

# Этапы формирования в крови и диагностическое значение модифицированных липопротеинов низкой плотности

В. Н. Титов<sup>1</sup>, В. А. Амелюшкина<sup>1</sup>, Т. И. Коткина<sup>1</sup>, А. В. Ариповский<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» МЗ РФ, Москва

<sup>2</sup> ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Госсанэпиднадзора РФ, г. Оболensk

## Абстракт

Формирование лиганда в филогенетически ранних липопротеидах низкой плотности (ЛПНП), более поздних липопротеидах очень низкой плотности (ЛПОНП) происходит, когда апоВ-100 в ассоциации с полиеновыми жирными кислотами (ЖК) в форме эфиров со спиртом холестерина (ХС), пальмитиновыми и олеиновыми триглицеридами (ТГ) принимает активную конформацию. В ЛПНП формируется апоВ-100-лиганд, в ЛПОНП – апоЕ/В-100-лиганд. Лигандные липопротеиды (ЛП) поглощают клетки путем апоЕ/В-100- и апоВ-100-эндоцитоза. При избытке в крови пальмитиновых триглицеридов (ТГ) и одноименных ЛПОНП, при нарушении первичной структуры постгепариновой, печеночной липопротеинлипазы и коферментов апоС-I и апоС-II, при фенотипе Е2/Е2 в крови накапливаются прелигандные, богатые ТГ ЛП. При патологии апоВ-100-рецептора в крови накапливаются постлигандные ЛПНП с малым содержанием ТГ. Все безлигандные ЛП физиологично денатурируют нейтрофилы; наличие патологии вызывает их модификацию при действии иных агентов (глюкозы, гликотоксинов). Пре-ЛП формируют в интиме артерий мягкие объемные бляшки и деструктивно-воспалительный процесс – атеротромбоз. Пост-ЛП формируют плоские бляшки и деструктивно-воспалительный атероматоз. Атеросклероз можно назвать болезнью конформации. ХС-ЛПНП при высоких ТГ – ХС пальмитиновых ЛПОНП с плотностью ЛПНП. Малые, плотные, атерогенные ЛП, по данным ЯМР-спектроскопии, по составу ЖК – пальмитиновые ЛПОНП с гидратированной плотностью ЛПНП. Причины поражения интимы – избыток в пище пальмитиновой насыщенной ЖК, фенотип Е2/Е2 и делеция гена апоВ-100-рецептора. Безлигандные ЛП формируют деструктивный процесс, погибающие пенистые клетки, макрофаги – воспалительный компонент. Атероматоз – результат реализации биологической функции эндозкологии, поддержания чистоты межклеточной среды, утилизации безлигандных ЛПНП.

**Ключевые слова:** апоВ-100, конформация, жирные кислоты, атероматоз и атеротромбоз, модифицированные липопротеины.

## Stages of formation in blood plasma and diagnostic value of modified low density lipoproteins

V.N. Titov<sup>1</sup>, V.A. Amelyushkina<sup>1</sup>, T.I. Kotkina<sup>1</sup>, A.V. Aripovskiy<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Russian Cardiology Research Complex, Moscow, Russia

<sup>2</sup> State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia

## Abstract

Ligand formation in phylogenetically early low-density lipoprotein (LDL) and phylogenetically late very low-density lipoprotein (VLDL) occurs when apoB-100 acquires active conformation in association with essential polyenic fatty acids (FA) as esters with the alcohol cholesterol (CL), palmitic and oleic triglycerides (TG). ApoB-100 domain-ligand forms in LDL, and apoE/B-100 ligand, in VLDL. Cells internalize ligand lipoproteins (LP) by apoE/B-100 and apoB-100 receptor-mediated endocytosis. In E2/E3 phenotype and high blood content of palmitic TG and palmitic VLDL, preligand TG-rich LP are accumulated in the circulation if primary structure of postheparinic liver lipoprotein lipase and apoC-I and apoC-II is impaired. In apoB-100 receptor pathology, postligand LDL with low TG content are accumulated. All ligand-free LP are physiologically denatured by

*neutrophils and modified by other agents (glycotoxins) in pathology. Preligand LP form soft raised plaques in arterial intima and cause atherothrombosis, a destructive-inflammatory process. Postligand LP form flat plaques and induce atheromatosis. Atherosclerosis can be regarded as a conformation-related disease. According to NMR data, small dense atherogenic LP are palmitic VLDL with hydrated density of LDL. Excessive dietary palmitic saturated FA, E2/E2 phenotype and apoB-100 gene deletion are the causes of arterial intima injury. Ligand-free LP and dying macrophages form destructive and inflammatory processes. Atheromatosis is a result of endoecology, the biological function providing "purity" of intercellular medium.*

**Keywords:** *apoB-100, conformation, fatty acids, atheromatosis and atherothrombosis, modified lipoproteins.*

При обсуждении структуры и функции апоВ-100 липопротеинов (ЛП) перед исследователями стоит вопрос: по какой причине ЛП, сформированные в гепатоцитах одним апоВ-100 и только из триглицеридов (ТГ), имеют разную гидратированную плотность? Это различие столь существенно, что позволяет выделить два класса – ЛП низкой и ЛП очень низкой плотности (ЛПНП и ЛПОНП). Это, мы полагаем, определено тем, что гепатоциты формируют ЛПОНП в условиях, когда апоВ-100 раздельно связывает физико-химически разные пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые ТГ в состав одноименных ЛПОНП. Различие ТГ определено тем, какая из ЖК этерифицирована во второй позиции (sn-2) трехатомного спирта глицерина со вторичной спиртовой группой. Эфирную связь жирной кислоты (ЖК) в этой позиции не может гидролизовать ни панкреатическая липаза в кишечнике, ни постгепариновая липопротеинлипаза (ЛПЛ) в крови.

ТГ пищи энтероциты всасывают в форме трех гидролизованных молекул: двух неэтерифицированных ЖК (НЭЖК) из sn-1 и sn-3 и молекулы 2-моноацилглицерина. Разная плотность липидов определена тем, что в пальмитиновых ТГ, таких как трипальмитат (пальмитоил-пальмитоил-пальмитат), все ЖК имеют длину C16; нередко этерифицирована и миристиновая насыщенная ЖК (НЖК) длиной C14. В таких ТГ, как пальмитоил-пальмитоил-олеат, две ЖК имеют длину C16 и одна ЖК – C18. Олеиновыми же ТГ могут быть как олеил-олеил-пальмитат, который содержит две ЖК C18 и одну ЖК – C16, так и стеарил-олеил-стеарат, в котором все ЖК – C18 [1]. Плотность ЛП определяют методом аналитического ультрацентрифугирования на основе параметров флотации в водной среде (гидратированная плотность), используя метод рефрактометрии.

Начиная с олеиновых ТГ (олеил-олеил-олеат) все остатки ЖК в составе ТГ имеют длину C18. В линолевых и линоленовых ТГ могут быть этерифицированы также C20:3 дигомо-γ-линоленовая ненасыщенная ЖК (ННЖК) и даже C20:4 арахидоновая полиеновая ЖК (ПНЖК). Четыре липофильных домена апоВ-100 связывают в каждом ЛПОНП примерно одинаковое число молекул ТГ. Из этого следует, что плотность пальмитиновых ТГ самая низкая, как и пальмитиновых ЛПОНП; плотность олеиновых, стеариновых, линолевых и особенно линоленовых ТГ и ЛПОНП

более высокая; однако эта разница невелика (рис. 1). В постпрандиальном периоде, после приема пищи, гепатоциты секретируют в кровь пальмитиновые и олеиновые ЛПОНП с меньшей плотностью, а также более плотные линолевые и линоленовые ЛПОНП. В постпрандиальном периоде гепатоциты секретируют в кровоток пальмитиновые, олеиновые, линолевые и линоленовые ЛПОНП, плотность которых разная, но ниже, чем это принято для ЛПНП.

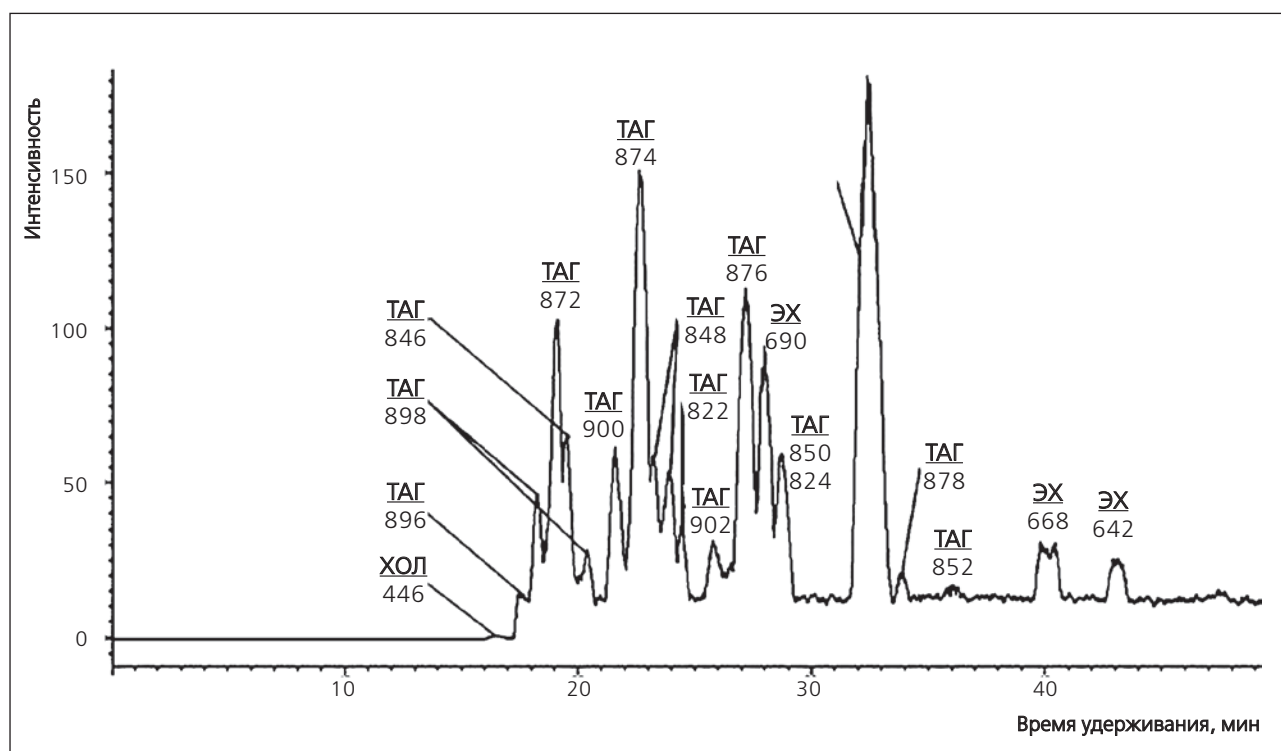
Наименее плотные и малые – пальмитиновые ЛПОНП, в которых апоВ-100 связывает ТГ гидрофобными α-спиралями липидсвязующих доменов. Более высокая гидратированная плотность ЛПНП по отношению к ЛПОНП обусловлена присутствием в ЛПНП более плотных и гидрофобных ЭС ПНЖК в форме эфиров со спиртом ХС [3]. Они при действии белка, переносящего полиеновые эфиры холестерина (БППЭХ), переходят из ЛП высокой плотности (ЛПВП) в линолевые и линоленовые ЛПОНП; это второй фактор, который обуславливает более высокую плотность ЛПНП. Самостоятельно БППЭХ переносит ПНЖК в форме полиеновых эфиров ЭХ (поли-ЭХС) не может; он инициирует образование тройственного ассоциата БППЭХ + ЛПОНП + ЛПВП. И только после перехода в ЛПОНП полиеновых ЖК этерифицированных спиртом ХС (поли-ЭХС) из ЛПВП линолевые и линоленовые ЛПОНП приобретают плотность, равную ЛПНП.

Физиологично ПНЖК не переходят в пальмитиновые и олеиновые ЛПОНП, поскольку пребывание их в крови является коротким; их быстро поглощают все инсулинозависимые клетки путем апоЕ/В-100-рецепторного эндоцитоза. Образованные в крови линолевые и линоленовые ЛПНП поглощают клетки иным, филогенетически ранним апоВ-100-эндоцитозом. Структурная и функциональная гетерогенность секретированных гепатоцитами ЛПОНП является основой того, что поглощение их клетками происходит по-разному. Более поздние в филогенезе ЛПОНП (количество их в крови существенно больше, чем ЛПНП) переносят к инсулинозависимым клеткам НЖК + мононенасыщенные ЖК с одной ДС (МЖК). ЛПНП же доставляют к клеткам только ННЖК + ПНЖК. Количество НЖК + МЖК:ННЖК:ПНЖК в апоВ-100 ЛП соотносятся как 100:10:1.

Клетки поглощают ЛПОНП и ЛПНП по-разному. Пальмитиновые и олеиновые ЖК они поглощают



**Рис. 1.** Спектр индивидуальных ТГ (ТАГ) в плазме крови здорового ребенка и эфиров ПНЖК со спиртом ХС (ЭХ)



Примечание: цифры – молекулярная масса ТГ [2].

в форме ТГ в одноименных ЛПОНП путем апоЕ/В-100-эндоцитоза. Линолевые и линоленовые же ЖК в форме ТГ клетки поглощают в составе ЛПНП путем апоВ-100-эндоцитоза. ПНЖК клетки поглощают в форме поли-ЭХС тоже в составе ЛПНП путем апоВ-100-эндоцитоза. Что же является причиной того, что в ЛПОНП апоВ-100 формирует один лиганд, а в ЛПНП он же образует иной лиганд; это реально разделяет рецепторное поглощение клетками НЖК+МЖК в составе ЛПОНП, а ННЖК+ПНЖК – в ЛПНП [4].

### Конформация апоВ-100, лиганды ЛПНП, ЛПОНП и поглощение ЛП клетками

Важно для понимания функции апо, их конформации выяснить: а) взаимосвязи структурной организации молекул апобелка и б) роль функционально активных его конформаций. Они являются промежуточными между глобулярной (жесткой) и развернутой (ламелярной) структурой. Функционально активная конформация при разворачивании (сворачивании) белков – это не начальная и не конечная форма; это всегда промежуточная, порой нестабильная, короткоживущая форма [5]. Это позволяет липидам связываться с белками, формировать гидрофобные домены, которые связывают неполярные липиды [6].

Связывание у разных видов животных ЛПНП с апоВ-100-рецепторами фибробластов человека показало, что в филогенезе структура до-

мена-лиганда апоВ-100 изменилась мало [7]. С ЛПНП-рецепторами человека связываются ЛПНП морской свинки, кролика, медведя, льва, но нет взаимодействия с ЛПНП крыс и мышей. Это свидетельствует о том, что первичная структура четырех липидсвязывающих доменов апоВ-100 у разных видов животных изменена; неизменным остается домен-лиганд [8]. Моноклональные антитела позволили выявить различия конформации апоВ-100 в составе ЛПОНП и в ЛПНП. Пептиды, которые получены при протеолизе апоВ-100 трипсином в составе ЛПОНП, имели иную конформацию, чем эти же пептиды в ЛПНП. Это определено различием физико-химических свойств липидов, которые связаны с апо.

Количество ТГ в ЛПОНП изменяет антигенные свойства апоВ-100-лиганда и его взаимодействие с апоВ-100-рецептором. Конформация апоВ-100 становится разной, когда апо связывает неполярные ТГ или неполярные, более гидрофобные поли-ЭХС. При инкубации апоВ-100 ЛПОНП с фосфатидилхолином (ФХ) спонтанно формируются гомогенные ЛП с диаметром  $\approx 20$  нм и гидратированной плотностью ЛПНП; каждая молекула апоВ-100 может связать  $\approx 300$  молекул ФХ. Ассоциация с ФХ увеличивает в апоВ-100 количество  $\alpha$ -спиральных структур и отрицательный заряд на поверхности ЛПНП; апоВ-100 связывает неполярные ТГ и полярный ФХ разными доменами.

Выраженно меняется конформация апоВ-100 в составе ЛПНП при переносе к клеткам ПНЖК

в форме поли-ЭХС. В гепатоцитах апоВ-100 формирует разные по плотности и по размерам ЛПОНП отдельно из пальмитиновых, олеиновых, линолевых и линоленовых ТГ. При переносе к клеткам ЖК в ЛПОНП происходит гидролиз оптимального количества ТГ, и размеры ЛПОНП становятся меньше. Изменение конформации апоВ-100 подтверждает и формирование разных апоВ-100-лигандов в составе ЛПОНП и ЛПНП. При секреции гепатоцитами в кровь ЛПОНП апоВ-100-доменов-лигандов на поверхности нет; это безлигандные ЛПОНП; все лиганды полностью экранированы физиологическим избытком ТГ.

После гидролиза оптимального количества ТГ в пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП при первой активной конформации апоВ-100 на поверхности формируется кооперативный апоЕ/В-100-лиганд; все инсулинозависимые клетки связывают ЛПОНП одноименными рецепторами. Клетки поглощают олеиновые и пальмитиновые ЛПОНП со всеми липидами, вместе с апоВ-100 и апоЕ. При гидролизе линолевых и линоленовых ТГ в составе ЛПОНП, при переходе ПНЖК в форме поли-ЭХС из ЛПВП в состав ЛПНП, апоВ-100 в ассоциации не с ТГ, а с поли-ЭХС принимает вторую активную конформацию и формирует на поверхности ЛПНП апоВ-100-лиганд. Все клетки своими апоВ-100-рецепторами связывают и поглощают лигандные ЛПНП путем апоВ-100-эндоцитоза. Таким образом, в ходе липолиза и удаления из ЛПОНП и ЛПНП излишков ТГ на поверхность ЛП выходят домены-лиганды, которые были экранированы ТГ [9]. Рецепторный эндоцитоз является активным; с филогенетически раннего аутокринного уровня клетки регулируют число рецепторов на мембране и количество поглощаемых ими ЛПОНП и ЛПНП [10].

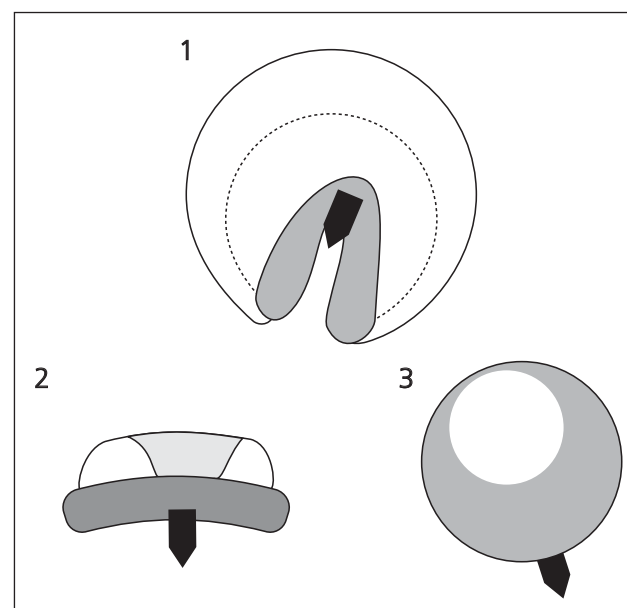
В филогенезе ЛПНП предназначены в первую очередь для переноса и активного поглощения клетками ННЖК+ПНЖК. Содержание в пище С18:2 линолевой + С18:3 линоленовой + ПНЖК (С20:4 арахидоновой и С20:5 эйкозапентаеновой) физиологично во много раз меньше у всех видов животных, но в сумме существенно меньше количество эндогенной пальмитиновой НЖК+олеиновой МЖК, которое гепатоциты синтезируют из углеводов пищи, из глюкозы. Активный липогенез из глюкозы определен тем, что количество углеводов, которые мы поедаем, *in vivo* депонировать в форме гликогена практически негде.

Несмотря на то что установлена первичная структура апоВ-100, выявлены варианты генетических аномалий, третичная структура апоВ-100 ЛП основана только на предположениях [11] и математическом моделировании [12]. Не осталось ни одного физико-химического метода, который не был бы применен для выяснения структуры апоВ-100 ЛПНП. Детальное рассмотрение данных электронной микроскопии разных классов ЛП дало нам основания предложить свою модель строения апоВ-100 ЛП (рис. 2). Электронная микроскопия

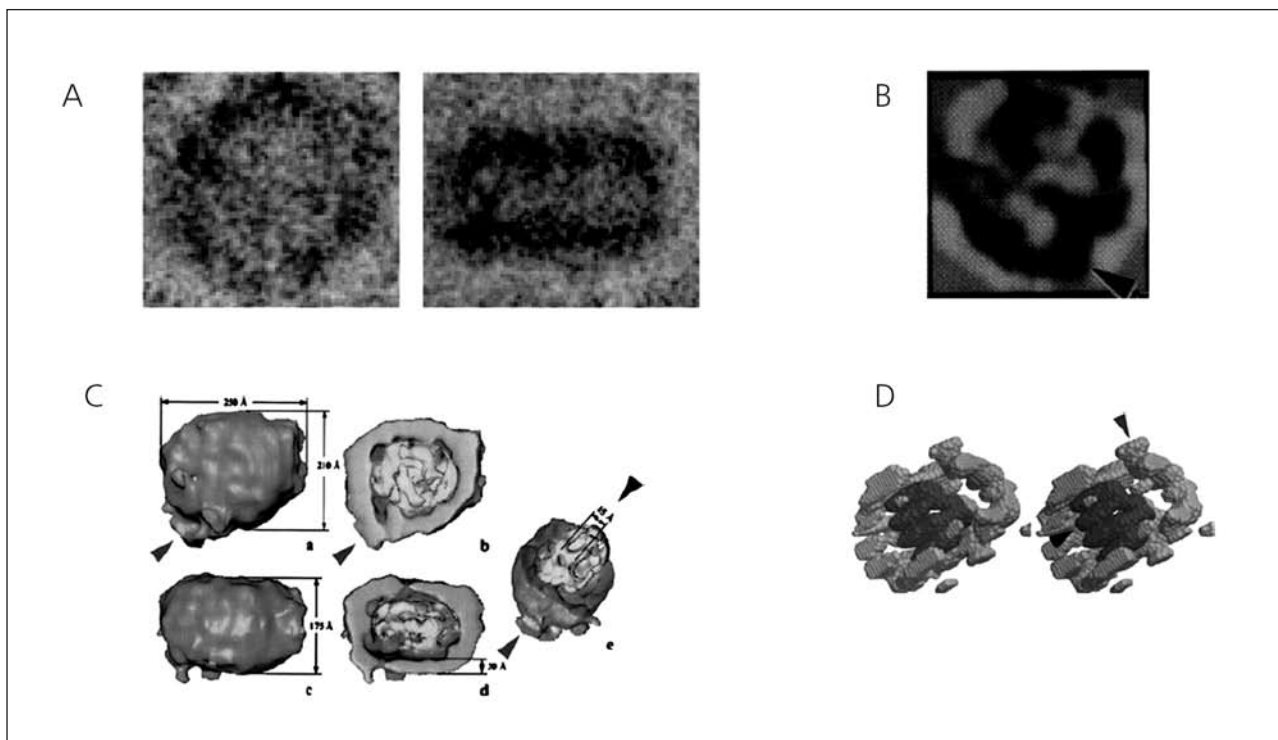
нативных, замороженных в водной, забуференной среде апоВ-100 ЛП человека выявила три разные формы; их назвали следующим образом: тороид (кольцеобразная форма), бислой белок:липид и глобула [13]. Это дало нам основание более 20 лет назад высказать мнение, согласно которому апоВ-100 ЛП являются вариантами единой структуры белок:липид (ЛПОНП), которая сформирована в гепатоцитах. В ЛПОНП молекула апоВ-100 последовательно принимает три конформации; назвали мы их так: а) большая псевдоглобула с полостью внутри (псевдосфера); б) бислой белок:липид и в) малая глобула с липидами внутри. Одновременно мы объяснили причины, которые иницируют функционально значимые изменения конформации апоВ-100 в составе ЛПОНП и ЛПНП [14]. Поскольку молекулы ПНЖК в форме поли-ЭХС на треть меньше ТГ и гидрофобность их выше, линолевые и линоленовые ЛПОНП при переходе в них ПНЖК в форме поли-ЭХС из ЛПВП становятся меньше и приобретают гидратированную плотность, которая соответствует ЛПНП. Напомним, что в физиологических условиях концентрация пальмитиновых + олеиновых ЛПОНП в плазме крови почти в 10 раз выше, чем линолевых + линоленовых ЛПОНП. Это определено содержанием их в пище; большинство ЖК в пище являются экзогенными.

Функционально значимыми конформациями апоВ-100 являются, как мы полагаем: а) деформированный бислой белок:липид (псевдосфера), при котором в ЛПОНП происходит формирование кооперативного апоЕ/В-100-лиганда и далее – поглощение ЛПОНП инсулинозависимыми клетками

**Рис. 2.** Последовательное превращение ЛПОНП



*Примечание: 1 – деформированный бислой апоВ-100 + ТГ; 2 – бислой апоВ-100 + липиды (ТГ + эфиры ПНЖК со спиртом ХС); 3 – белковая глобула апоВ-100 с липидами внутри (эфиры ХС + ТГ).*

**Рис. 3.** Криоэлектронная микроскопия ЛПОНП с активной конформацией

Примечание: А – активная конформация апоВ-100 в форме бислоя белок:липид (вид сверху и сбоку); В – активная конформация апоВ-100 в ЛПНП в форме белковой глобулы с неполярными липидами в «кармане»; С и D – компьютерное моделирование глобулы апоВ-100 с неполярными липидами и формирование апоВ-100-лиганда.

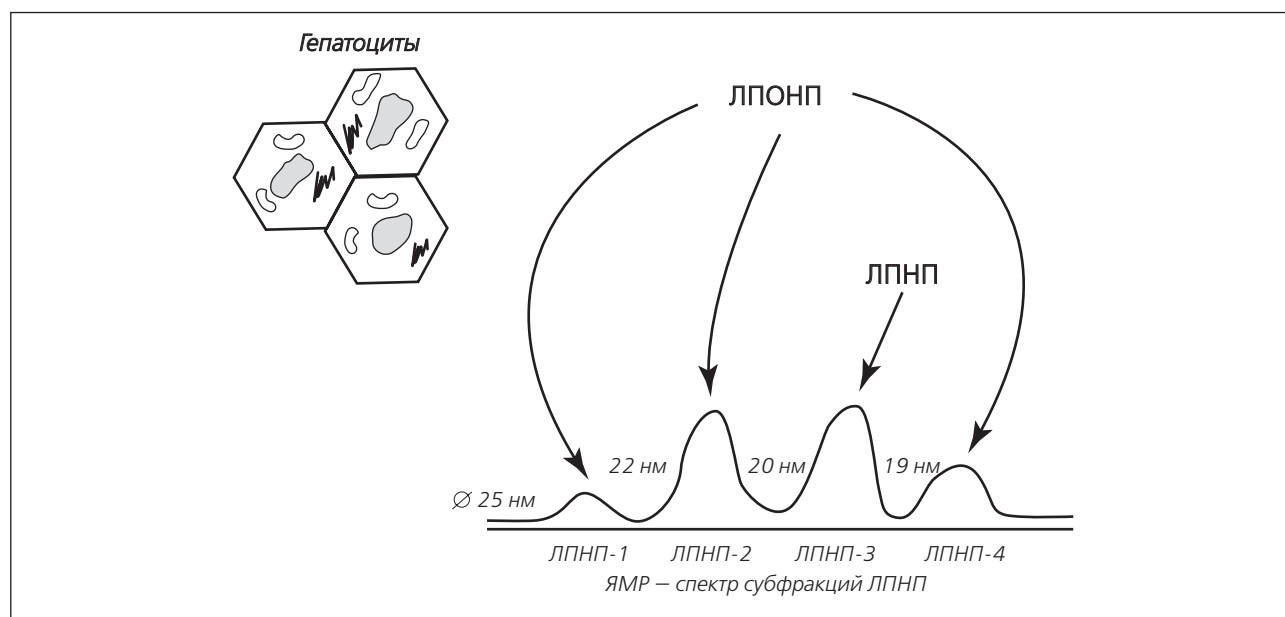
путем апоЕ/В-100-эндоцитоза; б) белковая глобула ЛПНП с неполярными липидами в «кармане», при которой формируется апоВ-100-лиганд и клетки активно поглощают ЛПНП. Сложности трактовки данных электронной микроскопии в том, что для пучка электронов плотность липидов практически равна плотности воды, поэтому отображения массы липидов на электронных микрофотографиях практически нет и топологию липидов приходится додумывать [15]. На рис. 3 приведено электронное микроскопическое изображение ЛПОНП в форме кольца, бислоя белок:липид и глобулы с липидами в «кармане». Одновременно приведены результаты компьютерного моделирования структуры ЛПОНП в форме деформированного бислоя белок:липид с липидами снаружи и ЛПНП в форме глобулы с липидами в «кармане» [16].

В крови в пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП в процессе гидролиза ТГ при действии постгепариновой ЛПЛ и кофактора апоС-II уменьшается количество ТГ. Освобожденные из неполярных ТГ полярные НЭЖК в крови связывает альбумин; полярные же диглицериды переходят из ЛПОНП в состав ЛПВП. Когда в связи с апоВ-100 остается физико-химически оптимальное количество ТГ: а) стерическая форма апоВ-100 меняется, принимая активную конформацию; б) домены апоВ-100 ассоциируются с белоксвязывающим доменом апоЕ; в) формируется кооперативный апоЕ/В-100-лиганд в пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП. Инсулинозависимые клетки *in vivo* связывают апоЕ/

В-100-рецепторами и поглощают все пальмитиновые и олеиновые ЛПОНП. В филогенетически ранних ЛПНП нет апоЕ; апоЕ является компонентом филогенетически более поздних, инсулинозависимых ЛПОНП.

При гидролизе линолевых и линоленовых ТГ и переходе из ЛПВП ПНЖК в форме поли-ЭХС, апоВ-100 формирует иную, чем в ЛПОНП, активную конформацию (малая глобула с липидами внутри) и выставляет на поверхность ЛПНП апоВ-100-лиганд. Все клетки своими рецепторами связывают ЛПНП, поглощая их путем апоВ-100-рецепторного эндоцитоза. Лиганды и рецепторы апоЕ/В-100 в ЛПОНП и апоВ-100 в ЛПНП, хотя и сформированы одним апоВ-100, функционально являются разными.

Физиологично 5–7 часов после еды, после выраженной гипертриглицеридемии, клетки активно поглощают из крови все пальмитиновые и олеиновые ЛПОНП. ПНЖК в форме поли-ЭХС медленно, пассивно или только активированно переходят из ЛПВП в линолевые и линоленовые ЛПОНП. При нарушенном липолизе, длительной циркуляции пальмитиновых ЛПОНП в крови ПНЖК в форме поли-ЭХС переходят не в физиологичные линолевые и линоленовые ЛПОНП→ЛПНП, а в состав афизиологичных пальмитиновых ЛПОНП→ЛПНП. Формирование пальмитиновых ЛПНП практически блокирует апоВ-100-рецепторное поглощение клетками ПНЖК. При высоком содержании в крови пальмитиновых ЛПНП биодоступность ПНЖК

**Рис. 4.** Гетерогенность субклассов ЛПНП (по данным ЯМР-спектроскопии)

Примечание: выявление ЛПНП-1 – ЛПНП-4, которые образуются из пальмитиновых, олеиновых ЛПОНП, линолевых и линоленовых ЛПНП.

для клеток является очень низкой. Формируемый дефицит в клетках ПНЖК вынуждает клетки начать компенсаторный синтез афизиологичных эйкозаноидов. При этом синтез биологически активных эйкозаноидов происходит не из физиологичных ПНЖК, а из афизиологичных ННЖК; при этом эйкозаноиды (простаглинды, тромбоксаны, лейкотриены) тоже являются афизиологичными. Это и составляет основу патогенеза такой метаболической пандемии, как атеросклероз.

Можно обоснованно говорить, что патологические изменения в филогенетически ранних ЛПНП по сравнению с ЛПОНП происходят редко [17]. ЛПНП – филогенетически устоявшаяся система; значимой врожденной патологией является только мутация апоВ-100-рецептора у пациентов при семейной гиперхолестеринемии [18]. Сформированные в филогенезе на более поздних ступенях и регулируемые инсулином ЛПОНП переносят к клеткам НЖК + МЖК; на 80% это всего две ЖК – пальмитиновая НЖК и олеиновая МЖК; они обеспечивают все потребности организма в энергии.

Теоретически в крови могут циркулировать девять субклассов ЛП: это прелигандные, лигандные и постлигандные ХМ, ЛПОНП и ЛПНП. В физиологичных условиях, когда лигандные ХМ, ЛПОНП и ЛПНП быстро поглощают клетки путем апоЕ/В-48-, апоЕ/В-100- и апоВ-100-эндоцитоза, в крови нет ни лигандных, ни постлигандных ЛП. В афизиологичных условиях нарушение гидролиза ТГ (липолиза) при действии специфичных липаз возможно в трех ЛП; при этом формируемые прелигандные (безлигандные) ХМ, ЛПОНП и ЛПНП накапливаются в крови. Происходит это в условиях: а) наличия неоптимального субстрата для липолиза – пальмитиновых ТГ; б) врожденного нарушения

первичной структуры постгепариновой ЛПЛ, структуры апоС-II, печеночной глицерилгидролазы или последовательности остатков аминокислот в апоС-III.

При патологии первичной структуры лиганда или рецептора, при блокаде поглощения клетками лигандных ЛП, в крови накапливаются постлигандные ХМ, ЛПОНП и ЛПНП. Как прелигандные ЛП, так и постлигандные ХМ, ЛПОНП и ЛПНП лиганда не сформировали, и клетки поглотить их не могут. Они-то и определяют гетерогенность ЛПНП; выявить ее можно методом ультрацентрифугирования и электрофореза. Референсным методом гетерогенности ЛПНП в плазме крови считают ядерную магнитную резонансную спектроскопию (ЯМР) [19].

Применение ЯМР-спектроскопии – выявить в составе ЛПНП четыре субкласса с разными физико-химическими параметрами; объяснений формирования субклассов ЛПНП и диагностического значения их не дано [20]. Детальное рассмотрение биохимических превращений ХМ, ЛПОНП и ЛПНП и сопоставление их физико-химических свойств с фенотипами ГЛП и содержанием индивидуальных ЖК дало возможность установить следующее. Метод ЯМР-спектроскопии выделяет четыре субкласса: ЛПНП-1 – ЛПНП-4. Самые большие с меньшей гидратированной плотностью – ЛПНП-1; самые малые с наиболее высокой плотностью – ЛПНП-4. Плотность и размеры субклассов ЛПНП определены содержанием в них НЖК + МЖК в форме ТГ и ПНЖК в форме поли-ЭХС, которые связывает апоВ-100 (рис. 4).

ЛПНП-1 – постлигандные ЛПОНП с наиболее высоким содержанием ТГ и низкой гидратированной плотностью ЛПНП. Это главным образом физиологичные олеиновые ЛПОНП (широкая преф-фракция



ЛП при электрофорезе), которые формируются в крови у пациентов с семейной дисбеталипопротеинемией, при фенотипе апоЕ — E2/E2, при ГЛП фенотипа III.

ЛПНП-2 — прелигандные, богатые триглицеридами ЛПОНП с плотностью ЛПНП — пальмитиновые и олеиновые ЛПОНП; они отражают ГЛП фенотипа IIb — семейную комбинированную ГЛП и ГЛП фенотипа IV. Образованы они при разных по этиологии нарушениях гидролиза ТГ в составе ЛПОНП, при избытке пальмитиновых, олеиновых ТГ, а возможно, и недостаточной экспрессии инсулином стеарил-КоА-десатуразы [22].

ЛПНП-3 — постлигандные ЛПНП, которые не поглотили клетки при семейной гиперхолестеринемии; содержат они физиологичные линолевые и линоленовые ЛПОНП в форме одноименных ТГ и ПНЖК в форме поли-ЭХС, которые перешли в состав ЛПНП из ЛПВП при действии БППЭХ. Лигандные ЛПНП не поглотили клетки, и они при продолжении в них липолиза превратились в постлигандные ЛПНП.

ЛПНП-4 — выражено афизиологичные (малые, плотные) пальмитиновые ЛПНП; это пальмитиновые ЛПОНП → ЛПНП; содержат они пальмитиновые ТГ. Сформировались они при: а) избытке в пище экзогенной пальмитиновой НЖК и б) синтезе *in vivo* из глюкозы пищи физиологично не олеиновой, а только пальмитиновой НЖК при синдроме ИР и низкой активности стеарил-КоА-десатуразы. Заметим, что: а) из всех длинноцепочечных ЖК пальмитиновая НЖК — самая короткая; б) самым малым по размерам ТГ является трипальмитат; поэтому в) при одинаковом количестве связанных спиральями апоВ-100 триглицеридов пальмитиновые ЛПНП — самые малые.

Причинами формирования афизиологичных субклассов ЛПНП являются главным образом три фактора.

1. Афизиологично высокое содержание в пище пальмитиновой ЖК и одноименных ТГ; это неоптимальный субстрат для постгепариновой ЛПЛ.
2. Нарушение образования активной конформации апоВ-100 в составе ЛПОНП и ЛПНП, отсутствие в ЛПОНП апоЕ/В-100-лиганда и апоВ-100-лиганда в ЛПНП — формирование прелигандных (безлигандных) ХМ, ЛПОНП и ЛПНП [23].
3. Низкая аффинность, малое число или отсутствие рецепторов для ЛП на плазматической мембране клеток [24]; очень редко — нарушение первичной структуры апоВ-100 [17].

ЛПНП-1 преобладают по причине низкой аффинности апоЕ/В-100-рецептора к одноименному лиганду в лигандных пальмитиновых и олеиновых ЛПОНП при генотипе апоЕ — E2/E2. Это тест диагностики семейной дислипопротеинемии, ГЛП фенотипа III.

ЛПНП-2 преобладают в ЛПНП, вероятно, по нескольким эндогенным причинам; это семейная

комбинированная ЛПЛ фенотипа IIb. Они включают патологию липолиза при врожденном нарушении первичной структуры и активности постгепариновой ЛПЛ, ее кофактора апоС-II, при мутации БППЭХ, при редкой первичной патологии печеночной ЛПЛ, при синдроме ИР. Среди пациентов с ишемической болезнью сердца ГЛП фенотипа IIb встречается более часто, чем ГЛП фенотипа IV.

ЛПНП-3 — тест семейной гиперхолестеринемии, ГЛП фенотипа IIa при снижении (отсутствии) на плазматической мембране апоВ-100-рецепторов.

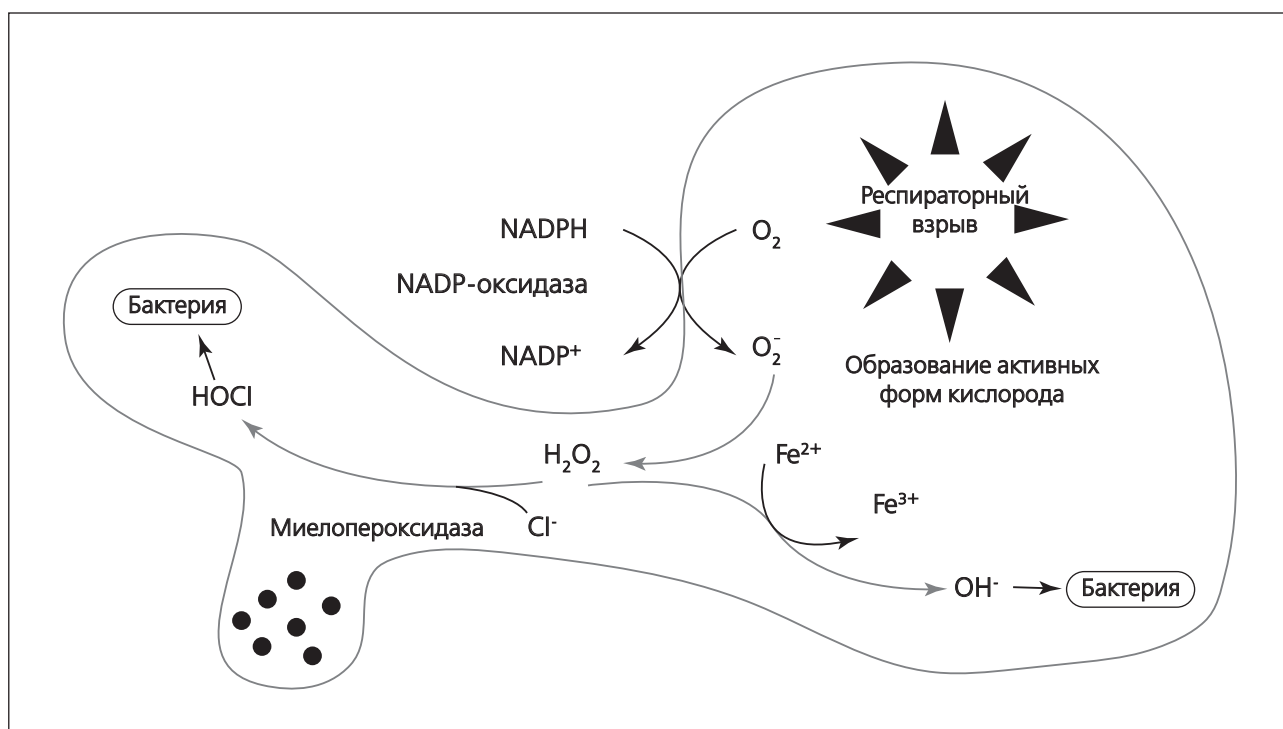
ЛПНП-4 преобладают в составе ЛПНП наиболее часто при доминировании пальмитиновых ЛПОНП, в том числе и над олеиновыми. Происходит это при: а) избытке в пище экзогенной пальмитиновой НЖК и б) синтезе гепатоцитами из углеводов пищи нефизиологично олеиновой МЖК, олеиновых ТГ и ЛПОНП.

И формально, и по существу имеются все основания именовать атеросклероз болезнью конформации. Избыточное содержание в пище, в ХМ, в ЛПОНП и, наконец, в ЛПНП пальмитиновых ТГ, выражено гидрофобной, тугоплавкой пальмитиновой ЖК не дает возможности ни одному из апо, ни апоВ-48, ни в ассоциации его с апоЕ, ни апоВ-100 с апоЕ, сформировать активную конформацию и выставить на поверхность ЛПОНП и ЛПНП активный лиганд. Связывая ЛП своими рецепторами, все инсулинозависимые клетки *in vivo* поглощают ЛПОНП, а все более ранние в филогенезе, независимые от инсулина клетки поглощают ЛПНП.

### Безлигандные ЛПОНП и ЛПНП — субстрат для денатурации и патологической модификации

При отсутствии лиганда клетки не могут поглотить все ЛПНП; в крови они становятся биологическим «мусором». В соответствии с филогенетической теорией общей патологии все они будут удалены из кровотока при реализации биологической функции эндоекологии, биологической реакции воспаления. Филогенетически реализация биологической функции воспаления и утилизация биологического «мусора» является функцией оседлых (резидентных) макрофагов в локальных пулах рыхлой соединительной ткани (РСТ). Пул РСТ для поддержания чистоты внутрисосудистого пула межклеточной среды локализован в интима артерий. Безлигандные же ЛП находятся в крови, а оседлые макрофаги — в интима артерий, и между ними — непроницаемый монослой эндотелия. Трудно представить, как ЛП могут «инфильтрировать» стенку артерий через монослой эндотелия; *in vivo* такой биологической реакции, как инфильтрация, нет. Вероятно, авторы имеют в виду все-таки биологическую реакцию эндотоза и экзоцитоза, реакцию транцитоза. Выведение безлигандных ЛП в интиму артерий активно реализует: а) биологическая реакция транцитоза; б) биологическая реакция гидродинамического давления

**Рис. 5.** Образование АФК и иона гипохлорида нейтрофилами в реакции респираторного взрыва; денатурация ими эндогенных флогенов и экзогенных инфекционных патогенов



и в) биологическая реакция воспаления; две первые биологические реакции реализуют клетки монослоя эндотелия.

В течение двух десятилетий мы объясняем, как безлигандные ХМ, ЛПОНП и ЛПНП становятся в крови эндогенными флогеном — инициаторами специфической биологической деструктивной реакции воспаления. Позже ЛП накапливаются в интима артерий и формируют афизиологичный деструктивно-воспалительный процесс, который мы именуем атероматозом и атеротромбозом и который является причиной острого коронарного синдрома. Однако и безлигандные ЛП — это «свои», эндогенные молекулы. Удалить их из кровотока и переместить в пул оседлых макрофагов можно только после того, как Толл-подобные рецепторы на мембране иммунокомпетентных клеток признают безлигандные ЛП как «не свои». Для этого все ХМ, ЛПОНП и ЛПНП необходимо физиологично денатурировать; это первый этап реализации *in vivo* биологической реакции воспаления.

Реализуют начальный этап воспаления нейтрофилы; в реакции респираторного взрыва они наработывают активные формы кислорода (АФК) и денатурируют апоВ-100, формируя на поверхности белка афизиологичные эпитопы. Далее следует опсонизация «не своих» ЛП компонентами комплемента. После клетки монослоя эндотелия, осуществляя биологическую реакцию транскитоza, выводят безлигандные, физиологично денатурированные, опсонизированные ЛП в интиму артерий, реализуя биологическую функцию эндоэкологии, биологическую реакцию воспаления.

Секреция нейтрофилами АФК является ранним этапом биологической реакции воспаления; секреция субстратзависимая и всегда является вторичной. Сколь много в крови безлигандных ЛП, в которых нарушен состав ЖК в ТГ и не сформирована активная конформация апоВ-100, которые подлежат удалению из кровотока, столь выраженной будет и адекватная физиологичная денатурация их нейтрофилами при использовании АФК (рис. 5). Далее клетки монослоя эндотелия выводят физиологично денатурированные, безлигандные ЛП в интиму артерий эластического типа, используя для этого биологическую реакцию транскитоza. Транскитоz — активная функция клеток монослоя эндотелия; она является сложением биологических реакций эндо- и экзоцитоза; эндотелий анатомически разъединяет, а функционально объединяет *in vivo* все локальные пулы межклеточной среды. Однако при афизиологично длительной циркуляции в крови пре- и постлигандных ЛП (безлигандных ЛП) с апоВ-100 реагируют и иные активные молекулы, включая глюкозу, гликоксин метилглиоксаль, малоновый диальдегид, сиаловые кислоты и т.д. В результате этого к большому пулу физиологично денатурированных нейтрофилами безлигандных ЛПНП присоединяется пул патологически измененных — модифицированных ЛПНП.

Нарботка и секреция нейтрофилами АФК и физиологичная денатурация безлигандных ЛПНП являются начальным этапом биологической реакции воспаления, частью синдрома системного воспалительного ответа. Это физиологичный ответ на «замусоривание» межклеточной среды большими

эндогенными флогенами. Секретция нейтрофилами АФК предназначена для окисления белка, для апоВ-100, формирования афизиологических эпитопов, определяя которые Толл-подобные рецепторы признают безлигандные ЛП как «не свои». Окисление же при этом МЖК и ННЖК в составе безлигандных ЛП является, вероятно, побочным химическим процессом.

Если количество секретированных нейтрофилами АФК оказывается непропорционально велико для субстрата, который требуется физиологично денатурировать, в биологической реакции воспаления происходит активация синдрома компенсаторной противовоспалительной защиты. Реализует его антиокислительная система, которая состоит *in vivo* из экзогенных и эндогенных акцепторов АФК. Экзогенными инактиваторами АФК являются гидрофильная аскорбиновая кислота, гидрофобные  $\alpha$ -токоферол и  $\beta$ -каротин; эндогенными захватчиками являются специализированные ферментные системы инактивации АФК,  $\omega$ -9 С18:1 олеиновая МЖК, мочевиная кислота и даже билирубин, специфические системы инактивации АФК, такие как глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы.

О модифицированных ЛП как промежуточных формах в физиологической реакции воспаления написано много.

1. Охарактеризованы биохимические и физико-химические реакции, которые приводят к их образованию [25, 26].
2. Предложены разные физико-химические методы определения модифицированных ЛП в плазме крови [27, 28].
3. Выявлены физико-химические различия физиологических ЛПОНП и ЛПНП по сравнению с безлигандными, физиологично денатурированными ЛП (размеры, плотность, наличие отрицательно-

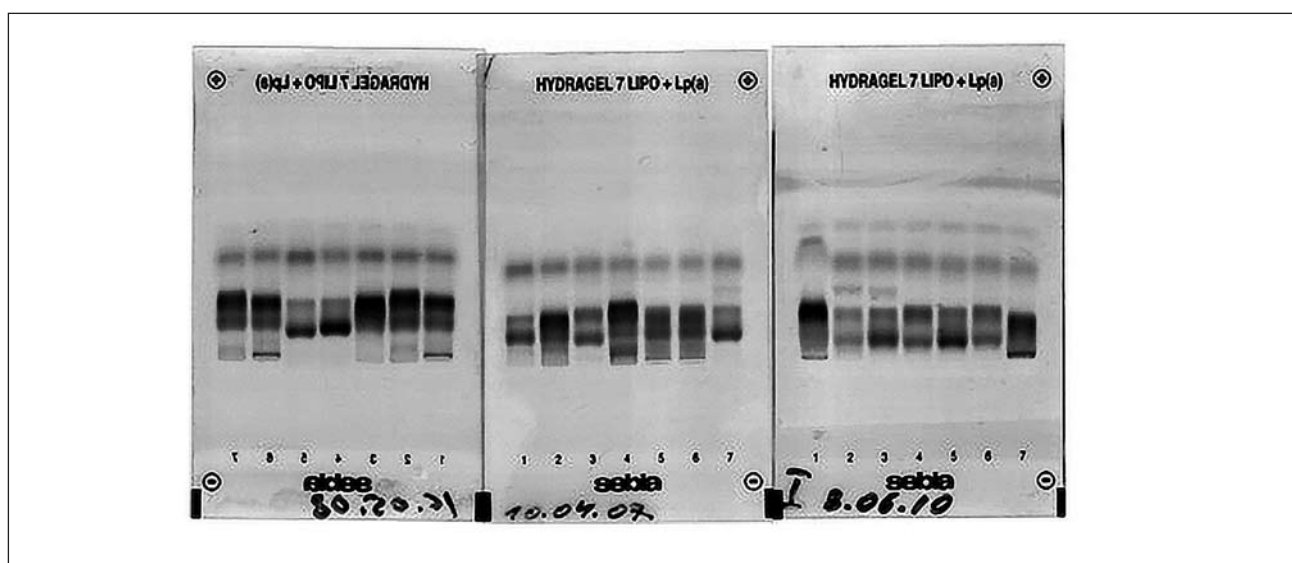
го заряда, сниженное содержание ФЛ и ТГ) [29] (рис. 5).

4. Выяснено воздействие нейтрофилов на безлигандные ХМ, ЛПОНП и ЛПНП с формированием физиологических модифицированных форм и *in situ* в интима артерий [30].
5. Установлены механизмы физиологической денатурации нейтрофилами безлигандных ЛП путем перекисного окисления апоВ-100 (формирование иммуногенных детерминант) [31], а заодно происходит и окисление ЖК.
6. Взаимодействие модифицированных ЛП с компонентами гликокаликса и оседлыми макрофагами в интима артерий.
7. Определена повышенная склонность модифицированных ЛП к агрегации при наличии на поверхности отрицательного заряда; этого нет в физиологических ЛПНП [32].
8. Ведущая роль безлигандных модифицированных ЛП в формировании липидных атероматозных масс в интима артерий [20].

Модификацию ЛПОНП и ЛПНП формируют биохимические реакции сialiрования, гликирования, ацилирования, ацетилирования, нитрозилирования, формирование аутоантител к эпитопам модифицированных безлигандных ХМ, ЛПОНП и ЛПНП. В модифицированных ЛПНП по сравнению с физиологическими изменена третичная структура апоВ-100: а) нет активной конформации; б) модифицированные ЛП не могут связывать клетки при действии апоЕ/В-48-, апоЕ/В-100- рецепторов.

В биологической реакции воспаления при накоплении в межклеточной среде безлигандных пре-ХМ и пре-ЛПОНП в интима артерий формируется деструктивно-воспалительное поражение по типу атеротромбоза с формированием мягких, объемных, богатых пальмитиновыми и олеиновыми

**Рис. 6.** Фракция  $\beta$ -ЛП с окисленными ЛПНП приближается к  $\alpha$ -ЛП наиболее близко



Примечание: полоса ЛП за фракцией ЛП – ЛП (а); перед – НЭЖК + альбумин.

ТГ бляшек. Они склонны к разрыву монослоя эндотелия, который их покрывает, с формированием тромбоза коронарных артерий.

Если в плазме крови накапливаются постлигандные ЛП, в интима артерий формируется деструктивно-воспалительное поражение по типу атероматоза. При этом образуются плотные, плоские, не суживающие просвет сосуда атероматозные массы из поли-ЭХС и кристаллов ХС моногидрата. Подобные бляшки не рвутся, но в центре некротизированные массы подвергаются эрозии, которая также является местом тромбоза коронарных артерий. Из десяти эпизодов разрыва бляшек в интима артерий девять являются мягкими, атеротромботическими и только одна — атероматозной.

Основная роль в формировании деструктивно-воспалительного процесса в интима артерий принадлежит оседлым (резидентным) макрофагам. Они призваны утилизировать разнообразный эндогенный и экзогенный биологический «мусор», который макрофаги поглощают при функции рецепторов-мусорщиков [33]. Макрофаги поглощают и все пре-ЛП и постлигандные-ЛП; они воспринимают ЛП как денатурированные макромолекулы белка. Имея высокоактивные лизосомы с разными гидролазами, оседлые макрофаги подвергают гидролизу все эндогенные флогены и экзогенные патогены с образованием аминокислот, коротких пептидов и малого биологического «мусора», который почки экскретируют с мочой.

Когда дело доходит до гидролиза поли-ЭХС, оказывается, что в лизосомах макрофагов низкая активность кислых гидролаз [34]. Согласно филогенетической теории общей патологии, макрофаги начали функцию на ранних ступенях филогенеза, когда все ЖК к клеткам переносили только ЛПВП и в форме только полярных липидов. В силу филогенетически раннего происхождения макрофаги не имеют на плазматической мембране апоВ-100-рецепторов, а в лизосомах нет кислой гидролазы для поли-ЭХС, для ПНЖК этерифицированных спиртом ХС. Поли-ЭХС накапливаются в цитозоле, формируют афизиологичные пенистые клетки, которые погибают по типу некроза. С этого момента деструктивное поражение интимы становится деструктивно-воспалительным. Массу некротизированных пенистых клеток со всеми поли-ЭХС начинают поглощать новые сформированные моноциты→макрофаги, и афизиологичный процесс продолжается. Основным компонентом бляшек, которые формируют макрофаги из пост-ЛП, являются поли-ЭХС. Это те ПНЖК, которых столь недостает всем клеткам *in vivo*. Дефицит в клетках ПНЖК и формирует патогенетическую основу атеросклероза.

В клинической биохимии содержание модифицированных ЛПНП не определяют; необходимости нет. При проведении электрофореза ЛП разная длина пробега фракции  $\beta$ -ЛП указывает на присутствие модифицированных ЛП, заряженных от-

рицательно; они продвигаются к аноду на большее расстояние, ближе к фракции  $\alpha$ -ЛП (рис. 6). Вне сомнения, все апоВ-100 ЛП, содержание которых в плазме крови натошак превышает физиологичное, являются функционально денатурированными или модифицированными. Клиническая биохимия разумно консервативна; если два теста достоверно, высокосвязно коррелируют между собой, один из них в диагностике явно не нужен. Вместе с тем при оценке разными методами показана высокая коррелятивная зависимость между содержанием модифицированных ЛП, уровнем ТГ в плазме крови и величиной ХС-ЛПНП. Величина ХС-ЛПНП достоверно информирует, что эквивалентно содержанию спирта ХС в межклеточной среде происходит накопление ПНЖК, которые по причине отсутствия у ЛПНП лиганда не могут поглотить клетки; биодоступность ПНЖК для клеток *in vivo* становится низкой, и все столь необходимые ПНЖК становятся компонентами атероматозных масс в интима.

Каким бы из методов мы бы ни определяли содержание модифицированных ЛПНП, оно всегда высокосвязно коррелирует с ХС-ЛПНП. Поскольку ХС-ЛПНП определять существенно проще, определение модифицированных ЛПНП в диагностике не востребовано. Применение статинов понижает в крови содержание модифицированных, электро-негативных ЛПНП; параллельно уменьшаются в плазме крови уровень ХС-ЛПВП и содержание ТГ. В эксперименте показано, что скорость движения  $\beta$ -ЛП при электрофорезе зависит от длительности преинкубации с АФК. Чем более окисленными (физиологично денатурированными) являются апоВ-100 в составе ЛПНП, тем большим (правда, на пару миллиметров) является их продвижение к аноду.

Все рассуждения о первичной активации перекисного окисления апоВ-100 и липидов (ЖК) *in vivo* лишены достаточного основания. Ни при каких условиях ЛПОНП и ЛПНП, если они формируют апоЕ/В-100- или апоВ-100-лиганды, не будут модифицированы; их быстро поглотят клетки. Для модификации же ЛП требуется длительное время. Если ХМ, ЛПОНП и ЛПНП не сформировали лиганд и их длительно не поглощают клетки, нейтрофилы подвергают апоВ-100 физиологичной денатурации; вот тогда их и модифицируют активные молекулы. Функция нейтрофилов — всегда субстратзависимая реакция в рамках биологической функции трофологии (питания) и биологической функции эндоэкологии, биологической реакции воспаления. Все способы модификации являются патологическими и происходят, когда в межклеточной среде повышено содержание афизиологичных метаболитов, в частности глюкозы и гликотоксинов при сахарном диабете. Наиболее атерогенными ЛП, согласно единому мнению, являются малые, плотные ЛПНП-4, которые образуются в кровотоке из пальмитиновых ЛПОНП→ЛПНП [35]. В них избыточное количество пальмитиновых ТГ является филогенетически

ранним, физиологичным, но далеко не оптимальным субстратом для гидролиза постгепариновой ЛПЛ [36]. Основной причиной повышения в крови содержания физиологично денатурированных, модифицированных пост-ЛП является нарушение биологической функции трофологии, биологической реакции экзотрофии и высокого содержания в пище пальмитиновой НЖК.

В клинической биохимии определение патологически модифицированных безлигандных ЛП в плазме крови, как и содержание антител к ним, в диагностике не используют. Каким бы образом ни были функционально денатурированы или патологически модифицированы ЛПОНП и ЛПНП, клетки не будут поглощать безлигандные ЛП. Физиологичной денатурации при действии нейтрофилов или патологической модификации при реакции апоВ-100 *in vivo* с промежуточными метаболитами биохимических реакций подвержены только безлигандные (пре- и постлигандные) ХМ, ЛПОНП и ЛПНП. Их в физиологичные сроки рецепторным путем не поглотили клетки. Все ЛП, которые подвергаются *in vivo* физиологичной денатурации или патологической модификации, имеют нарушенную конформацию апоВ-100 и могут быть поглощены только клетками-мусорщиками. При этом нет разницы, каким способом (физиологично или патологически) они денатурированы; для рецепторов клеток-мусорщиков это значения не имеет.

Модификация ЛП – это биохимические реакции третьего порядка. Первой причиной склонности ЛПОНП к патологической модификации является изменение физиологичного содержания пальмитиновых ТГ. Причиной реакций второго порядка являются сложности формирования активной конформации апоВ-100 и активного положения апоВ-100-лигандов. И только реакцией третьего порядка является ковалентное образование модифицированных ЛП. Обязательным условием модификации является афизиологично длительное пребывание ХМ, ЛПОНП и ЛПНП в крови. Имеет значение и повышение в крови концентрации того анализата,

который осуществляет модификацию апоВ-100 в составе ЛП. Модифицированными ЛП являются и иммунные комплексы апоВ-100:антитело.

Если взять за основу новую, филогенетическую теорию общей патологии, придет понимание того, что основной причиной формирования атеросклероза является неблагоприятное воздействие внешней среды, нарушение биологической функции питания, биологической реакции экзотрофии. Содержание в современной пище пальмитиновой НЖК превышает все возможности ее переноса в составе ЛП. За предшествующие миллионы лет филогенеза содержание в пище пальмитиновой НЖК не превышало 15% от количества всех ЖК. На этой основе реально выстроить практически значимую диетотерапию [37], профилактику атеросклероза, атероматоза интимы артерий эластического типа и острого коронарного синдрома.

Если же за давностью заболевания одной строгой диетотерапии оказывается в короткие сроки недостаточно, необходима индивидуально подобранная терапия гиполипидемическими препаратами [38], особенно теми, которые способствуют уменьшению *in vivo* эндогенного и экзогенного количества пальмитиновой НЖК в пероксисомах [39] до того, как она окажется этерифицированной в ТГ и включенной в состав ЛПОНП. Это ПНЖК  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6, фибраты, глитазоны, липоевая ЖК, флавоны и флаваноиды. Применение статинов для этих физиологичных целей не очень эффективно; действие статинов биологически обоснованно, но клинически эффективным не является и уровень летальности от острого коронарного синдрома они не уменьшают.

### Конфликт интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список литературы

1. Titov V.N. The theory of humoral pathology K. Rokitansky, Virchow's cellular pathology and the new phylogenetic theory of the formation of the disease. The etiology and pathogenesis of "metabolic pandemic". *Klinicheskaya medicina*. 2013;4:4-11. In Russian (Титов В.Н. Теория гуморальной патологии К. Рокитанского, клеточная патология Р. Вирхова и новая филогенетическая теория становления болезни. Этиология и патогенез «метаболических пандемий». *Клин. медицина*. 2013;4:4-11).
2. Akmurzina V.A. Search lipid markers associated with risk of development of late complications of diabetes first type. *Avtoreferat dissertazii kandidata khimicheskib nauk*. M. 2012. Biofakul'tet MGU. In Russian (Акмурзина В.А. Поиск липидных маркеров, ассоциированных с риском развития поздних осложнений сахарного диабета первого типа. Автореф. дисс. ... канд. хим. наук. М. 2012. Биофак МГУ).
3. Titov V.N. The role of cholesterol esters in triglyceride transport. *Biokhimiya*. 1995;60(9):1371-81. In Russian (Титов В.Н. Роль эфиров холестерина в транспорте триглицеридов. *Биохимия*. 1995;60(9):1371-81).

4. Pastukhov Yu.F., Khudik K.A., Ekimova I.V. Chaperones in the regulation and restoration of physiological functions. *Rossiyskiy fiziologicheskiy jurnal*. 2010;96(7):708-25. In Russian (Пастухов Ю.Ф., Худик К.А., Екимова И.В. Шапероны в регуляции и восстановлении физиологических функций. *Росс. физиол. журнал*. 2010;96(7):708-25).
5. Korotaeva A.A., Golovanova N.K., Vlasik T.N., Yanushevskaya N.V., Cybulski V.P., Yakushkin V.V., Tvorogova M.G., Morozkin A.D., Prokazova N.V. Protein immunoreactivity of apo B-100 and LDL binding to the LDL receptor treated with phospholipase A2. *Biokhimiya*. 1998;63(12):1682-90. In Russian (Коротаева А.А., Голованова Н.К., Власик Т.Н., Янушевская Е.В., Цибульский В.П., Якушкин В.В., Творогова М.Г., Морозкин А.Д., Проказова Н.В. Иммунореактивность апобелка В-100 и связывание с ЛНП-рецептором липопротеинов низкой плотности, обработанных фосфолипазой А2. *Биохимия*. 1998;63(12):1682-90).
6. Prassi R. Human low density lipoprotein: the mystery of core lipid packing. *J. Lipid. Res.* 2014;52(2):187-8.
7. Yanushevskaya E.V., Valentinova N.V., Mendeleva N.V. Protein immunoreactivity of apo B-100 and LDL Binding to the LDL receptor treated with phospholipase A2. *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya*. 1999;5:241-51. In Russian (Янушевская Е.В., Валентинова Н.В., Менделеева Н.В. и др. Иммунохимическая гетерогенность липопротеинов низкой плотности человека. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 1999;5:241-51).
8. Ejargue I., Real J.T., Martinez-Hervas S. Evaluation of clinical diagnosis criteria of familial ligand defective apoB-100 and lipoprotein phenotype comparison between LDL receptor gene mutations affecting ligand-binding domain and the R3500Q mutation of the apoB gene in patients from a South European population. *Transl. Res.* 2008;151(3):162-7.
9. Rutledge A.C., Su Q., Adeli K. Apolipoprotein B100 biogenesis: a complex array of intracellular mechanisms regulating folding, stability, and lipoprotein assembly. *Biochem. Cell. Biol.* 2010;88(2):251-67.
10. Al-Ali H., Kbachfe H.M. The N-terminal domain of apolipoprotein B-100: structural characterization by homology modeling. *BMC Biochem.* 2007;22:12-20.
11. Krisko A., Etchebest C. Theoretical model of human apolipoprotein B-100 tertiary structure. *Proteins*. 2007;66(2):342-58.
12. Kumar V., Butcher S.J., Oorni K., Engelhardt P., Heikkonen J., Kaski K., Ala-Korpela M., Kovanen P.T. Three-dimensional cryoEM reconstruction of native LDL particles to 16 Å resolution at physiological body temperature. *PLoS One*. 2011;6(5):18841-46.
13. Liu V., Atkinson D. Immuno-electron cryo-microscopy imaging reveals a looped topology of apoB at the surface of human LDL. *J. Lipid. Res.* 2011;52:1111-19.
14. Titov V.N. The structure of apoB-100 LP low density. *Biokhimiya*. 1997;62(1):3-19. In Russian (Титов В.Н. Структура апоВ-100 ЛП низкой плотности. *Биохимия* 1997;62(1):3-19).
15. Zheng L., Song J., Cavigiolio G., Ishida B.Y., Zhang S., Kane J.P., Weisgraber K.H., Oda M.N., Rye K.A., Pownall H.J., Ren G. Morphology and structure of lipoproteins revealed by an optimized negative-staining protocol of electron microscopy. *J. Lipid. Res.* 2011;52:175-84.
16. Segrest J.P., Jones M.K., Loof H., Dashti N. Structure of apolipoprotein B-100 in low density lipoproteins. *J. Lipid. Res.* 2001;42:1346-62.
17. Zhong S., Magnolo A.L., Sundaram M., Zhou H., Yao E.F., Di Leo E., Loria P., Wang S., Bamji-Mirza M., Wang L., McKnight C.J., Figeys D., Wang Y., Tarugi P., Yao Z. Nonsynonymous mutations within APOB in human familial hypobetalipoproteinemia: evidence for feedback inhibition of lipogenesis and postendoplasmic reticulum degradation of apolipoprotein B. *J. Biol. Chem.* 2010;285(9):6453-64.
18. Titov V.N., Alidjanova H.G., Malyshev P.P. Familial hypercholesterolemia. Etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Semeynaya giperholesterinemiya. Etiologiya, patogenez, diagnostika i lecheniye*. M.: Binom. 2011. 624 p. In Russian (Титов В.Н., Алиджанова Х.Г., Малышев П.П. Семейная гиперхолестеринемия. Этиология, патогенез, диагностика и лечение. М.: Изд-во «БИНОМ». 2011. 624 с.).
19. Blake G.J., Albert M.A., Rifai N., Ridker P.M. Effect of pravastatin on LDL particle concentration as determined by NMR spectroscopy: a substudy of a randomized placebo controlled trial. *Eur. Heart. J.* 2003;24:1843-7.
20. Blanko P.J., Villegas S., Beniez S., Bancells C., Diercks T., Ordycz-Llanos J., Sánchez-Quesada J.L. 2D-NMR reveals different populations of exposed lysine residues in the apoB-100 protein of electronegative and electropositive fractions of LDL particles. *J. Lipid. Res.* 2010; 51(6):1560-5.
21. Titov V.N. The high content of palmitic fatty acid in the diet — the main reason for raising low-density lipoprotein cholesterol atheromatosis of the intima of the arteries. *Aterosklero i dislipidemii*. 2012;3:48-57. In Russian (Титов В.Н. Высокое содержание пальмитиновой жирной кислоты в пище — основная причина повышения холестерина липопротеинов низкой плотности и атероматоза интимы артерий. *Атеросклероз и дислипидемии*. 2012;3:48-57).
22. Kotronen A., Velagapudi V.R., Yetukuri L., Westerbacka J., Bergholm R., Ekroos K., Makkonen J., Taskinen M.R., Oresic M., Yki-Jörvinen H. Serum saturated fatty acids containing triacylglycerols are better markers of insulin resistance than total serum triacylglycerol concentrations. *Diabetologia*. 2009;52:684-90.

23. Wang X., Pease R., Bertinato J., Milne R.W. Well-defined regions of apolipoprotein B-100 undergo conformational change during its intravascular metabolism. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000;20:1301-8.
24. Rogkova T.A., Malyshev P.P., Titov V.N. Evaluation parameters dependent complex genetically apolipoprotein A-II, B, C-III, E and Lp (a) in patients with hypertriglyceridemia. *Aterosklero i dislipidemii.* 2013;2:40-5. In Russian (Рожкова Т.А., Малышев П.П., Титов В.Н. и др. Оценка комплекса генетически зависимых показателей аполипопротеинов А-I, В, С-III, Е и липопротеина (а) у пациентов с гипертриглицеридемией. *Атеросклероз и дислипидемии.* 2013;2:40-5).
25. Lankin V.Z., Konvalova G.G., Tikbaze A.K. Effect of atherogenic aldehyde compounds on the activity of antioxidant enzymes. *Kardiologicheskii vestnik.* 2011;6(18):26-30. In Russian (Ланкин В.З., Коновалова Г.Г., Тихазе А.К. Влияние атерогенных альдегидных соединений на активность антиоксидантных ферментов. *Кардиол. вестник.* 2011; 6(18):26-30).
26. Yamilton P.T., Asatryan L., Nilsen J.T., Isas J.M., Gallaber T.K., Sawamura T., Hsiai T.K. LDL protein nitration: implication for LDL protein unfolding. *Arch. Biochem. Biophys.* 2008;479(1):1-14.
27. Sobenin I.A., Karagodin A.A., Mel'nichenko A.A., Orekhov A.N. Cholesterol circulating immune complexes as an indicator of atherosclerosis. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2012;3:99-103. In Russian (Собенин И.А., Карагодин А.А., Мельниченко А.А., Орехов А.Н. Холестерин циркулирующих иммунных комплексов как индикатор атеросклероза. *Патол. физиол. и эксп. терапия.* 2012;3:99-103).
28. Schoybonov B.B., Baronez V.Yu., Panchenko L.F. A simple method of determining the modified low-density lipoprotein. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2012;2:77-83. In Russian (Шойбонов Б.Б., Баронец В.Ю., Панченко Л.Ф. и др. Простой способ определения модифицированных липопротеинов низкой плотности. *Патол. физиол. и эксп. терапия.* 2012;2:77-83).
29. Kumskova E.M., Antonova O.A., Balacsbov S.A. Influence of natural carbonyls on the structural and functional properties of low-density lipoprotein and endothelial cells. *Kardiologicheskii vestnik.* 2012;7(19):41-7. In Russian (Кумскова Е.М., Антонова О.А., Балацшов С.А. и др. Влияние природных дикарбониллов на структурно-функциональные свойства липопротеидов низкой плотности и эндотелиоцитов. *Кардиол. вестник.* 2012;7(19):41-7).
30. Obama T., Kato R., Masuda Y., Takabasbi K., Aiuchi T., Itabe H. Analysis of modified apolipoprotein B-100 structures formed in oxidized low-density lipoprotein using LC-MS/MS. *Proteomics.* 2007;7(3):2132-41.
31. Bancelis C., Benitez S., Ordonez-Loanos J., Curni K., Kovanen P.T., Milne R.W., S6nchez-Quesada J.L. Immunochemical analysis of the electronegative LDL subfraction shows that abnormal N-terminal apolipoprotein B conformation is involved in increased binding to proteoglycans. *J. Biol. Chem.* 2011;286(2):1125-33.
32. Mello A.P., da Silva I.T., Abdalla D.S., Damasceno N.R. Electronegative low-density lipoprotein: origin and impact on health and disease. *Atherosclerosis.* 2011;215(2):257-65.
33. Moore K.J., Freeman M.W. Scavenger receptors in atherosclerosis beyond lipid uptake. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006;26:1702-11.
34. Shapiro H., Lutaty A., Ariel A. Macrophages, meta-inflammation, and immuno-metabolism. *Sci. World. J.* 2011;11:2509-29.
35. Ito Y. Apolipoprotein B and small, dense LDL-C. *Rinsbo. Byori.* 2012;60(4):336-42.
36. Younis N.N., Soran H., Pemberton P., Charlton-Menys V., Elseweidy M.M., Durrington P.N. Small dense LDL is more susceptible to glycation than more buoyant LDL in Type 2 diabetes. *Clin. Sci.* 2013;124(5):343-9.
37. Wojczynski M.K., Glasser S.P., Oberman A., Kabagambe E.K., Tsai M.Y., Ordovas J.M., Straka R.J., Arnett D.K. High-fat meal effect on LDL, HDL, and VLDL particle size and number in the Genetics of Lipid-Lowering Drugs and Diet Network (GOLDN): an interventional study. *Lipids. Dis.* 2011;10:181-92.
38. Tribble D.L., Farnier M., Macdonell G., Perevozskaya I., Davies M.J., Gumbiner B., Musliner T.A. Effects of fenofibrate and ezetimibe, both as monotherapy and in coadministration, on cholesterol mass within lipoprotein subfractions and low-density lipoprotein peak particle size in patients with mixed hyperlipidemia. *Metabolism.* 2008;57(6):796-801.
39. Ghoneim W., El-Bassyouni H.T., Abdel Maksoud S.A. Peroxisomal biogenesis disorder biomarkers. *Clin. Lab.* 2011;57(7-8):469-80.