Биомедицинская химия, 2016 том 62, вып. 4, с. 391-402.

УДК 575.577.2:616.577.2:579
©Коллектив авторов

АТЕРОГЕННЫЕ МОДИФИКАЦИИ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ

В.Н. Сухоруков[1]*, В.П. Карагодин[2], А.Н. Орехов[1,3]

[1]Лаборатория ангиопатологии НИИ общей патологии и патофизиологии,
125315, Москва, ул. Балтийская, 8; тел.: +7(499)1511756; факс: +7(495)6012366; эл. почта: niiopp@mail.ru
[2]Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, 117997, Москва, Стремянный переулок, 36
[3]НИИ атеросклероза (Сколково), а/я №21, 121609, Москва

Одним из наиболее ранних проявлений атеросклероза является вне- и внутриклеточное отложение липидов, преимущественно эфиров холестерина, в артериальной интиме. В крови человека были обнаружены модифицированные липопротеины низкой плотности (ЛНП), которые, как предполагается, и вызывают накопление липидов в артериальной стенке, то есть являются атерогенными. В предлагаемом обзоре рассмотрены функциональные особенности и роль в атерогенезе важнейших разновидностей модифицированных ЛНП: окисленных ЛНП, мелких плотных ЛНП, электроотрицательных и, особенно, десиалированных ЛНП. Атерогенные ЛНП обладают многочисленными изменениями углеводного, белкового и липидного компонентов и могут быть названы множественно-модифицированными ЛНП. Множественные модификации ЛНП происходят в плазме человеческой крови и представляют собой каскад последовательных изменений в липопротеиновой частице: десиалирование, потеря липидов, уменьшение размера частиц, увеличение поверхностного электроотрицательного заряда и т.д. Авторы склонны считать и приводят доказательства того, что именно десиалирование является ключевым и первичным звеном этих изменений и дальнейшего развития патологии в клетках интимы. Помимо внутриклеточного накопления липидов, в работе представлены механизмы усиления потенциала атерогенности множественно-модифицированных ЛНП: влияние на пролиферацию клеток и фиброз, образование циркулирующих иммунных комплексов и агрегатов ЛНП.

Ключевые слова: атерогенность, атеросклероз, десиалирование, внутриклеточное накопление липидов, липопротеины низкой плотности, окисление, *транс*-сиалидаза

DOI 10.18097/PBMC20166204391

ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее ранних проявлений атеросклероза является вне- и внутриклеточное отложение липидов, преимущественно эфиров холестерина, в артериальной интиме [1-4]. Формирование пенистых клеток принято считать начальным моментом патогенеза атеросклероза [5, 6]. К концу 1970-х годов было обнаружено, что липопротеины низкой плотности (ЛНП), циркулирующие в крови человека, являются источником липидов, накапливающихся в сосудистых клетках [7, 8]. До открытия способности накопления эфиров холестерина макрофагами с помощью пиноцитоза [9], единственным способом индуцировать отложение липидов в клетках было использование *in vitro* химически модифицированных ЛНП (ацетилированных, обработанных малоновым диальдегидом, окисленных ионами металлов переходной валентности и т.д.) [8, 10-12]. При этом, попытки обнаружить в крови ЛНП, сходных с модифицированными *in vitro* ЛНП, были безуспешными до тех пор, пока не были открыты и охарактеризованы циркулирующие в крови модифицированные ЛНП.

В предлагаемом обзоре рассмотрены функциональные особенности и роль в атерогенезе важнейших разновидностей модифицированных ЛНП.

1. ВИДЫ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛНП

1.1. Окисленные ЛНП

В настоящее время в PubMed содержится более 8000 статей, индексируемых по “oxidized LDL” (окисленные ЛНП), и почти 4000 статей, индексируемых по “oxidized LDL and atherosclerosis” (окисленные ЛНП и атеросклероз). По этой теме написаны сотни обзоров, таким образом, нет необходимости подробно останавливаться на окислительной модификации ЛНП. Представлению о решающей роли окисленных ЛНП прежде всего способствовал Steinbrecher со своими коллегами, которые установили, что ЛНП, при совместной инкубации с культивируемыми клетками, претерпевают окислительные модификации, катализируемые свободными радикалами, что приводит к образованию перекисей липидов и к обширным структурным изменениям в молекуле ЛНП [11].

Другие исследователи сообщали, что инкубация с окисленными ЛНП приводит к увеличению содержания эфира холестерина, тогда как при инкубации с нативными ЛНП в культивируемых перитонеальных макрофагах мышей не происходит накопление холестерина [13]. В настоящее время общепризнанно, что окисленные ЛНП вызывают накопление липидов в артериальной стенке и запускают атерогенез [14-16]. Представления

* - адресат для переписки

о ключевой роли окисленных ЛНП в атерогенезе основываются на следующих аргументах.

1. В крови были найдены аутоантитела против модифицированных малоновым альдегидом (липопротеин (а)-ЛНП) [17].

2. Антитела против искусственно окисленных ЛНП распознают материал в атеросклеротических поражениях, где ЛНП также солокализуются с продуктами окисления [18].

3. Как минимум, часть ЛНП, выделенных из атеросклеротических поражений, похожа на окислительно-модифицированные ЛНП [19].

Следует заметить, что циркулирующие антитела, проявляющие сродство к окисленным ЛНП, при этом имеют более высокое сродство к десиалированным ЛНП [20]. Таким образом, аутоантитела анти-ЛНП, которые прежде всего реагируют с десиалированными ЛНП, показывают перекрёстную реактивность с окисленными ЛНП. Из-за более высокого сродства к десиалированным ЛНП, можно сделать вывод, что аутоантитела образуются в ответ на появление десиалированных ЛНП, а не окисленных ЛНП [21]. Эти и другие факты заставляют усомниться в том, что окислительная модификация ЛНП является единственной атерогенной модификацией *in vivo*, ответственной за возникновение и развитие атеросклеротических поражений. К тому же, в крови была обнаружена реально существующая атерогенная модификация ЛНП (речь о которой пойдет ниже), что незаслуженно привлекло к себе гораздо меньше внимания.

Если есть необходимость обнаружить модифицированные ЛНП в крови, то наиболее предпочтительный способ – искать их в крови больных атеросклерозом. На первом этапе выделяют ЛНП из крови здоровых лиц и пациентов с ангиографически документированным атеросклерозом с целью найти ЛНП, способные вызывать накопление липидов в артериальных клетках. Способность ЛНП индуцировать внутриклеточное отложение липидов была протестирована на первичной культуре гладкомышечных α-актин-положительных клеток интимы аорты человека (типичных гладкомышечных клетках и перицито-подобных клетках), то есть, на тех клетках, которые накапливают липиды при атеросклерозе [22].

Семидневные культуры гладкомышечных α-актин положительных клеток (SMA(+) клеток) из пораженной интимы аорты человека инкубировали 24 ч в среде 199, содержащей 10% дефицитной по липопротеинам сыворотки здорового донора и ЛНП в концентрации 5-500 мкг по аполипопротеину В (апоВ)/мл. В большинстве случаев суммарные ЛНП крови здоровых лиц не вызывали внутриклеточного отложения фосфолипидов, а также нейтральных липидов [23], тогда как большинство образцов ЛНП, выделенных из плазмы крови пациентов с коронарным атеросклерозом, вызывали 1,5-кратное увеличение содержания свободного холестерина и триглицеридов, а также 1,5-5-кратное накопление этерифицированного холестерина. Дальнейшее увеличение концентрации ЛНП не приводило к увеличению внутриклеточного уровня липидов. Таким образом, было обнаружено, что большинство образцов ЛНП, полученных из крови пациентов больных атеросклерозом, но не здоровых лиц, способны вызывать накопление липидов в клетках сосудов человека. Это свойство ЛНП было названо атерогенностью [23].

1.2. Мелкие плотные ЛНП (мпЛНП)

При разделении в градиентном гель-электрофорезе выявляется четыре подкласса ЛНП: большие, промежуточные, маленькие и очень маленькие ЛНП [24]. В происхождении подфракций ЛНП нет полной ясности. Из печени секретируются два типа предшественников, называемых апоВ-липопротеинами, богатых и бедных триглицеридами [25]. Предполагается, что бедные триглицеридами липопротеины являются предшественниками подфракций больших ЛНП, тогда как богатые триглицеридами липопротеины являются предшественниками подфракций мпЛНП. Это объясняет метаболический путь образования мпЛНП из предшественников, секретируемых в печени, и согласуется с данными клинических исследований [25]. Кроме того, метаболизм мпЛНП зависит от генетических факторов, которые могут быть учтены при разработке новых терапевтических стратегий [26, 27].

Время существования у мпЛНП больше, чем у больших ЛНП, удаляемых из кровотока при помощи рецепторов к ЛНП [28, 29]. Внутриклеточное накопление холестерина с образованием пенистых клеток является ключевым процессом, который приводит к образованию и росту атеросклеротических поражений в артериальной стенке. Главным источником холестерина являются ЛНП. Многие исследователи сообщают, что нативные ЛНП не вызывают накопление липидов в культивируемых клетках, тогда как модифицированные ЛНП высоко атерогенны [30]. Окисление является одной из предложенных атерогенных модификаций ЛНП [31]. Сообщалось, что мпЛНП содержат меньше витаминов-антиоксидантов и, следовательно, более восприимчивы к окислению, чем большие формы ЛНП [32].

1.3. Электроотрицательные ЛНП

Другой формой циркулирующих модифицированных ЛНП являются электроотрицательные ЛНП (ЛНП(-)), которые могут быть выявлены при помощи электрофореза в агарозном геле, изотахофореза или ионообменной хроматографии [33, 34]. Атерогенная фракция ЛНП(-) впервые была выделена с использованием ионно-обменной хроматографии [34]. В дополнение к анионообменной хроматографии, для выделения и анализа ЛНП(-) использовался капиллярный изотахофорез [35].

Описано пять подфракций ЛНП(-) с различной степенью электроотрицательности [36, 37]. Уровень большинства электроотрицательных подфракций

в плазме ассоциируется с риском сердечно-сосудистых заболеваний, включая курение, гиперхолестеринемию, диабет второго типа и инфаркт миокарда [38-41].

ЛНП(-) частицы обладают тенденцией к агрегации [34]. Агрегация ЛНП(-) была подробно исследована [42]. Как известно, объединение частиц ЛНП приводит к их атерогенности, то есть к способности ЛНП вызывать накопление внутриклеточного холестерина [43, 44]. Неправильная укладка аполипопротеина является решающим фактором, ответственным за агрегацию ЛНП(-) [45]. В ЛНП(-) вторичная структура аполипопротеина В (апоВ) нарушена, и остатки триптофана аномально экспонированы в водную среду [42, 46]. При помощи двухмерной ядерной магнитно-резонансной спектроскопии (2D-NMR) было продемонстрировано, что множество остатков лизина в ЛНП(-) по-разному ионизированы [47]. Изменения в липидном составе частиц ЛНП(-) меняют их поверхностные свойства, что также может приводить их к способности агрегировать [48, 49].

Неправильно свёрнутая белковая часть частиц ЛНП(-) приводит к снижению аффинности к специфическому рецептору ЛНП и увеличению времени циркуляции ЛНП(-) [50]. Однако, наиболее электроотрицательная фракция ЛНП(-) связывается с лектин-подобным рецептором окисленных ЛНП-1 (LOX-1) [38, 51]. Эта подфракция ЛНП(-) вызывает атерогенные проявления в клетках: повышает производство активных форм кислорода (АФК) в культивируемых эндотелиальных клетках, а также уровень С-реактивного белка [52].

Таким образом, ЛНП(-) могут активировать воспаление и иммунный ответ, необходимые для атерогенеза. Из-за связывания с протеогликанами происходит удерживание ЛНП(-) в субэндотелиальной интиме. ЛНП(-) проявляют цитотоксический эффект на эндотелиальных клетках, вызывая апоптоз и продукцию провоспалительных молекул, таких как ИЛ-8, MCP-1 и VCAM-1 [53-55]. Таким образом, накопленные данные свидетельствуют о проатерогенных и провоспалительных свойствах ЛНП(-).

1.4. Десиалированные ЛНП

Для выяснения причин атерогенности ЛНП была предпринята попытка найти различия между атерогенными ЛНП, циркулирующими в крови пациентов, и неатерогенными ЛНП здоровых лиц. При сравнении атерогенных и неатерогенных ЛНП было обнаружено значительное различие в содержании сиаловой кислоты. Общее содержание сиаловой кислоты (N-ацетилнейраминовой кислоты) в ЛНП пациентов с коронарным атеросклерозом было в 2-3 раза меньше, чем в ЛНП здоровых лиц. ЛНП с низким уровнем сиаловой кислоты были названы десиалированными липопротеинами [23].

Сиаловая кислота является концевым моносахаридом, входящим в состав аспарагин-связанных биантенных углеводных цепей апобелка ЛНП [56]. После удаления сиаловой кислоты концевым сахаром становится галактоза. Этот факт был использован для выделения десиалированных ЛНП из суммарных ЛНП с помощью агглютинина *Ricinus communis* (RCA120), обладающего высоким сродством к терминальной галактозе [22]. Этот подход позволил выделить подфракции как сиалированных, так и десиалированных ЛНП из образца суммарных ЛНП крови больных. Кроме того, было обнаружено, что десиалированные частицы ЛНП представляют собой лишь некоторую часть всех частиц ЛНП, циркулирующих в крови больных. При помощи афинной хроматографии с иммобилизованным лектином, а также твёрдофазного лектиноферментного анализа было показано, что доля десиалированных ЛНП в крови пациентов обычно варьирует в пределах 20-60% от общего уровня ЛНП, тогда как у здоровых людей эта доля варьирует в пределах от 5 до 15% [57]. Содержание сиаловой кислоты во фракции десиалированных ЛНП было в 2-3 раза ниже, чем в сиалированных ЛНП [22].

В дополнение, была проведена оценка атерогенного потенциала сиалированных и десиалированных подфракций ЛНП. Инкубация SMA(+) клеток из интимы аорты человека с подфракцией сиалированных ЛНП не влияла на внутриклеточное содержание фосфолипидов и нейтральных липидов [22, 58]. Подфракция десиалированных ЛНП увеличивала в 1,5-2 раза внутриклеточное содержание неэтерифицированного холестерина и триглицеридов и в 2-7 раз – эфиров холестерина [22]. Следовательно, только десиалированная подфракция ЛНП является атерогенной. Сиалированные ЛНП атерогенными свойствами не обладают и могут рассматриваться как нативные немодифицированные ЛНП. Таким образом, в крови человека была обнаружена и выделена подфракция циркулирующих модифицированных (десиалированных) ЛНП, способная вызывать накопление липидов в субэндотелиальных клетках интимы аорты человека.

Десиалирование является атерогенной модификацией ЛНП *in vivo*, которая осуществляется в крови *транс*-сиалидазой [22]. Этот фермент переносит концевую сиаловую кислоту от частицы ЛНП к различным акцепторам плазмы [56]. Инкубация нативных ЛНП с плазмой крови больных атеросклерозом приводит к постепенному десиалированию частиц ЛНП [22]. Десиалирование является первичной или одной из первых атерогенных модификаций частиц ЛНП. Было обнаружено, что более 98% сиаловой кислоты, удаляемой из ЛНП, находится во фракции, связанной с белком, а не в свободной форме [22]. Таким образом, фермент, удаляющий сиаловую кислоту из ЛНП, переносит её на другие акцепторы в плазме, то есть является *транс*-сиалидазой. Подробно свойства этого фермента рассмотрены в обзоре [22].

Физиологическая роль *транс*-сиалидазы плазмы крови человека неизвестна. Фермент, по-видимому, может участвовать в процессах, зависящих от сиалирования и десиалирования различных клеточных и неклеточных компонентов. *Транс*-сиалидаза способна модулировать активность ферментов плазмы, изменять продолжительность

жизни гликопротеинов, липопротеинов и клеток, влиять на межклеточные взаимодействия и т.д. [59, 60]. *Транс*-сиалидаза может играть очень важную роль в атерогенезе как фактор атерогенной модификации ЛНП. Транс-сиалидаза изменяет взаимодействие липопротеинов с артериальными клетками. Десиалированные *транс*-сиалидазой ЛНП вызывают внутриклеточное накопление липидов, сопровождающиеся стимуляцией пролиферативной активности и синтезом внеклеточного матрикса [22]. Таким образом, вызванное *транс*-сиалидазой десиалирование ЛНП приводит ко всем известным клеточным проявлениям атеросклероза.

2. МНОЖЕСТВЕННАЯ МОДИФИКАЦИЯ ЛНП В ПЛАЗМЕ КРОВИ

Как отмечено выше, в крови человека были найдены более электроотрицательные ЛНП и мелкие плотные ЛНП [34, 61], и было проведено сравнительное исследование всех модифицированных *in vivo* ЛНП. Было показано, что наиболее электроотрицательными ЛНП, выделяемыми ионообменной хроматографией, являются десиалированные ЛНП [62]. С другой стороны, было показано, что изучаемая подфракция десиалированных ЛНП наиболее электроотрицательна [58, 63]. Оба факта позволяют предполагать, что десиалированные ЛНП и наиболее электроотрицательные ЛНП сходны, если не полностью идентичны. Было обнаружено, что частицы десиалированных ЛНП имеют меньшие размеры и большую плотность, чем нативные ЛНП, то есть являются мпЛНП. С другой стороны, показано, что мпЛНП имеют сниженное содержание сиаловой кислоты, то есть десиалированы [64]. Эти данные свидетельствуют о сходстве двух типов модифицированных ЛНП. Можно предположить, что все описанные фракции модифицированных ЛНП, выделяемые различными методами, состоят из одних и тех же липопротеиновых частиц, подвергшихся множественной модификации.

После демонстрации широкого спектра изменений частиц ЛНП были предприняты попытки выяснить, как осуществляется модификация липопротеинов в организме человека. Инкубация липопротеинов с интактными эндотелиоцитами, гепатоцитами, макрофагами и гладкомышечными клетками или клеточными гомогенатами (24 ч при 37°C) не приводила к изменению физических свойств и химического состава нативных ЛНП [22]. После аналогичной инкубации в цельной крови или плазме, полученной от больных атеросклерозом, содержание сиаловой кислоты в ЛНП было в 2 раза меньше, чем в ЛНП, инкубируемых с цельной кровью или плазмой, полученных от здоровых лиц. При этом наличие лейкоцитов и эритроцитов не влияло на уровень сиаловой кислоты в ЛНП. Следовательно, модификация ЛНП происходит в плазме крови [22, 65].

Очевидно, десиалирование частиц ЛНП, являющееся одним из первых или первичным актом модификации, представляет собой, по-видимому, достаточное условие для появления у них атерогенных свойств. Последующие модификации лишь усиливают атерогенный потенциал ЛНП. Таким образом, было продемонстрировано, что процессы модификации ЛНП, делающие липопротеины атерогенными, могут протекать в плазме крови человека. Следовательно, множественная модификация ЛНП – это каскад последовательных изменений в частице липопротеина: десиалирование, потеря липидов, уменьшение размера частицы, увеличение электроотрицательного заряда, перекисное окисление липидов. Эти представления полностью объясняют обнаружение различных форм модифицированных ЛНП в крови, называемые десиалированными, мелкими плотными, электроотрицательными и окисленными. Вероятно, в такой последовательности и происходит превращение частиц ЛНП в крови. Следует заметить, что, вопреки популярному мнению, окисленная форма модификации ЛНП не только не является единственной формой модификации, но также и не является самой главной модификацией, так как окисление ЛНП происходит на последних стадиях модификации и не приводит к значительному увеличению атерогенного потенциала множественно-модифицированных ЛНП.

3. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ (ДЕСИАЛИРОВАННЫХ) ЛНП

Были исследованы различные свойства подфракции десиалированных ЛНП в сравнении со свойствами нативных ЛНП. Изменения количества того или иного компонента рассчитывалось на белок (апоВ).

3.1. Химический состав

В состав гликоконъюгатов аполипопротеина В человека входят N-ацетил-глюкозамин, галактоза, манноза и сиаловая кислота в молярном соотношении 2:1:2,5:1 [63]. В нативных ЛНП и десиалированных ЛНП здоровых лиц содержание N-ацетил-глюкозамина, галактозы и маннозы в белок-связанных гликоконъюгатах было одинаковым. Уровень N-ацетил-глюкозамина в апоВ нативных ЛНП и десиалированных ЛНП пациентов с коронарным атеросклерозом был одинаков и не отличался от уровня этого моносахарида в подфракциях липопротеинов (ЛНП) здоровых лиц. Содержание галактозы и маннозы в десиалированных ЛНП пациентов было достоверно ниже, чем в нативных ЛНП [66].

Уровень сиаловой кислоты в десиалированных ЛНП здоровых лиц был на 15-30% ниже, чем в нативных ЛНП [66]. Содержание сиаловой кислоты в апоВ нативных ЛНП пациентов было примерно таким же, что и в нативных липопротеинах здоровых лиц. Количество сиаловой кислоты в связанных с белком гликоконъюгатах десиалированных ЛНП было в 2-3 раза ниже, чем в нативных ЛНП [56, 66].

Углеводный состав липидной фракции ЛНП отличается от состава связанных с белком сахаридных цепей отсутствием маннозы и наличием N-ацетил-галактозамина и глюкозы. В некоторых образцах ЛНП обнаруживались также следовые количества фукозы. Содержание липид-связанного N-ацетил-глюкозамина было в 5-9 раз ниже, а галактозы в 1,5-2 раза выше, чем в гликоконъюгатах апоВ. Количество липид-связанной сиаловой кислоты было в 3-5 раз ниже, чем в связанных с белком цепях [66].

Содержание всех нейтральных моносахаридов (N-ацетил-галактозамина, N-ацетил-глюкозамина, галактозы и глюкозы) в липид-связанных гликоконъюгатах десиалированных ЛНП здоровых лиц было в 1,5 раза ниже, чем в нативных ЛНП [63]. Содержание липид-связанных N-ацетил-галактозамина и N-ацетил-глюкозамина в десиалированных ЛНП было ниже, чем в нативных ЛНП, тогда как уровень галактозы и глюкозы был сходен. Количество как нейтральных сахаров, так и сиаловой кислоты в липидной фракции десиалированных ЛНП пациентов было в 1,5-3 раза ниже, чем в нативных ЛНП.

Определение содержания основных классов нейтральных липидов в нативных и десиалированных ЛНП показало, что уровень свободного и этерифицированного холестерина и триглицеридов в десиалированной подфракции ЛНП был на 30-40% ниже по сравнению с нативными ЛНП [22, 66]. Количество моноглицеридов и свободных жирных кислот в десиалированных ЛНП было в 1,5 раза выше, чем во фракции нативных ЛНП. Содержание свободного и этерифицированного холестерина, а также триглицеридов в десиалированных ЛНП было в 1,5-2 раза ниже, чем в нативных ЛНП. Уровень моно- и диглицеридов, а также свободных жирных кислот в десиалированных ЛНП был в 3-4 раза выше, чем в нативных ЛНП.

В десиалированных ЛНП снижено содержание фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина и сфингомиелина, тогда как содержание лизофосфатидилхолина увеличено, по сравнению с нативными ЛНП [22, 66].

Полученные данные свидетельствуют о том, что десиалированные ЛНП существенно отличаются от нативных ЛНП по углеводному и липидному составу.

3.2. Степень окисленности и окисляемость

Традиционно о степени окисленности липопротеинов судят по уровню гидроперекисей или продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) как соединений, образующихся в ходе перекисного окисления липидов. Однако, химическая нестабильность и гидрофильность этих соединений приводит к их удалению из липопротеиновой частицы в ходе выделения и очистки ЛНП. Для оценки степени окисленности ЛНП был разработан принципиально новый подход [67], основанный на предположении, что образующиеся во время перекисного окисления химически активные производные липидов могут ковалентно связываться с апобелком В и служить, таким образом, маркером протекания окислительных процессов в липопротеиновой частице. С помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и ядерного магнитного резонанса было продемонстрировано наличие ковалентно связанных с апоВ стеринов (преимущественно, холестерина) и фосфатов в делипидированных ЛНП, окисленных с помощью ионов переменной валентности, азо-инициаторов, гипохлорита натрия или культивируемых клеток [67]. Свежевыделенные ЛНП здоровых лиц не содержали аддуктов липидов с апоВ. В отличие от других показателей, применяемых для оценки интенсивности протекания перекисного окисления липидов в ЛНП, уровень ковалентно-связанного с апоВ холестерина в окисляемых ЛНП является монотонной функцией [67]. Таким образом, содержание апоВ-связанного холестерина в ЛНП является параметром, отражающим степень окисленности ЛНП.

Содержание апоВ-связанного холестерина в нативных ЛНП и десиалированных ЛНП здоровых лиц составляло 0,25±0,08 и 0,28±0,05 моль/моль апоВ, соответственно. [58] Уровень апоВ-связанного холестерина в нативных ЛНП пациентов с коронарным атеросклерозом не отличался значимо от его уровня в нативных липопротеинах здоровых лиц. Содержание апоВ-связанного холестерина в десиалированных ЛНП пациентов было в 7 раз выше, чем в нативных ЛНП. Таким образом, десиалированные ЛНП пациентов с коронарным атеросклерозом являются окисленными липопротеинами. Десиалированные ЛНП содержат в 2-4 раза больше оксистеринов, чем нативные ЛНП [58]. Эти данные могут служить подтверждением большей окисленности десиалированных ЛНП.

Помимо повышенной степени *in vivo* окисленности, десиалированные ЛНП обладают большей предрасположенностью к окислению *in vitro*. *In vitro* окисляемость ЛНП оценивали по длительности периода индукции (lag-phase) при Cu^{2+}-зависимом окислении липопротеинов [68]. Средняя длительность индукционного периода окисления нативных ЛНП здоровых лиц и пациентов достоверно не различалась. Продолжительность индукционного периода окисления десиалированных ЛНП здоровых лиц и пациентов была достоверно меньше по сравнению с нативными ЛНП (в 3 и 6 раз, соответственно), что говорит об большей предрасположенности десиалированных ЛНП к *in vitro* окислению. Необходимо отметить, что окисляемость суммарных препаратов ЛНП здоровых лиц и пациентов с коронарным атеросклерозом прямо коррелировала с долей десиалированных ЛНП в них [22].

Для выяснения вопроса о причинах повышенной *in vivo* окисляемости и окисленности десиалированных ЛНП было исследовано содержание основных жирорастворимых антиоксидантов в липопротеиновых частицах, и проведён корреляционный анализ между обнаруженным уровнем коэнзима Q_{10}, токоферолов и каротиноидов и уровнем апоВ-связанного холестерина, а также величиной периода индукции окисления ЛНП [69]. Содержание всех исследованных антиоксидантов

(коэнзима Q_{10}, α- и γ-токоферолов, β-каротина и ликопина) в десиалированных ЛНП было в 1,5-2 раза ниже, чем в нативных ЛНП. Уровень апоВ-связанного холестерина в десиалированных ЛНП, отражающего степень окисленности липопротеинов, прямо коррелировал с содержанием убихинона и был связан обратной корреляционной зависимостью с уровнем убихинола и β-каротина. С другой стороны, содержание апоВ-связанного холестерина в нативных ЛНП прямо коррелировало с уровнем убихинола [65]. Длительность индукционного периода окисления десиалированных ЛНП была связана прямой корреляционной зависимостью с уровнем α-токоферола и β-каротина и обратной с содержанием убихинона. Напротив, окисляемость нативных ЛПН прямо коррелировала с уровнем убихинона.

Анализ полученных данных позволяет сделать ряд выводов: а) содержание всех исследованных липид-растворимых антиоксидантов в десиалированных ЛНП ниже, чем в нативных липопротеинах; б) этот факт определяет повышенную окисляемость десиалированных ЛНП; в) коэнзим Q_{10} может играть прооксидантную роль в подфракции нативных ЛНП; г) протекание *in vivo* процессов перекисного окисления липидов в десиалированных ЛНП подтверждается высоким удельным содержанием в них окисленной формы коэнзима Q_{10}; д) степень *in vivo* окисленности десиалированных ЛНП коррелирует с окислением убихинола и потерей каротиноидов.

4. МЕТАБОЛИЗМ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ (ДЕСИАЛИРОВАННЫХ) ЛНП В SMA(+) КЛЕТКАХ ИНТИМЫ АОРТЫ ЧЕЛОВЕКА

Для выяснения механизмов накопления внутриклеточных липидов, вызванного десиалированными ЛНП, были использованы следующие подходы: 1) изучение связывания клеточной поверхностью (проводилось на клетках в условиях, препятствующих интернализации ЛНП), захвата (под захваченными липопротеинами подразумевали ЛНП, связанные поверхностно-экспрессированными рецепторами и ЛНП, интернализованные внутрь клетки) и деградации ^{125}I-меченого ЛНП в SMA(+) клетках нормальной и атеросклеротической интимы аорты человека, и 2) изучение скоростей гидролиза и этерификации радиоактивно-меченых липидов, включённых в частицы ЛНП [22].

4.1. Связывание клеточной поверхностью и захват ^{125}I-ЛНП SMA(+) клетками интимы аорты человека

Захват иод-меченых нативных ЛНП клетками, культивируемыми из непоражённой и атеросклеротической интимы, был одинаковым (табл. 1). Захват десиалированных ЛНП клетками нормальной интимы превосходил захват нативных ЛНП в 2,5 раза. Захват десиалированных ЛНП клетками, полученными из жировых полос и атеросклеротических бляшек, в 6 раз превышал захват нативных ЛНП. Усиленный захват десиалированных ЛНП, очевидно, обусловлен их повышенным связыванием с компонентами клеточной поверхности. Которое было в 2-3 раза выше, чем связывание нативных липопротеинов (табл. 1). Связывание десиалированных ЛНП не имеет насыщения, что указывает на наличие дополнительных мест связывания с низкой аффинностью [22]. Было обнаружено, что связывание иод-меченых ЛНП клетками лишь частично подавлялось 20-кратным избытком немеченых нативных ЛНП и антителами против рецептора к нативным ЛНП (C_7). Эти данные подтверждают наличие дополнительных мест связывания модифицированных липопротеинов.

Доступность у десиалированных ЛНП концевой галактозы позволяло предположить, что модифицированные липопротеины могут связываться с асиалогликопротеиновым рецептором. Было обнаружено, что 50 мМ галактоза, а также обработанный нейраминидазой фетуин подавляли связывание десиалированных ЛНП гладкомышечными клетками из интимы аорты человека и не подавляли связывание нативных ЛНП клетками. Эти результаты демонстрируют способность десиалированных ЛНП связываться с асиалогликопротеиновым рецептором сосудистых SMA(+) клеток. Для проверки возможности связывания десиалированных ЛНП со скавенджер-рецептором SMA(+) клеток интимы

Таблица 1. Связывание, захват и деградация нативных и десиалированных ЛНП SMA(+) клетками, культивируемыми из непораженной и атеросклеротической интимы аорты человека

ЛНП	Связывание ЛНП	Захват ЛНП	Деградация ЛНП
	нг/мг клеточного белка		
	Непоражённая интима		
Нативные ЛНП	95±4	1148±84	6248±345
Десиалированные ЛНП	178±6*	2658±187*	3905±307*
	Липидная полоса		
Нативные ЛНП	98±6	1215±106	4148±189
Десиалированные ЛНП	315±21*	6178±187*	1764±168*
	Атеросклеротическая бляшка		
Нативные ЛНП	97±8	1108±109	4207±223
Десиалированные ЛНП	307±20*	6095±194*	1605±93*

Примечание: * - достоверное отличие от нативных ЛНП, $p<0,05$.

аорты ^{125}I-ЛНП инкубировали с 20-кратным избытком немеченых ацетилированных ЛНП. Ацетилированные ЛНП подавляли на 35% связывание немеченых десиалированных ЛНП, но не влияли на связывание нативных ЛНП. С другой стороны, 20-кратный избыток немеченых десиалированных ЛНП ингибировал на 30% связывание ацетилированых ^{125}I-ЛНП. Таким образом, десиалированные ЛНП способны конкурировать с ацетилированными ЛНП за связывание со скавенджер-рецептором. Взаимодействие десиалированных ЛНП с димером и тримером скавенджер-рецептора макрофагов THP-1 человека было обнаружено с помощью метода иммуноблоттинга [58]. Все это свидетельствует о том, что десиалированные ЛНП взаимодействуют со скавенджер-рецептором гладкомышечных клеток и макрофагов.

Для выявления связывания ЛНП с клеточными протеогликанами SMA(+) клетки обрабатывали ферментами, гидролизующими их полисахаридные цепи (гиалуронидазой, смесью гепариназы и гепаритиназы, а также хондроитиназой). Обработка клеток гиалуронидазой не влияла на связывание нативных ЛНП как нормальными, так и атеросклеротическими клетками. С другой стороны, связывание десиалированных ЛНП клетками, обработанными гиалуронидазой, было ниже, чем в случае интактных клеток. Обработка клеток смесью гепариназы и гепаритиназы или хондроитиназой ABC вызывала уменьшение связывания десиалированных ЛНП, но не нативных ЛНП. Добавление в инкубационную среду липопротеинлипазы, образующей комплексы как с протеогликанами, так и с ЛНП, не изменяло связывания липопротеинов [70, 71]. Полученные данные свидетельствуют о том, что десиалированные ЛНП, в отличие от нативных липопротеинов, связываются с поверхностными протеогликанами клеток, и это связывание не опосредовано липопротеинлипазой.

Таким образом, увеличенное связывание и захват десиалированных ЛНП клетками могут объясняться их дополнительным связыванием со скавенджер-рецептором, асиалогликопротеид-рецептором, а также клеточными протеогликанами.

4.2. Внутриклеточная деградация аполипопротеина B

Скорость деградации десиалированных ЛНП в нормальных клетках была в 1,5 раза ниже, чем скорость деградации нативных ЛНП [22]. В клетках, культивируемых из жировых полос и атеросклеротических бляшек, различие в скоростях гидролиза нативных ЛНП и десиалированных ЛНП было еще более выраженным. При этом в гомогенатах клеток из жировых полос и атеросклеротических бляшек обнаружено 1,5,-2-кратное снижение активности катепсинов D, B и A по сравнению с клетками, полученными из нормальной интимы [22]. Усиленный захват и низкая скорость внутриклеточной деградации протеолитическими ферментами приводят к тому, что десиалированные ЛНП накапливаются в SMA(+) клетках интимы аорты человека. Это ведёт к появлению в клетке значительного пула липидов (в первую очередь, свободного и этерифицированного холестерина), которые могут служить основой формирования липидных включений.

4.3. Внутриклеточный метаболизм липидов липопротеинов

Для изучения катаболизма эфиров холестерина в состав нативных ЛНП и десиалированных ЛНП частиц был введён ^{3}H-холестериллинолеат [22]. После 24-часовой инкубации с мечеными десиалированными ЛНП внутриклеточная концентрация ^{3}H-холестериллинолеата была в 2 раза больше, чем при инкубации с нативными ЛНП. Доля гидролизованного эфира холестерина нативных ЛНП составляла 80%, доля гидролизованного ^{3}H-холестериллинолеата десиалированных ЛНП составляла 40%. Для измерения скорости этерификации холестерина SMA(+) клетки инкубировали в присутствии ^{14}C-меченой олеиновой кислоты [22]. Было показано, что скорость этерификации холестерина в 2-3 раза выше, чем в случае нативных ЛНП.

Для атеросклеротических клеток внутриклеточная концентрация ^{3}H-холестериллинолеата была в 3-5 раза больше, чем при инкубации с нативными ЛНП, доля гидролизованного эфира холестерина нативных ЛНП составляла 80%, доля гидролизованного ^{3}H-холестериллинолеата десиалированных ЛНП составляла 25%. Скорость этерификации холестерина десиалированных ЛНП в 2-3 раза выше, чем в случае нативных ЛНП. Таким образом, десиалированные ЛНП стимулируют внутриклеточную этерификацию свободного холестерина [21].

5. МЕХАНИЗМЫ УСИЛЕНИЯ АТЕРОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ЛНП

Теоретические расчёты, основанные на экспериментально измеренных скоростях захвата и деградации ЛНП, показывают, что в случае нативных ЛНП время, необходимое клетке нормальной интимы для накопления такого количества холестерина, чтобы стать пенистой, составляет около 130 лет при условии, что весь захваченный холестерин остается внутри клеток [22]. В случае десиалированных ЛНП это время сокращается до 15 лет. Данные ангиографических и ультразвуковых исследований свидетельствуют, что время образования атеросклеротической бляшки, закрывающей половину просвета сонной артерии, может составлять несколько недель или месяцев [22]. Очевидно, что скорость образования пенистых клеток намного больше, чем следует из теоретических расчетов. Таким образом, естественно предположить, что для десиалированных ЛНП могут существовать дополнительные механизмы усиления их атерогенности. Действительно, было обнаружено, по крайней мере, три таких механизма: образование агрегатов липопротеинов, формирование ЛНП-содержащих иммунных комплексов и образование липопротеинами комплексов с компонентами соединительно-тканного матрикса.

5.1. Влияние циркулирующих модифицированных (десиалированных) ЛНП на пролиферативную активность и синтез компонентов соединительно-тканного матрикса

Помимо внутриклеточного накопления липидов, характерными проявлениями атеросклероза на клеточном уровне является повышенная пролиферация и усиленный синтез компонентов соединительно-тканного матрикса гладкомышечными клетками интимального слоя сосудов [62, 72, 73]. Были проведены исследования, оценивающие влияние циркулирующих десиалированных ЛНП на пролиферативную активность, а также на синтез секретируемого белка, коллагена и гликозаминогликанов SMA(+) клетками, культивируемыми из непоражённой интимы аорты человека.

24-часовая инкубация SMA(+) клеток в среде 199, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки, в присутствии 100 мкг/мл нативных ЛНП не оказывала влияния на включение тимидина [62]. Напротив, десиалированные ЛНП в той же концентрации усиливали пролиферативную активность в 1,5-2 раза.

Уровень синтеза белка, секретируемого клетками, оценивался по включению ^{14}C-лейцина в кислотно-нерастворимую фракцию инкубационной среды. Нативные ЛНП не влияли на синтез секретируемого белка. Десиалированные ЛНП стимулировали синтез белка в 1,5-2 раза и вызывали 2-кратное величение синтеза коллагена клетками, определяемого по включению ^{14}C-пролина в высвобождаемую коллагеназой фракцию инкубационной среды [62]. Было продемонстрировано также, что десиалированные ЛНП, но не нативные ЛНП, оказывали стимулирующее воздействие на включение ^{14}C-глюкозамина в суммарную фракцию глюкозаминогликанов SMA(+) клеток интимы аорты человека [62]. Следовательно, в отличие от нативных ЛНП, десиалированные ЛНП ускоряли синтез компонентов соединительно-тканного матрикса.

В исследовании по выяснению механизмов усиления пролиферативной и синтетической активности SMA(+) клеток под действием десиалированных ЛНП были установлены следующие экспериментальные факты: 1) для стимуляции включения меченых тимидина и предшественников компонентов матрикса достаточно преинкубации клеток с десиалированными ЛНП, вызывающими отложение внутриклеточных липидов; 2) степень увеличения пролиферативной и синтетической активности коррелирует с количеством накопленного внутриклеточного холестерина [62, 74]. Таким образом, опосредованное десиалированными ЛНП накопление внутриклеточных липидов является причиной усиления пролиферативной активности и синтеза компонентов соединительно-тканного матрикса. Следовательно, десиалированные ЛНП способны вызывать все известные проявления атеросклероза на клеточном уровне [75].

5.2. Агрегация модифицированных ЛНП

Модифицированные ЛНП *in vivo* и *in vitro* спонтанно агрегируют в условиях культуры клеток, тогда как нативные ЛНП не агрегируют [76]. При этом атерогенные свойства модифицированных ЛНП прямо коррелируют со степенью агрегации липопротеинов [76]. Выделенные с помощью гель-фильтрации агрегаты липопротеинов вызывали драматическое накопление липидов в SMA(+) клетках интимы аорты человека [22]. Удаление агрегатов ЛНП из инкубационной среды с помощью фильтрации через фильтры с диаметром пор 0,1 мкм фактически полностью препятствовало накоплению внутриклеточных липидов. Таким образом, агрегация усиливает атерогенный потенциал ЛНП.

Эксперименты с использованием ^{125}I-меченых агрегатов липопротеинов показали, что скорость захвата агрегатов ЛНП в 5-20 раз превосходит скорость захвата неагрегированных липопротеиновых частиц [77]. Цитохалазин В, ингибитор клеточного фагоцитоза, а также шарики латекса, объект фагоцитоза, подавляли захват агрегатов клетками [76-78]. Эти данные свидетельствуют о том, что захват агрегатов липопротеинов клетками осуществляется путём фагоцитоза. Скорость внутриклеточной деградации апоВ агрегатов модифицированных ЛНП была в 2-5 раз ниже, чем скорость деградации апоВ индивидуальных частиц тех же липопротеинов. Таким образом, высокая атерогенность агрегатов липопротеинов объясняется высокой скоростью их захвата путём фагоцитоза и низкой скоростью внутриклеточной деградации [44].

5.3. Образование циркулирующих иммунных комплексов

Из сыворотки больных атеросклерозом был выделен общий иммуноглобулин G, и иммуноглобулины, взаимодействующие с ЛНП (анти-ЛНП) были затем очищены при помощи аффинной хроматографии на сорбенте с иммобилизованными ЛНП [20]. Из сыворотки больных атеросклерозом выделено больше иммуноглобулинов, взаимодейтвующих с ЛНП, по сравнению со здоровыми лицами [20]. Антитела против ЛНП были обнаружены как у пациентов с различными болезнями, так и у здоровых лиц [79, 80]. В плазме крови человека иммуноглобулины являются основными ЛНП-связанными белками [21, 81].

Как упоминалось выше, в крови обнаружены антитела против МДА-ЛНП [17]. Константа аффинности анти-ЛНП к ЛНП (кровь здоровых лиц) была ниже, чем к модифицированным ЛНП (табл. 2). ЛНП, десиалированные *in vitro* ферментом нейраминидазой, обладали наибольшей константой аффинности среди всех исследованных ЛНП [70, 82, 83].

Можно предположить, что антитела против ЛНП производятся в ответ на появление в крови десиалированных ЛНП. Перекрёстное взаимодействие с МДА-ЛНП может быть объяснено схожей конформацией некоторых эпитопов десиалированных

Таблица 2. Константы аффинности взаимодействия липопротеин-анти-ЛНП#

Липопротеиды	Константа аффинности ($\times 10^{-7}$ M^{-1})	ЛНП-индуцированный прирост холестерина (% над контролем)
ЛНП здоровых лиц	2,4	2±10
Гликозилированные ЛНП	2,6	105±14*
Ацетилированные ЛНП	2,8	163±15*
Cu^{2+}-окисленные ЛНП	3,5	250±18*
Липопротеин (а)	3,6	102±7*
МДА-ЛНП	10,9	305±21*
ЛНП больных атеросклерозом	11,3	246±31*
Десиалированные ЛНП	89,4	290±32*

Примечание: Представлены репрезентативные данные одного из трёх экспериментов. Константа аффинности анти-ЛНП была определена с использованием нативных и ^{125}I-ЛНП с известной специфичной активностью (200-1,000 cpm/ng аполипопротеида В). Известные количества добавленных радиоактивных и нерадиоактивных ЛНП и ^{125}I-ЛНП были использованы для подсчета константы аффинности. * - достоверное различие с ЛНП здоровых лиц ($p<0,05$). # - взято у [22], с разрешением.

ЛНП и МДА-ЛНП. Таким образом, антитела против МДА-ЛНП, обнаруженные Palinski и соавторами [17], и антитела, найденные у больных атеросклерозом [20], скорее всего, являются одними и теми же антителами против десиалированных ЛНП, но не против окисленных ЛНП.

Множественная модификация липопротеиновых частиц предполагает формирование антигенов, против которых могут быть образованы аутоантитела. Действительно, в крови большинства пациентов с коронарным атеросклерозом обнаружены циркулирующие иммунные комплексы, состоящие из ЛНП и анти-ЛНП аутоантител [20, 84-86]. Было показано, что количество ЛНП-содержащих циркулирующих иммунных комплексов прямо коррелирует со степенью развития коронарного атеросклероза и атеросклероза других локализаций [86].

С помощью аффинной хроматографии на агарозе, с иммобилизованными козьими поликлональными антителами против человеческих ЛНП, были выделены ЛНП из циркулирующих иммунных комплексов и изучены их свойства [85]. ЛНП из циркулирующих иммунных комплексов были десиалированными, маленькими, плотными, более электроотрицательными частицами с низким содержанием нейтральных липидов и фосфолипидов и нейтральных сахаров. Также наблюдались конформационные изменения в третичной структуре апоВ. Следовательно, ЛНП из циркулирующих иммунных комплексов идентичны подфракции десиалированных ЛНП.

С помощью аффинной хроматографии на агарозе, с ковалентно-пришитыми ЛНП, из плазмы крови пациентов с коронарным атеросклерозом выделены аутоантитела против модифицированных ЛНП [20, 86]. Эти аутоантитела представляли собой иммуноглобулины класса G с изоэлектрической точкой, близкой к 8,5 (8,1-9,0), взаимодействующие с белковыми, но не липидными, компонентами ЛНП.

Комплексы аутоантител с нативными ЛНП стимулируют накопление липидов в SMA(+) клетках, культивируемых из непоражённой интимы аорты человека. Более того, аутоантитела, образуя комплексы с липопротеинами, усиливают атерогенный потенциал десиалированных ЛНП [20, 21, 86]. Связывание с образованным комплексом ЛНП-аутоантитело компонента комплемента Clq и фибронектина приводило к ещё более выраженному накоплению липидов в SMA(+) клетках интимы аорты человека. Компонент комплемента C1q, как известно, экспрессируется переплетающимися и фолликулярными дендритными клетками селезёнки, в которой C1q, как предполагается, участвует в захвате иммунных комплексов [87, 88]. Антигенпрезентирующие дендритные клетки также находятся в местах атеросклеротического поражения [89-90]. В атеросклеротических поражениях были обнаружены дендритные клетки, экспрессирующие C1q [87]. Помимо выявления поврежденных C1q(+) дендритных клеток, экспрессия C1q была обнаружена в макрофагах, пенистых макрофагах и в неоваскулярных эндотелиальных клетках [87]. Был сделан вывод, что экспрессия C1q клетками, находящимися в стенках артерий, может быть важна для связывания и захвата иммунных комплексов в атеросклеротических поражениях [87].

Взаимодействие мышиных перитонеальных и человеческих перикардиальных макрофагов *in vitro* с иммунными комплексами, содержащими липопротеин-антитело и выделенными из сыворотки крови пациентов с ишемической болезнью сердца, приводит к трансформации макрофагов в пенистые клетки [80]. Анализ с помощью электронной микроскопии макрофагов, инкубируемых *in vitro* в течение трёх дней с иммунными комплексами, содержащими липопротеин-антитело, показал, что цитоплазма макрофагов содержит липидные вакуоли, и что цистерны эндоплазматического ретикулума (ЭПР) были резко увеличены и наполнены липидами. Накопление липидов внутри цистерн ЭПР макрофагов, вероятно, сопровождается стрессом ЭПР, который играет незаменимую роль в патогенезе атеросклероза [91].

5.4. ЛНП-комплексы с компонентами соединительнотканного матрикса

ЛНП способны образовывать комплексы с клеточным дебрисом, коллагеном, эластином и протеогликанами интимы аорты человека [20, 92].

Таблица 3. Схема модификации ЛНП#

1 час	3 часа	6 часов	12 часов	24 часа	36 часов	48 часов
↓ Сиаловая кислота ↑ % десиалиро-ванных ЛНП	↑ Атерогенность	↓ Свободный холестерин	↓ Размер ↓ Эфиры холестерина ↓ Фосфолипиды	↓ Триглицериды	↑ Отрицательный заряд	↑ апоВ-связанный холестерин ↑ Способность к окислению ↑ Флуоресценция ↓ Витамин Е

Примечание: # - взято у [22], с разрешением.

Добавление таких комплексов к культивируемым клеткам стимулировало внутриклеточное накопление липидов. В экспериментах с ^{125}I-мечеными ЛНП было установлено, что липопротеины в составе комплексов захватываются быстрее, а деградируют медленнее, по сравнению с индивидуальными липопротеиновыми частицами.

Таким образом, формирование содержащих десиалированные ЛНП крупных комплексов (агрегатов, иммунных комплексов, комплексов с компонентами соединительно-тканного матрикса) заметно увеличивает атерогенный потенциал модифицированных липопротеинов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённый анализ представленных в литературе и собственных экспериментальных данных позволяет характеризовать особенности строения, свойств и роль модифицированных ЛНП в атерогенезе следующим образом. К настоящему времени наиболее типичными модифицированными ЛНП являются окисленные, мелкие плотные, электроотрицательные и десиалированные ЛНП. Взаимосвязь и взаимодействие между ними носит сложный и не до конца изученный характер, однако в большинстве случаев циркулирующие в крови модифицированные ЛНП имеют признаки всех указанных разновидностей, то есть являются множественно модифицированными. Более того, динамика их образования указывает на десиалирование как важнейший начальный этап модификации ЛНП. Уточнены механизмы накопления внутриклеточных липидов, вызванного десиалированными ЛНП, причём степень их атерогенности коррелирует с содержанием сиаловой кислоты (табл. 3). Вероятнее всего, атерогенность десиалированного ЛНП обусловлена образованием агрегатов ЛНП, формированием ЛНП-содержащих иммунных комплексов и образованием ЛНП-комплексов с компонентами соединительно-тканного матрикса интимы. Дальнейшее развитие представленной в обзоре концепции может быть использовано как в теоретических целях, так и как практическое приложение к решению проблемы профилактики и терапии атеросклероза.

Работа проведена при финансовой поддержке Российской Федерации в лице Минобрнауки России (проект RFMEFI61614X0010).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Matsuura E., Atzeni F., Sarzi-Puttini P., Turiel M., Lopez L.R., Nurmohamed M.T.* (2014) BMC Med, **12**, 47.
2. *Reynolds T.* (2013) J. Clin. Pathol, **66**(11), 918-923.
3. *Nicolaou G., Goodall A.H., Erridge C.* (2012) J. Atheroscler. Thromb., **19**(2), 137-148.
4. *Stephen S.L., Freestone K., Dunn S., Twigg M.W., Homer-Vanniasinkam S., Walker J.H., Wheatcroft S.B., Ponnambalam S.* (2010) Int. J. Hypertens, **2010**, 646929. DOI: 10.4061/2010/646929.
5. *Yu X.H., Zhang J., Zheng X.L., Yang Y.H., Tang C.K.* (2015) Clin. Chim. Acta, **441**, 33-43.
6. *Uitz E., Bahadori B., McCarty M.F., Moghadasian M.H.* (2014) World J. Clin. Cases, **2**(10), 497-506.
7. *Ledet T., Dzoga K.F., Wissler R.W.* (1976) Diabetes, **25**(3), 207-215.
8. *Goldstein J.L., Brown M.S.* (2015) Cell, **161**(1), 161-172.
9. *Kruth H.S., Huang W., Ishii I., Zhang W.Y.* (2002) J. Biol. Chem, **277**(37), 34573-34580.
10. *Shechter I., Fogelman A.M., Haberland M.E., Seager J., Hokom M., Edwards P.A.* (1981) J. Lipid. Res, **22**(1), 63-71.
11. *Steinbrecher U.P., Zhang H.F., Lougheed M.* (1990) Free Radic. Biol. Med, **9**(2), 155-168.
12. *Kreuzer J., White A.L., Knott T.J., Jien M.L., Mehrabian M., Scott J., Young S.G., Haberland M.E.* (1997) J. Lipid. Res., **38**(2), 324-342.
13. *Maor I., Aviram M.* (1994) J Lipid. Res., **35**(5), 803-819.
14. *Trpkovic A., Resanovic I., Stanimirovic J., Radak D., Mousa S.A., Cenic-Milosevic D., Jevremovic D., Isenovic E.R.* (2015) Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., **52**(2), 70-85.
15. *Arai H.* (2014) Subcell Biochem., **77**, 103-114.
16. *Steinberg D., Witztum J.L.* (2010) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., **30**(12), 2311-2316.
17. *Palinski W., Yla-Herttuala S., Rosenfeld M.E., Butler S.W., Socher S.A., Parthasarathy S., Curtiss L.K., Witztum J.L.* (1990) Arteriosclerosis, **10**(3), 325-335.
18. *Fukuchi M., Watanabe J., Kumagai K., Baba S., Shinozaki T., Miura M., Kagaya Y., Shirato K.* (2002) Lab Invest, **82**(10), 1437-1447.
19. *Napoli C., D'Armiento F.P., Mancini F.P., Postiglione A., Witztum J.L., Palumbo G., Palinski W.* (1997) J. Clin. Invest, **100**(11), 2680-2690.

20. *Sobenin I.A., Salonen J.T., Zhelankin A.V., Melnichenko A.A., Kaikkonen J., Bobryshev Y.V., Orekhov A.N.* (2014) Biomed. Res. Int., **2014**, 205697. DOI: 10.1155/2014/205697.
21. *Собенин И.А., Карагодин В.П., Мельниченко А.А., Орехов А.Н.* (2012) Патол. физиол. экспер. тер., №3, 99-103.
22. *Orekhov A.N., Ivanova E.A., Bobryshev Y.V.* (2015) Blood Lipids and Lipoproteins, (Ruiz M., ed.), Nova Science Publishers Inc., pp. 13-54.
23. *Sobenin I.A., Suprun I.V., Karagodin V.P., Feoktistov A.S., Melnichenko A.A., Orekhov A.N.* (2011) J. Lipids, **2011**, 254267. DOI: 10.1155/2011/254267.
24. *Rosenfeld L.* (1989) Arch. Pathol. Lab. Med., **113**(10), 1101-1110.
25. *Berneis K.K., Krauss R.M.* (2002) J. Lipid. Res., **43**(9), 1363-1379.
26. *Musunuru K., Orho-Melander M., Caulfield M.P., Li S., Salameh W.A., Reitz R.E., Berglund G., Hedblad B., Engstrom G., Williams P.T., Kathiresan S., Melander O., Krauss R.M.* (2009) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., **29**(11), 1975-1980.
27. *Musunuru K., Strong A., Frank-Kamenetsky M., Lee N.E., Ahfeldt T., Sachs K.V., Li X., Li H., Kuperwasser N., Ruda V.M. et al.* (2010) Nature, **466**(7307), 714-719.
28. *Packard C., Caslake M., Shepherd J.* (2000) Int. J. Cardiol., **74 Suppl 1**, S17-22.
29. *Griffin B.A.* (1999) Proc. Nutr. Soc., **58**(1), 163-169.
30. *Krauss R.M.* (1995) Am. J. Cardiol., **75**(6), 53B-57B.
31. *Deckelbaum R.J., Galeano N.F.* (1996) Isr. J. Med. Sci., **32**(6), 464-468.
32. *Tribble D.L., Rizzo M., Chait A., Lewis D.M., Blanche P.J., Krauss R.M.* (2001) Am. J. Med., **110**(2), 103-110.
33. *Hoff H.F., Gaubatz J.W.* (1982) Atherosclerosis, **42**(2-3), 273-297.
34. *Estruch M., Sanchez-Quesada J.L., Ordonez Llanos J., Benitez S.* (2013) Mediators. Inflamm., **2013**, 181324. DOI: 10.1155/2013/181324.
35. *Schmitz G., Mollers C., Richter V.* (1997) Electrophoresis, **18**(10), 1807-1813.
36. *Chen C.H., Jiang T., Yang J.H., Jiang W., Lu J., Marathe G.K., Pownall H.J., Ballantyne C.M., McIntyre T.M., Henry P.D., Yang C.Y.* (2003) Circulation, **107**(16), 2102-2108.
37. *Yang C.Y., Raya J.L., Chen H.H., Chen C.H., Abe Y., Pownall H.J., Taylor A.A., Smith C.V.* (2003) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., **23**(6), 1083-1090.
38. *Tang D., Lu J., Walterscheid J.P., Chen H.H., Engler D.A., Sawamura T., Chang P.Y., Safi H.J., Yang C.Y., Chen C.H.* (2008) J. Lipid. Res., **49**(1), 33-47.
39. *Бородачев Е.Н., Собенин И.А., Карагодин В.П., Бобрышев Ю.В., Орехов А.Н.* (2013) Патогенез **11**(4), 16-21.
40. *Chan H.C., Ke L.Y., Chu C.S., Lee A.S., Shen M.Y., Cruz M.A., Hsu J.F., Cheng K.H., Chan H.C., Lu J., Lai W.T., Sawamura T., Sheu S.H., Yen J.H., Chen C.H.* (2013) Blood, **122**(22), 3632-3641.
41. *Chang P.Y., Chen Y.J., Chang F.H., Lu J., Huang W.H., Yang T.C., Lee Y.T., Chang S.F., Lu S.C., Chen C.H.* (2013) Cardiovasc. Res., **99**(1), 137-145.
42. *Parasassi T., De Spirito M., Mei G., Brunelli R., Greco G., Lenzi L., Maulucci G., Nicolai E., Papi M., Arcovito G., Tosatto S.C., Ursini F.* (2008) FASEB J, **22**(7), 2350-2356.
43. *Aksenov D.V., Medvedeva L.A., Skalbe T.A., Sobenin I.A., Tertov V.V., Gabbasov Z.A., Popov E.V., Orekhov A.N.* (2008) Arch. Physio.l Biochem., **114**(5), 349-356.
44. *Мельниченко А.А., Аксенов Д.В., Ярославов А.А., Карагодин В.П., Собенин И.А., Орехов А.Н.* (2012) Патогенез, **10**(4), 52-55.
45. *Brunelli R., Balogh G., Costa G., De Spirito M., Greco G., Mei G., Nicolai E., Vigh L., Ursini F., Parasassi T.* (2010) Biochemistry, **49**(34), 7297-7302.
46. *Parasassi T., Bittolo-Bon G., Brunelli R., Cazzolato G., Krasnowska E.K., Mei G., Sevanian A., Ursini F.* (2001) Free Radic. Biol. Med., **31**(1), 82-89.
47. *Blanco F.J., Villegas S., Benitez S., Bancells C., Diercks T., Ordonez-Llanos J., Sanchez-Quesada J.L.* (2010) J. Lipid. Res., **51**(6), 1560-1565.
48. *Benitez S., Sanchez-Quesada J.L., Lucero L., Arcelus R., Ribas V., Jorba O., Castellvi A., Alonso E., Blanco-Vaca F., Ordonez-Llanos J.* (2002) Atherosclerosis, **160**(1), 223-232.
49. *Jayaraman S., Gantz D.L., Gursky O.* (2011) J. Lipid Res., **52**(3), 549-557.
50. *Urata J., Ikeda S., Koga S., Nakata T., Yasunaga T., Sonoda K., Koide Y., Ashizawa N., Kohno S., Maemura K.* (2012) Heart Vessels, **27**(3), 235-242.
51. *Lu J., Yang J.H., Burns A.R., Chen H.H., Tang D., Walterscheid J.P., Suzuki S., Yang C.Y., Sawamura T., Chen C.H.* (2009) Circ. Res., **104**(5), 619-627.
52. *Chu C.S., Wang Y.C., Lu L.S., Walton B., Yilmaz H.R., Huang R.Y., Sawamura T., Dixon R.A., Lai W.T., Chen C.H., Lu J.* (2013) PLoS One, **8**(8), e70533.
53. *Greco G., Balogh G., Brunelli R., Costa G., De Spirito M., Lenzi L., Mei G., Ursini F., Parasassi T.* (2009) Biophys. J., **97**(2), 628-635.
54. *Benitez S., Camacho M., Bancells C., Vila L., Sanchez-Quesada J.L., Ordonez-Llanos J.* (2006) Biochim. Biophys. Acta, **1761**(9), 1014-1021.
55. *Sanchez-Quesada J.L., Camacho M., Anton R., Benitez S., Vila L., Ordonez-Llanos J.* (2003) Atherosclerosis, **166**(2), 261-270.
56. *Собенин И.А., Феоктистов А.С., Карагодин В.П., Пшежецкий А.В., Орехов А.Н.* (2012) Патогенез, **10**(1), 62-65.
57. *McDowell A., Young I.S., Wisdom G.B.* (2001) Ann. Clin. Biochem., **38**(Pt 5), 499-508.
58. *Sobenin I.A., Chistiakov D.A., Bobryshev Y.V., Orekhov A.N.* (2013) Curr. Pharm. Des., **19**(33), 5954-5962.
59. *Schauer R., Srinivasan G.V., Wipfler D., Kniep B., Schwartz-Albiez R.* (2011) Adv. Exp. Med. Biol., **705**, 525-548.
60. *Monti E., Bonten E., D'Azzo A., Bresciani R., Venerando B., Borsani G, Schauer R., Tettamanti G.* (2010) Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., **64**, 403-479.
61. *Krauss R.M.* (2010) Curr. Opin. Lipidol., **21**(4), 305-311.
62. *Orekhov A.N., Melnichenko A.A., Sobenin I.A.* (2014) Oxid. Med. Cell. Longev., **2014**, 738679. DOI: 10.1155/2014/738679.
63. *Millar J.S.* (2001) Atherosclerosis, **154**(1), 1-13.
64. *Lindbohm N., Gylling H., Miettinen T.A.* (2000) J. Lipid Res., **41**(7), 1110-1117.
65. *Чернова Е.В., Собенин И.А., Мельниченко А.А., Карагодин В.П., Орехов А.Н.* (2013) Патогенез, **11**(2), 28-41.
66. *Chappey B., Beyssen B., Foos E., Ledru F, Guermonprez J.L., Gaux J.C., Myara I.* (1998) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., **18**(6), 876-883.
67. *Schreier L.E., Sanguinetti S., Mosso H., Lopez G.I., Siri L., Wikinski R.L.* (1996) Clin. Biochem., **29**(5), 479-487.
68. *Dobreanu M., Mody E.* (1997) Rom. J. Intern. Med., **35**(1-4), 55-62.
69. *Лышко А.И., Дудченко А.М.* (2013) Патогенез, **11**(2), 19-24.
70. *Темченко А.В., Никифоров Н.Г., Орехова В.А., Мельниченко А.А., Карагодин В.П., Собенин И.А., Орехов А.Н.* (2013) Патогенез, **11**(3), 13-21.

71. *Феоктистов А.С., Гаврилин М.А., Карагодин В.П., Бобрышев Ю.В., Орехов А.Н.* (2013) Патогенез **11**(3), 54-59.
72. *Мясоедова В.А., Кириченко Т.В., Орехова В.А., Собенин И.А., Мухамедова Н.М., Мартиросян Д.М., Карагодин В.П., Орехов А.Н.* (2012) Патол. физиол. экспер. тер., №3, 104-108.
73. *Собенин И.А., Жуковский Н.С., Карагодин В.П., Ковалев Л.И., Мясоедова В.А., Банфи К., Шишкин С.С., Орехов А.Н.* (2012) Патол. физиол. экспер. тер., №4, 82-87.
74. *Williams K.J., Tabas I.* (1995) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., **15**(5), 551-561.
75. *Никифоров Н.Г., Грачев А.Н., Собенин И.А., Орехов А.Н., Кжышковска Ю.Г.* (2013) Патол. физиол. экспер. тер., №1, 109-117.
76. *Lu M., Gursky O.* (2013) Biomol. Concepts, **4**(5), 501-518.
77. *Tabas I., Li Y., Brocia R.W., Xu S.W., Swenson T.L., Williams K.J.* (1993) J. Biol. Chem., **268**(27), 20419-20432.
78. *Орехов А.Н., Собенин И.А., Орехова В.А., Мельниченко А.А., Мясоедова В.А., Мухамедова Н.М., Мартиросян Д.М., Пшежецкий А.В., Карагодин В.П.* (2012) Патол. физиол. экспер. тер., №1, 33-39.
79. *Griffith R.L., Virella G.T., Stevenson H.C., Lopes-Virella M.F.* (1988) J. Exp. Med., **168**(3), 1041-1059.
80. *Lopes-Virella M.F., Griffith R.L., Shunk K.A., Virella G.T.* (1991) Arterioscler. Thromb., **11**(5), 1356-1367.
81. *Witztum J.L., Steinbrecher U.P., Kesaniemi Y.A., Fisher M.* (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **81**(10), 3204-3208.
82. *Темченко А.В., Никифоров Н.Г., Орехова В.А., Мельниченко А.А., Карагодин В.П., Собенин И.А., Орехов А.Н.* (2013) Патогенез, **11**(2), 11-18.
83. *Аладинский В.А., Никифоров Н.Г., Орехова В.А., Мельниченко А.А., Карагодин В.П., Собенин И.А., Орехов А.Н.* (2013) Патол. физиол. экспер. тер., №4, 76-83.
84. *Sobenin I.A., Karagodin V.P., Melnichenko A.C., Bobryshev Y.V., Orekhov A.N.* (2013) J Clin Immunol, **33**(2), 489-495.
85. *Lopes-Virella M.F., Virella G.* (2010) Clin. Immunol., **134**(1), 55-65.
86. *Tanaga K., Bujo H., Inoue M., Mikami K., Kotani K., Takahashi K., Kanno T., Saito Y.* (2002) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., **22**(4), 662-666.
87. *Cao W., Bobryshev Y.V., Lord R.S., Oakley R.E., Lee S.H., Lu J.* (2003) Cardiovasc. Res., **60**(1), 175-186.
88. *Shoibonov B.B., Baronets V.Y., Ontoboev A.N., Panchenko L.F.* (2013) Pathogenesis, **11**(2), 51-57.
89. *Bobryshev Y.V.* (2005) Eur. Heart. J., **26**(17), 1700-1704.
90. *Бобрышев Ю.В., Орехов А.Н.* (2013) Патогенез, **11**(1), 6-15.
91. *Chistiakov D.A., Sobenin I.A., Orekhov A.N., Bobryshev Y.V.* (2014) Biomed. Res. Int., **2014**, 610140. DOI: 10.1155/2014/610140.
92. *Kovanen P.T.* (1993) Eur. Heart. J., **14 Suppl. K.**, 105-117.

Поступила: 26. 11. 2015.
Принята к печати: 10. 06. 2016.

ATHEROGENIC MODIFICATION OF LOW-DENSITY LIPOPROTEINS

V.N. Sukhorukov[1], V.P. Karagodin[2], A.N. Orekhov[1,3]

[1]Institute of General Pathology and Pathophysiology,
8 Baltiyskaya str., Moscow, 125315 Russia; tel.: +7(499)1511756; fax: +7-495-601-2366; e-mail: niiopp@mail.ru
[2]Plekhanov Russian University of Economics, 36 Stremyanny side-street, Moscow, 117997 Russia
[3]Institute for Atherosclerosis Research, Skolkovo Innovative Center, PO Box #21, Moscow, 121609 Russia

One of the first manifestations of atherosclerosis is accumulation of extra- and intracellular cholesterol esters in the arterial intima. Formation of foam cells is considered as a trigger in the pathogenesis of atherosclerosis. Low density lipoprotein (LDL) circulating in human blood is the source of lipids accumulated in the arterial walls. This review considered features and role in atherogenesis different modified forms of LDL: oxidized, small dense, electronegative and especially desialylated LDL. Desialylated LDL of human blood plasma is capable to induce lipid accumulation in cultured cells and it is atherogenic. LDL possesses numerous alterations of protein, carbohydrate and lipid moieties and therefore can be termed multiple-modified LDL. Multiple modification of LDL occurs in human blood plasma and represents a cascade of successive changes in the lipoprotein particle: desialylation, loss of lipids, reduction in the particle size, increase of surface electronegative charge, etc. In addition to intracellular lipid accumulation, stimulatory effects of naturally occurring multiple-modified LDL on other processes involved in the development of atherosclerotic lesions, namely cell proliferation and fibrosis, were shown.

Key words: atherogenicity, atherosclerosis, desialylation, intracellular lipid accumulation, low density lipoprotein, oxidation, trans-sialidase