 ± 10

\* достоверное отличие от контроля,  $p < 0,05$ ,

\*\* достоверное различие между группами,  $p < 0,05$ .

стимулирует накопление эфиров ХС в клетках [21] и приводит к повышению экспрессии хемокинов макрофагами [16].

Взаимодействие ЛНП с ДНК, компонентами экстрацеллюлярного матрикса *in vivo* могут играть важную роль не только в атерогенезе, но и в развитии самой СКВ. ЛНП-содержащие ДНК-антиДНК-ИК, связываясь с апо-В-рецепторами клеток, проявляют цитотоксическую активность и в присутствии комплемента вызывают гибель клеток [7]. Было описано связывание ЛНП с гликозаминогликанами гломерулярной мембраны [12], где ЛНП, вероятно, выступают в качестве промежуточного звена взаимодействия

комплемента фиксированных ДНК-антиДНК-ИК с гликозаминогликанами.

Таким образом, иммунологические нарушения при СКВ могут обуславливать повышенную атерогенность сыворотки крови больных. Можно предположить, что своевременная адекватная терапия ГК, уменьшающая проявления иммунного комплексного воспаления, позволяет не только контролировать активность СКВ, но и влиять на атерогенность сыворотки крови больных. Необходимо проведение дальнейших исследований с целью уточнения влияния атерогенности сыворотки крови на акселерацию атеросклероза при СКВ.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Маянский Ф.Н. Конденционирование нейтрофила. Успехи соврем. биол., 1990, Т.104, вып. 1, 90-105.
2. Тертов В.В. Множественно-модифицированные липопротеиды низкой плотности, циркулирующие в крови человека. Ангиолог. сос.хирург., 1999, 5, 218-240.
3. Alarcon-Segovia D. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus: possible participation of antiphospholipid antibodies. *Isr.J. Med. Sci.*, 1989, 25, 669-672.
4. Bennet R.M., Gabor G.T., Merritt M.J. DNA binding to human leukocytes: evidence for a receptor mediated association, internalization and degradation of DNA. *J. Clin. Invest.*, 1985, 76, 2182-2188.
5. Frank M.M., Hamburger M.I., Lawley T.J. et al. Defective reticuloendothelial system Fc-receptor function in systemic lupus erythematosus. *N. Engl J Med.*, 1976, 300, 518-521.
6. Goldstein J.L., Ho G.K., Basu S.K., Brown M.S. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc. Nat. Acad. Sci USA*, 1979, 78, 333-337.
7. Kabakov A.E., Tertov V.V., Saenko V.A. The atherogenic effect of lupus sera: systemic lupus erythematosus-derived immune complexes stimulate the accumulation of cholesterol in cultured smooth muscle cells from human aorta. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1992, 62,3, 214-220.
8. Kabakov A.E., Saenko V.A., Poverenny A.M. LDL-mediated interaction of DNA and DNA-anti-DNA immune complexes with cell surface. *Clin. Exp. Immunol.*, 1991, 83, 357-363.
9. Kiener P., Rankin B., Davis P. et al. Immune complexes of LDL induce atherogenic responses in human monocytic cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1995, 15, 990-999.
10. 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, 74, 41-46.
11. Koffler D. Immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Ann. Rev. Med.*, 1974, 25, 149-154.
12. Kostner G.M., Zechner R., Bihar-Varga M., Gruber E. The interaction of human plasma LDL with glycosaminoglycans: influence of the chemical composition. *Lipids*, 1985, 20, 24-29.
13. Lake R.A., Morgan A., Henderson B. et al. A key role for fibronectin in the sequential binding of native dsDNA and monoclonal anti-DNA antibodies to components of the extracellular matrix: its possible significance in glomerulonephritis. *Immunology*, 1985, 54, 389-395.
14. Lopes-Virella M.F., Virella G. Atherosclerosis and autoimmunity. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1994, 73, 2, 155-167.
15. Parthasarathy S., Printz D., Boyd D. et al. Macrophage oxidation of low density lipoprotein generates a modified form recognized by the scavenger receptor. *Atherosclerosis*, 1986, 6, 505-510.
16. Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *New Engl. J. Med.*, 1999, 340, 115-126.
17. Schwartz C.J., Valente A.J., Spragut E.A. et al.: Monocyte-macrophage participation in atherogenesis: Inflammatory components of pathogenesis. *Semin. Thromb. Hemost.*, 1986, 12,79-86.
18. Smeenk R., Lelij G., Aarden L. Avidity of antibodies to dsDNA: comparison IFT on *Crithidia luciliae*. Farr assay and PEG assay. *J. Immunol.*, 1982 b, 128, 73-81.
19. Tan E.N., Cohen A.S., Fries J.F. et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthr. Rheum.*, 1982, 25, 1271.
20. Tertov V.V., Orekhov A.N., Nikitina N.A. et al. Peritoneal macrophages: a model for detecting atherogenic potential in patients' blood serum. *Ann. Med.*, 1989, 21 (6), 455-459.
21. Tertov V.V., Orekhov A.N., Ryong L.N., Smirnov V.N. Intracellular cholesterol accumulation is accompanied by enhanced proliferative activity of human aortic intimal cell. *Tissue Cell*, 1988, 20, 849-851.

**Abstract**

**Atherogenic effect of systemic lupus erythematosus pts blood serum.**

Z.S. Alekberova, E.V. Gerasimova, I.A. Sobenin

**Objective.** To study relation of SLE pts blood serum atherogenicity to disease activity and corticosteroids (CS) administration.

**Methods.** 40 young women with SLE were included. 20 of them did not received CS (group 1) and 20 were treated with small doses of CS (<15 mg/day) for a long time (group 2). Duration of the disease was longer in group 2 and SLEDAI indexes were higher in group 1. Control group consisted of 20 healthy women. Serum atherogenicity was examined in BALB/c mice peritoneal macrophages culture by accumulation of intracellular cholesterol (CH) induced by pts blood serum.

**Results.** Most of pts blood serum (90%) and only 15% control blood serum possessed atherogenic potential causing 2-fold rise of intracellular cholesterol level. Frequency of serum atherogenic activity in pts having SLE for a long time was higher. Serum atherogenic activity in group 1 was higher than in group 2 (221±13% and 185±11% respectively, p=0,044). Atherogenicity correlated with SLEDAI index (r=0,82, p=0,04). No correlation was found between atherogenicity and lipid fractions.

**Conclusion.** Serum atherogenicity is directly dependent on disease activity what shows the significance of immunological changes in atherogenesis in SLE pts

**Key words:** *systemic lupus erythematosus, atherogenicity, atherosclerosis*