

Торховская Т. И., Кудинов В. А., Захарова Т. С., Маркин С. С.
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича», Москва

ДИСФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ЛИПОПРОТЕИНЫ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ: РОЛЬ В АТЕРОГЕНЕЗЕ И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МИШЕНИ ДЛЯ ФОСФОЛИПИДНОЙ ТЕРАПИИ

Ключевые слова: липопротеины высокой плотности, клеточный холестерин, макрофаги, липидомика, фосфолипиды.

Ссылка для цитирования: Торховская Т. И., Кудинов В. А., Захарова Т. С., Маркин С. С.

Дисфункциональные липопротеины высокой плотности: роль в атерогенезе и потенциальные мишени для фосфолипидной терапии. Кардиология. 2018;58(3):73–83.

РЕЗЮМЕ

В последние годы резко увеличилось число публикаций, посвященных нарушениям у больных атеросклерозом свойств липопротеинов высокой плотности (ЛВП) – в первую очередь способности акцептировать холестерин (ХС) из макрофагов, лежащей в основе их антиатерогенного действия. Это свойство оценивали *ex vivo* – по активности выхода ХС из клеток к ЛВП или в сыворотку обследуемых больных. Показана обратная связь ХС-акцепторной активности ЛВП с тяжестью атеросклеротического заболевания или частотой его обострения в течение длительных периодов наблюдения, независимо от концентрации ХС ЛВП. Результаты этих исследований привели к появлению концепции о важности «не только количества, но и качества ЛВП», т. е. их функциональности. В настоящем обзоре рассмотрены пути выведения ХС из клеток (с участием клеточных белков), методические подходы, используемые для выявления дисфункциональных ЛВП, результаты исследований у различных категорий больных. Приведены данные разных авторов по выявлению механизмов нарушений свойств ЛВП путем изучения их состава, включая протеомные и липидомные подходы. Определенных доказанных мишеней для коррекции дисфункциональности ЛВП в настоящее время нет. Единственный фактор, отмечаемый многими авторами, это существенная роль фосфолипидов (ФЛ) ЛВП, уровень которых коррелирует с активностью выведения клеточного ХС. Это позволяет по-новому взглянуть на применявшуюся ранее фосфолипидную терапию атеросклероза. Механизм ее заключается, по-видимому, не в снижении уровня ХС в плазме крови, как ожидалось, а в улучшении антиатерогенных свойств ЛВП. Для практического ее применения необходима разработка принципиально новых композиций с высокой биодоступностью ФЛ, обогащающих ЛВП, нормализующих их способность к выведению ХС из тканей.

Torkhovskaya T. I., Kudinov V. A., Zakharova T. S., Markin S. S.
Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

DYSFUNCTIONAL HIGH-DENSITY LIPOPROTEINS: ROLE IN ATHEROGENESIS AND POTENTIAL TARGETS FOR PHOSPHOLIPID THERAPY

Keywords: high-density lipoproteins; cell cholesterol efflux; macrophages; lipidomics; phospholipids.

For citation: Torkhovskaya T. I., Kudinov V. A., Zakharova T. S., Markin S. S. Dysfunctional High-Density Lipoproteins: Role in Atherogenesis and Potential Targets for Phospholipid Therapy. Kardiologia. 2018;58(3):73–83.

SUMMARY

In recent years the number of articles on damages of high-density lipoproteins (HDL) properties in patients with atherosclerosis has sharply increased. First, it concerns their ability to accept cholesterol (CH) from macrophages – the basis of antiatherogenic action of HDL. This ability was assessed *ex vivo* – by activity of cell cholesterol (CH) efflux to HDL or into patient's serum. In many works inverse relationship was shown between CH acceptor capacity of HDL and severity of atherosclerotic disease or frequency of its exacerbations during long-term observation, independent from HDL CH concentration. This led to the emergence of the concept of importance of “not only HDL quantity but also of their quality”, i. e. functionality. In this review we consider pathways of cellular CH efflux (mainly mediated by cell proteins), methods used for detection of dysfunctional HDL, and results of relevant studies in various categories of patients. These studies directed to identification of mechanisms of damages of HDL properties by means of analysis of their composition, used various approaches including those of proteomics and lipidomics. However, now there are no proven targets for correction of HDL dysfunctionality. The only factor, that is underlined by many authors, is the significance of HDL phospholipids, which level correlates with activity of cellular CH efflux. This allows to take a fresh look at previously used phospholipid therapy of atherosclerosis. Its mechanism is apparently not lowering of plasma CH, as was previously expected, but the improvement of HDL antiatherogenic properties. For its practical usage it is necessary to elaborate principally novel formulations with high bioavailability of phospholipids – for HDL enrichment by phospholipid and thereby normalization of their ability to remove CH from tissues.

Обратное соотношение между риском прогрессирования коронарного атеросклероза и концентрацией в плазме крови липопротеинов высокой плотности (ЛВП) известно уже около 40 лет. Уровень ЛВП, измеряемый по концентрации транспортируемого ими холестерина (ХС), входит в список традиционных клинических показателей. Основным механизмом этого эффекта наряду с рядом других функций ЛВП считают их способность акцептировать из мембран клеток и транспортировать в печень ХС, осуществляя тем самым его «обратный транспорт» [1, 2]. Меньшая заболеваемость ишемической болезнью сердца (ИБС) у лиц с высокой концентрацией ХС ЛВП [3] инициировала поиск путей его повышения, и были созданы такие препараты, как ниацин, ингибирующий катаболизм основного белка ЛВП апоА1, а также ряд ингибиторов белка – переносчика эфиров ХС (cholesterol esters transport protein, СЕТР) – торцетрапиб, далцетрапиб, JТТ-705 и др. [4]. Этот белок транспортирует ХС (в виде эфиров) из ЛВП к липопротеинам низкой плотности (ЛНП), и его ингибирование, удерживая ХС в составе ЛВП, повышает концентрацию ХС ЛВП и, как надеялись, будет тем самым усиливать и их антиатерогенное действие. У кроликов с алиментарным атеросклерозом при введении JТТ-705 наблюдали снижение прогрессирования поражения аорты [5]. Однако клинические исследования ингибиторов СЕТР, включавшие большое число больных ИБС, не показали улучшений терапевтических показателей, т.е. увеличение уровня ХС ЛВП не приводило к ожидаемому защитному действию [4]. Причина этого широко обсуждалась, и сложилось представление, что такой показатель, как ХС ЛВП, не всегда оказывается достаточным. ХС составляет в ЛВП в среднем всего 25–30% от общей массы [1], и оценка уровня (и, автоматически, эффекта) ЛВП только по уровню ХС была бы верной лишь при постоянстве соотношения компонентов. Однако это опровергается разнообразием их субфракционного состава [2, 6], а также негативными клиническими последствиями повышения уровня ХС ЛВП под действием ингибиторов СЕТР [4]. Такой результат, по нашему мнению, связан с перегруженностью частиц ЛВП эфирами ХС, и вследствие этого, торможением ряда метаболических реакций, нужных для нормального функционирования частиц ЛВП. Полученные результаты инициировали исследования, направленные на выявление антиатерогенной значимости других показателей, связанных с ЛВП.

У больных различных контингентов изучали уровень отдельных фракций ЛВП, а также мелких плотных пре-β-ЛВП, включающих свободный или «слабо липидированный» апоА1.

По данным большинства авторов, наибольшую функциональную активность проявляют фракции малых плотных частиц ЛВП – ЛВП_{3b} и ЛВП_{3c}, хотя из-за сложности путей превращения фракций ЛВП основные детерминан-

ты атеропротективных функций этого класса ЛП считают еще не идентифицированными [2]. В этом отношении наряду с антиатерогенным значением обратного транспорта ХС [1] интерес к нему обусловлен и тем, что он является основным путем биогенеза и созревания частиц ЛВП [7].

В качестве критерия его интенсивности в ряде последних работ наряду с ХС ЛВП стали использовать данные по способности ЛВП извлекать ХС из различных видов клеток, в основном макрофагов. Результаты этих исследований у больших контингентов больных привели к появлению новой концепции – «дисфункциональности» ЛВП, значимости не только их количества, но и «качества», в частности, ХС-акцептирующих свойств [6–8], что и явилось темой настоящего обзора. Вопросы нарушений других антиатерогенных функций ЛВП не входили в задачу обзора и детально рассмотрены другими авторами [1].

Активность выведения клеточного ХС у больных коронарным атеросклерозом, независимая от уровня ХС ЛВП

Впервые оценка активности выведения ХС при моделировании этого процесса в условиях *ex vivo* была проведена у 645 больных ИБС в 2011 г. [8]. Авторы проводили насыщение мышинных макрофагов меченым ХС и затем инкубировали их с сывороткой, из которой были удалены апоВ-содержащие ЛП [9]. Выход клеточного ХС оценивали по радиоактивности, а в качестве клинического критерия использовали определяемую с помощью ультразвука толщину интимы-медии (ТИМ) сонной артерии. Выведение ХС сывороткой больных ИБС оказалось значительно слабее, чем у здоровых лиц. Была также выявлена обратная корреляция интенсивности выведения ХС с ТИМ. Эти взаимоотношения не зависели от уровня ХС ЛВП [8, 10].

Обратная связь ХС-акцепторной способности плазмы с выраженностью ИБС показана в 2015–2016 гг. в более 10 клинических исследованиях – как у пациентов, проходивших амбулаторное лечение или обследование, так и в условиях госпитализации [7, 8, 11–17]. В отношении связи этого показателя с уровнем ХС ЛВП результаты противоречивы. В большинстве работ отмечается ее отсутствие, хотя в ряде случаев наблюдалась положительная корреляция с уровнем ХС ЛВП или с общей концентрацией ЛВП, измерявшейся методом ядерно-магнитного резонанса [18]. У больных с редким фенотипом ИБС при крайне высоком уровне ХС ЛВП (в среднем 86 мг/дл) выход ХС в плазму из макрофагов J774 *ex vivo* оказался ниже, чем у здоровых лиц с аналогичным значением этой величины [3]. В работе на крысах, трансгенных по апоА1, линейная зависимость выхода ХС из клеток Fu5AH от концентраций ХС ЛВП и апоА1 наблюдалась только в ограниченных диапазонах значений этих величин [9]. Это указывает как на роль уровня ХС ЛВП

в сыворотке крови, так и на его недостаточность и наличие других влияющих факторов. В целом способность ЛВП плазмы крови акцептировать ХС из клеток оказывается ценным диагностическим критерием оценки риска развития ИБС и может служить, по мнению многих авторов, новым информативным биомаркером [11–17].

Неожиданное исключение составили данные Х.М. Li и соавт. (2013), исследовавших выход ХС из макрофагов RAW264.7 в двух когортах больных – с ангиографически подтвержденной ИБС и у амбулаторных пациентов [19]. В обеих когортах повышенный выход ХС из макрофагов, осуществляемый с участием клеточного транспортера ABCA1, был сопряжен с меньшим риском возникновения или обострения ИБС в течение последующих 3 лет. Однако при статистической обработке полученных данных с учетом традиционных факторов риска развития ИБС (возраст, пол, курение, наличие сахарного диабета или артериальной гипертензии, уровни ХС ЛНП и ХС ЛВП) такая зависимость сохранялась только у амбулаторных пациентов. Для больных с подтвержденным поражением сосудов количество острых сердечно-сосудистых осложнений (инфаркт миокарда, инсульт) оказалось неожиданно для самих авторов несколько большим у больных, отнесенных к верхнему терцилю по выходу ХС. Обсуждая эти результаты, А. V. Khera с соавт. – одни из основоположников концепции функциональности ЛВП [8] – высказывают предположение, что при выраженном поражении сосудов острое изменение атеросклеротической бляшки, запускаящее коронарное осложнение, может быть связано и с другими факторами, помимо общей тяжести атеросклероза [10]. Предполагают возможное действие ряда факторов, содержащихся в плазме помимо ЛВП и косвенно коррелирующих с активностью выведения ХС, например, влияние альбумина [19] или сывороточного амилоида SAA [20]. Кроме того, в данном исследовании не оценивали общего выхода ХС (помимо опосредованного ABCA1) [10], и число больных (n=113) считают относительно небольшим по сравнению с таковым в других работах [11–17]. Отмечают важность дальнейших исследований в этой области – для выяснения еще не полностью изученных процессов и взаимодействий [10].

Все последующие исследования убедительно свидетельствовали об обратной корреляции выхода ХС из клеток в сыворотку крови и клинических проявлений сосудистого заболевания. Так, в Далласском исследовании (Dallas Heart Study), проводимом в течение 9 лет у 2924 человек без ИБС, показана обратная связь частоты развившихся за этот период случаев ИБС с выходом ХС из макрофагов J774, наряду с отсутствием его зависимости от концентрации ХС ЛВП [21]. В Норфолкском исследовании (EPIC Norfolk study), проводимом у 3494 человек в течение 12–16 лет, также нашли выраженную обратную корреля-

цию выхода ХС в сыворотку из макрофагов J774 с частотой развившихся за это время случаев клинических проявлений ИБС [18]. Выход ХС положительно коррелировал и с уровнями ХС ЛВП и апоА1, однако обратная связь заболеваемости с ХС-акцепторной активностью сыворотки сохранялась и при анализе с учетом этих показателей (т.е. рассмотрении групп больных с равными или сопоставимыми с ними значениями). Авторы этих работ делают вывод, что ХС-акцепторная способность плазмы – новый информативный биомаркер, и добавление его к другим показателям повышает точность прогнозирования ИБС [18, 21]. Информативность такой функциональной оценки ЛВП обуславливает внимание многих исследователей к механизмам выведения ХС из клеток к ЛВП с целью создания стандартизованных методов его оценки и выявления потенциальных терапевтических мишеней. Проводятся также с использованием современных липидных и протеомных подходов поиски возможных биомаркеров, коррелирующих с дисфункциональностью ЛВП – для выработки более доступных методов ее своевременного выявления.

Пути выведения ХС из клеток и методы его оценки

Различные пути выведения ХС из клеток детально описаны Г.Н. Rothblatt и соавт., впервые предложившими клеточные подходы *ex vivo* для количественной оценки ХС-акцепторной активности ЛВП плазмы [9]. Авторы определяют 4 пути, различающихся в зависимости от типа клеток и природы акцептора. Это 2 активных пути с участием транслоказ мембранных липидов – АТФ-связывающих кассетных транспортеров ABCA1 и ABCG1 [9, 22], и 2 пассивных пути, основанные на диффузии ХС из мембраны, – простая диффузия через водную фазу и ускоренная диффузия, опосредованная скэвенджер-рецептором SR-B1. Для макрофагов показана возможность всех 4 путей, однако наиболее существенным и влияющим на биогенез ЛВП считают активное выведение ХС к апоА1, запускаемое через ABCA1 [6, 22] или, в меньшей степени, ABCG1 [23]. При этом предполагают, что некоторые частицы ЛВП могут действовать в начальном движении ХС из мембраны, т.е. служить «челноками» (shuttles), а затем транспортировать его к более крупным частицам – пассивным носителям (sinks). Частицы, забирающие ХС из клетки, могут быть маленькими и обладать высокой способностью захватывать ХС, но низкой способностью его удерживать; таковы, в частности, пре-β-ЛВП. А частицы ЛП, являющиеся переносчиками ХС, могут быть большего размера и относительно неэффективными в выведении ХС из клетки, но имеют более высокую способность его удерживать [9]. Дальнейшие реакции трансформации извлеченного из клетки ХС – с участием лецитинхолестеринацилтрансферазы и белка – переносчика СЕТР детально описаны ранее [1].

Транспорт, индуцируемый мембранным белком ABCA1

Этот транспортер, локализующийся в мембранах клеток, индуцирует связывание апоА1 с клеточной поверхностью, а также способен вызывать транслокацию мембранных липидов к наружному слою мембраны. Процесс осуществляется за счет гидролиза молекул АТФ на двух цитоплазматических нуклеотидсвязывающих доменах. Фосфолипид(ФЛ)-транслоказная активность ABCA1 обеспечивает транспорт ФЛ и ХС к апоА1. Основой его являются известные детергентные свойства апоА1 – способность солюбилизовать ФЛ [22]. При этом амфипатические α -спиральные цепи белка проникают в дефекты решетки в мембране, вызывая перегруппировку липидных молекул. Это в сочетании с индуцируемым ABCA1 липидтранслоказным действием способствует образованию комплекса ФЛ и ХС с апоА1, т. е. происходит процесс мембранной «микровезикуляции» липидов апопротеином А1 с образованием дискоидальных частиц ЛВП. Образующиеся при этом преобладающие насцентные ЛВП (фракции пре- β -ЛВП) содержат 2 или 3 молекулы апоА1, а также фосфатидилхолин и сфингомиелин, происходящие из мембраны. Более крупные частицы ЛВП в большей степени обогащены свободным ХС. Детальные механизмы биогенеза фракций ЛВП после их взаимодействия с ABCA1 в плане их ХС-транспортной активности нуждаются в дальнейших исследованиях [22].

Транспорт, индуцируемый ABCG1

Другим АТФ-связывающим мембранным транспортером, участвующим в выходе ХС, является белок ABCG1, экспрессирующийся в клетках разных типов, включая макрофаги. Он локализуется в эндосомах и индуцирует транспорт ХС из эндоплазматической сети к плазматической мембране. ABCG1 индуцирует также реорганизацию ХС в мембране, повышая его доступность внешним воздействиям [22] и десорбируемость в водную фазу [23]. Опосредованное ABCG1 выведение ХС к ЛВП не включает связывание частиц ЛВП с поверхностью клеток. В отличие от ABCA1 его экспрессия повышает выход ХС и ФЛ не к свободному апоА, а к частицам ЛВП [23]. Таким путем может усиливаться выход ХС к различным акцепторам, включая искусственные, в экспериментах *in vitro* – к циклодекстринам и ФЛ везикулам [22]. Показано, что повышенная экспрессия ABCG1 усиливает выход ХС в равной степени и к ЛВП₂, и к ЛВП₃ [24]. При комбинированном дефиците ABCA1 и ABCG1 у мышей образуются пенные клетки и развивается атеросклероз, т. е. ХС не выводится из макрофагов [25].

Выход ХС из клетки с участием SR-B1

На стимуляции выхода ХС из мембраны основан другой путь его перехода из клеток в ЛВП – с участием скэвенджер-рецептора SR-B1. Это олигомерный гликопротеин с двумя концевыми трансмембранными доменами и большим центральным внеклеточным доменом. Известна его роль в печени как стимулятора захвата эфиров ХС из ЛВП [1, 16]; впоследствии была также показана возможность его участия в выходе ХС из макрофагов [22]. Снижение способности к выведению ХС через SR-B1 показано для плазмы больных с уремией, повышающей риск развития ИБС [26]. На клетках разных видов продемонстрирована с использованием ФЛ-содержащих акцепторов, в том числе липосом или выделенных ЛВП, зависимость выхода ХС от уровня экспрессии SR-B1. Однако SR-B1 не влияет на выход ХС к безлипидному апоА1 [27]. На основании этого был сделан вывод, что данные пути выхода ХС – к ЛВП и к апоА1 – представляют собой независимые процессы, и связывание акцептора для SR-B1 не является определяющим [9, 27]. Считают, что он вызывает реорганизацию липидных доменов, создавая домены активированного ХС, легче десорбируемого с мембраны. Этому, вероятно, способствует локализация SR-B1 в мембранных рафтах – наиболее жестких и плотных областях мембраны, содержащих основную долю мембранного ХС и сфингомиелина [28]. Впоследствии было показано и другое действие SR-B1 – через связывание ЛВП. При этом во внеклеточном домене рецептора создается «гидрофобный туннель», через который свободный ХС по градиенту концентраций выходит из клетки к ЛВП, где его доля ниже, чем в мембране. В соответствии с этой концепцией повышение содержания ФЛ в ЛВП способствует переходу к ним ХС [29]. При этом больший транспорт свойственен более крупным частицам ЛВП – из-за их лучшего связывания с рецептором [22].

Десорбция ХС через водную фазу

И, наконец, последний, 4-й, пассивный путь выхода ХС из клеток, показанный в модельных системах – это десорбция молекулы ХС из мембраны клетки в водную фазу [22]. Несмотря на низкую водорастворимость (около 10 нМ), молекулы ХС могут десорбироваться с донорной частицы и, подвергаясь броуновскому движению в водной фазе, диффундировать до тех пор, пока не будут захвачены акцепторной частицей. В случае клетки десорбция обратима, и вероятность столкновения с исходной клеткой выше, чем с другими клетками или акцепторными частицами, ЛВП. Скорость извлечения ХС по такому механизму зависит от вероятности столкновения с акцепторной частицей, содержащей ФЛ и способной удерживать десорбировавшуюся молекулу ХС. Поэтому она возрастает с концентрацией акцептора.

В этом отношении разные частицы ЛВП (7–12 нм) являются примерно сходными акцепторами ХС из водной среды. Эффективность соударений возрастает с увеличением жидкостности монослоя ФЛ в поверхности ЛВП [22]. Предполагают, что в качестве временной «челночной» молекулы для ХС может служить и альбумин [30]. Это подтверждается данными об относительно высоком (почти 10%) содержании меченого ХС во фракции альбумина после инкубации макрофагов с сывороткой после удаления апоВ-ЛП [19]. Возможен некоторый вклад в десорбцию ХС, вместе с мембранными ФЛ, микросолюбилизирующего влияния свободного апоА1 – это свойство было продемонстрировано для некоторых амфипатических α -спиральных участков этого белка, особенно пептидов 44–65 и 209–241 [31]. В то же время нельзя не отметить, что доказательство применимости к условиям организма самой концепции пассивного водно-диффузионного выхода ХС из клеток к ЛВП, сформулированной на основе экспериментов с модельными мембранами и липосомами, методически трудно достижимо. Поэтому реальный вклад такого теоретически предсказанного транспорта в общий выход клеточного ХС пока неясен и вряд ли может быть существенным на фоне путей, катализируемых АВС-транспортерами и SR-B1 [22].

В целом множественность путей выведения ХС из клеток, их специфичность для разных типов клеток, участие различных фракций ЛВП обуславливают сложность как выявления дисфункциональности ЛВП, так и интерпретации получаемых результатов, поиска терапевтической мишени и возможности коррекции. В настоящее время на решение этих вопросов направлены усилия многих исследователей.

Методы оценки ХС-акцепторной активности ЛВП

Несмотря на показанную многими авторами высокую информативность оценки способности ЛВП к выведению клеточного ХС, в настоящее время нет единого методического подхода для ее определения, и применяемые способы различаются по 3 основным этапам: выбору клеток, характеру анализируемого образца плазмы и методу количественной оценки выхода ХС. Авторы, предложившие саму идею такого подхода [9], провели исследования на 13 видах клеточных культур – различных видах макрофагов, фибробластов или опухолевых клеток человека или экспериментальных животных, предварительно насыщая клетки меченым ХС, с последующим анализом его выхода в среду. В качестве акцептора ХС использовали препараты ЛВП или искусственные акцепторы – везикулы ФЛ, циклодекстрины. Для клеток разных типов наблюдали существенные раз-

личия в выведении ХС, однако пропорциональность соотношений между активностью разных акцепторов сохранялась [9]. Чаще всего использовали макрофаги мыши J774 [32], а также клетки COS [33], Fu5AH [34] или THP-1 [35]. В ряде работ для оценки конкретных путей выхода ХС выбирали специально клетки с повышенной экспрессией эффекторных белков – клетки гепатомы, экспрессирующие SRB-1, клетки CHO-K1 человека с трансфекцией ABCG1 [20]. Для специфического повышения экспрессии ABCA1 клетки (в частности, макрофаги J774) стимулировали предварительной обработкой производными цикло-АМФ [36]. Из-за различия результатов для разных клеток и отсутствия универсальной стандартной методологии в каждой работе проводились только сравнительные исследования – с одновременным анализом образцов, взятых у разных категорий обследуемых.

Методические различия в работах отдельных авторов заключались также в степени фракционирования исследуемой плазмы. Проводили оценку выхода ХС из клеток к выделенным ультрацентрифугированием препаратам ЛВП [37] или в цельную сыворотку [38]. В большинстве же исследований с клетками инкубировали плазму или сыворотку после предварительной преципитации апоВ-ЛП [8, 12, 18, 19, 21, 32, 39]. Для этого использовали те же реакции, что лежат в основе традиционного определения ХС ЛВП: осаждение апоВ-ЛП фосфорно-вольфрамовой кислотой или декстран-сульфатом с хлоридом магния, раствором гепарина с хлоридом марганца, полиэтиленгликолем [15]. Недостатками этих методов являются содержание в образце альбумина, вносящего вклад в общий выход ХС, чувствительность образцов после некоторых реагентов к предварительной заморозке, риск неполной преципитации апоВ-ЛП для плазмы с выраженной гипертриглицеридемией. Для их преодоления A. Nafiane и J. Genest советуют проводить преципитацию полиэтиленгликолем, используя для гиперлипидемической плазмы дополнительное центрифугирование. Авторами показано, что такие образцы могут содержать 4–7% оставшихся апоВ-ЛП [40]. Тем не менее большинство исследований по выходу клеточного ХС, особенно на больших контингентах (несколько сотен пациентов), проведено с образцами плазмы после преципитации апоВ-ЛП, хотя получаемая при этом информация характеризует не только свойства ЛВП, но и, в небольшой степени, влияние других компонентов плазмы [10, 19].

Различия в используемых методах заключаются также в выборе конечного этапа – количественного определения выхода ХС из клеток. В большинстве работ для этого использовали меченый ХС, предварительно включаемый в клетки. Однако в ряде исследований

использовали ХС с флуоресцентной меткой BODIPY (боро-дипиррометен; полное химическое название – 4,4-дифтор-1,3,5,7-тетраметил-4-бора-3а,4а-диаза-8-индацен-8-ил) [21, 41]. Показана идентичность результатов, полученных таким методом, с измерением выхода радиоактивного ХС [21]. Другим методом, использовавшимся гораздо реже, было измерение убыли ХС в макрофагах методом газовой хроматографии [37]

Поиск биомаркеров дисфункциональности ЛВП и ее возможные механизмы

Продemonстрированная у больных многих категорий высокая диагностическая значимость способности ЛВП к выведению клеточного ХС стимулировала исследования в области поиска биомаркеров ее возможных нарушений. Этому способствовало развитие современных протеомных и липидомных методов, основанных на масс-спектрометрии (МС). Задачи таких исследований обусловлены также и тем, что механизм нарушения ХС-акцепторных свойств ЛВП в настоящее время неясен, несмотря на высказываемые рядом авторов предположения о влиянии отдельных белковых или липидных компонентов ЛВП.

Белки, ассоциированные с ЛВП, как возможные регуляторы выведения ХС. Протеомные исследования ЛВП

Развитие методов МС позволило выявить в ЛВП, помимо известных ранее белков, участвующих в транспорте липидов, также и ряд минорных белков, включенных в иммунный и острофазный ответ, регулирование комплемента, ингибирование протеиназ [42]. В зависимости от метода выделения в ЛВП человека обнаруживают более 80 белков, на основании чего предполагают возможность осуществления и других, ранее неизвестных регуляторных воздействий [42]. Показана обратная корреляция уровня в ЛВП сывороточных амилоидных белков SAA1 и SAA2 со способностью к выведению ХС [43]. В работе [44] был проведен протеомный анализ ЛВП у мышей 5 линий с разной восприимчивостью к развитию атеросклероза, сопряженной, по мнению авторов, с разной функциональностью ЛВП. Показано наличие 72 белков, связанных с различными функциями ЛВП. При этом выведение клеточного ХС, опосредованное ABCA1, коррелировало с апоА1, апоС-III и апоD и обратно коррелировало с уровнем апоЕ. Суммарный выход ХС коррелировал с количеством ретинолсвязывающего белка-4 и ФЛ-транспортного белка, но не апоА1 [44]. Протеомный анализ ЛВП после воздействия *in vitro* акролеином (альдегидом, содержащимся в сигаретном дыме) выявил снижение выведения ХС из клеток COS (экспрессирующих

SRB-1), наряду с изменением ряда белков. Показано образование сшивок белков и аддуктов апоА1 и апоА-II с акролеином, что, по мнению авторов, может вносить вклад в атерогенное действие при курении путем ослабления активности ЛВП [33].

Имеются сообщения о протеомных исследованиях ЛВП в плане выяснения особенностей их состава, сопряженных с ИБС. Наблюдалось повышение уровня провоспалительных белков SAA, C5, гистона H1 и ассоциированной с ЛВП β -цепи фибриногена, апоС-III, апоЕ, наряду со снижением уровня белков липидного метаболизма – апоС-I, апоС-II, ЛХАТ, ФЛ-транспортного белка [45]. В апоА1 ЛВП больных ИБС и сахарным диабетом 2-го типа показаны некоторые модификации, в частности, окисление метионина в положении 148. Предполагают возможную связь выявленных нарушений с дисфункциональностью ЛВП [45], хотя в отношении белка SAA это предположение опровергается отсутствием изменений ХС-акцепторных свойств ЛВП при старении, несмотря на 3-кратное повышение в ЛВП уровня этого белка [46].

Липидомный анализ дисфункциональных ЛВП

Рядом авторов проведен липидомный анализ ЛВП в связи с нарушением их ХС-акцепторного потенциала. При этом в ЛВП различных групп больных ИБС со сниженной способностью ЛВП к выведению клеточного ХС наблюдалось сниженное количество ФЛ и повышенное триглицеридов (обычно составляющих всего 2–5%), причем эти изменения усиливались по мере прогрессирования болезни [45, 47]. Показано также возрастание относительного уровня ХС, снижение уровня ненасыщенных жирных кислот, особенно ω -3, и повышение насыщенных [47], а также окисленных производных арахидоновой и линолевой кислот [48]. Наблюдалось снижение уровня сфингозинфосфата – биоактивного сфинголипида, играющего существенную роль в различных проявлениях антиатерогенных функций ЛВП [49].

Среди всех классов липидов ЛВП наибольшее внимание уделяется ФЛ. Роль ФЛ ЛВП в обеспечении ХС-акцепторной активности этих ЛП подчеркивается многими авторами [3, 22, 34], и она отмечалась нами еще более 20 лет назад [50]. По мнению ряда авторов, именно наличие ФЛ в частице в виде поверхностного монослоя обеспечивает способность ЛВП сольбилизировать и транспортировать свободный ХС, извлеченный из клеток [22, 34]. N. Fournier и соавт. [34] анализировали корреляцию выхода ХС из клеток Fu5AH к сыворотке с рядом липидных параметров у двух групп лиц – с нормальным и с высоким уровнем ХС ЛВП. Несмотря на больший выход в группе с высоким ХС ЛВП, единственным параметром, коррелирующим при многофак-

Лозап® AM

лозартан + амлодипин



ОРИГИНАЛЬНАЯ КОМБИНАЦИЯ ЛОЗАПТАН + АМЛОДИПИНА¹

- ◆ Способствует достижению целевого АД у 90% пациентов²
- ◆ Защищает пациентов с АГ и метаболическим синдромом от СС-осложнений³



АД – артериальное давление, АГ – артериальная гипертензия, СС – сердечно-сосудистый.

1. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Лозап® AM, РУ номер: ЛП-001481 от 06.02.2012. 2. Comparison of the efficacy and safety of fixed-dose amlodipine/losartan and losartan in hypertensive patients inadequately controlled with losartan: a randomized, double-blind, multicenter study. Hong B.K. et al. Am J Cardiovasc Drugs. 2012; Jun 1; 12(3): 189–95. 3. В соответствии с российскими рекомендациями по ведению больных артериальной гипертензией с метаболическими нарушениями, из рекомендуемых рациональных комбинаций препаратов наиболее предпочтительными являются комбинации ИАПФ или АРА с антагонистами кальция, т.к. они обладают наиболее выраженным положительным влиянием на состояние углеводного и липидного обмена у данной категории больных. Кардиологический вестник. 2014 (1): 3–57. 4. Согласно данным Государственного реестра лекарственных средств торговое название Амзар® заменено на торговое название Лозап® AM 03.04.2017. [Электронный ресурс]. 08.09.2017. URL: http://grls.rosminizdrav.ru/Grls_View.y2.aspx?routingGuid=621e77dc-2d19-4a82-8ede-95f1759f897e&t=a930c9a2-f4a1-44db-b9c6-896d748b20e3.

Краткая инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Лозап® AM

Регистрационный номер: ЛП-001481. Группировочное название: амлодипин + лозартан. Фармакотерапевтическая группа: гипотензивное средство комбинированное (блокатор «медленных» кальцевых каналов + ангиотензин-на II рецепторов антагонист). Код АТХ: C09DB06. Показания к применению: артериальная гипертензия (пациентам, которым показана комбинированная терапия). Противопоказания: повышенная чувствительность к любому из компонентов препарата, беременность и период грудного вскармливания, возраст до 18 лет, одновременное применение с алискиреном или алискиренсодержащими препаратами у пациентов с сахарным диабетом и/или нарушением функции почек (СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м²), тяжелая печеночная недостаточность, шок, обструкция выносящего тракта левого желудочка, гемодинамически нестабильная сердечная недостаточность после острого инфаркта миокарда, применение у пациентов с нарушениями функции почек или пациентов, находящихся на гемодиализе, тяжелая артериальная гипотензия. С осторожностью: двусторонний стеноз почечных артерий или стеноз артерии единственной почки; гиперкалемия; состояние после трансплантации почки; аортальный или митральный стеноз; гипертрофическая обструктивная кардиомиопатия; сердечная недостаточность с сопутствующими тяжелыми нарушениями функции почек; тяжелая сердечная недостаточность; сердечная недостаточность с угрожающими жизни аритмиями; ишемическая болезнь сердца; цереброваскулярные заболевания; первичный гиперальдостеронизм; ангионевротический отек в анамнезе; печеночная недостаточность; нестабильная стенокардия или инфаркт миокарда, синдром слабости синусового узла, артериальная гипотензия, одновременное применение с ингибиторами и индукторами изофермента CYP3A4, нарушения водно-электролитного баланса, почечная недостаточность. Пациентам со сниженным объемом циркулирующей крови – может возникать симптоматическая артериальная гипотензия. Применение при беременности и в период грудного вскармливания: применение препарата Лозап® AM противопоказано при беременности и в период грудного вскармливания. Способ применения и дозы: препарат Лозап® AM принимается внутрь, вне зависимости от времени приема пищи. Рекомендуется запивать препарат достаточным количеством воды. Препарат Лозап® AM можно принимать в комбинации с другими гипотензивными средствами. Рекомендуемая доза препарата Лозап® AM – 1 таблетка 1 раз в сутки. Максимальная рекомендуемая доза препарата Лозап® AM составляет 5 мг + 100 мг 1 раз в сутки. Препарат Лозап® AM в дозе 5 мг + 50 мг назначают пациентам, которые не достигли адекватного контроля АД при применении амлодипина в дозе 5 мг или лозартана в дозе 50 мг в монотерапии. Препарат Лозап® AM в дозе 5 мг + 100 мг назначают пациентам, которые не достигли адекватного контроля АД при применении лозартана в дозе 100 мг или препарата Лозап® AM в дозе 5 мг + 50 мг. Пациенты, принимающие комбинированную терапию амлодипином и лозартаном в виде отдельных лекарственных препаратов, могут перейти на прием комбинированного препарата Лозап® AM для повышения приверженности к терапии. Побочное действие (см. полную инструкцию по применению, приведены частые, очень частые и способные причинить серьезный ущерб здоровью побочные эффекты): головокружение, головная боль. Формы выпуска: таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 5 мг + 50 мг или 5 мг + 100 мг. Срок годности: 2 года (в блистерах), 3 года (во флаконах). Не использовать по истечении срока годности, указанного на упаковке. Условия отпуска из аптек: по рецепту. Перед назначением ознакомьтесь с полной инструкцией по применению.

Информация предназначена только для специалистов здравоохранения.

Представительство АО «Санofi-авентис груп» (Франция)
125009, Москва, ул. Тверская, д. 22. Тел.: (495) 721-14-00, факс: (495) 721-14-11, www.sanofi.ru
SARU.GLOSZ.17.09.1528

SANOFI

торном анализе с активностью выведения ХС, оказался уровень ФЛ АВП. Авторы сделали вывод, что концентрация ФЛ АВП может быть использована как предиктор способности сыворотки акцептировать клеточный ХС [34]. Это подтверждается данными о низкой активности выведения ХС из мышинных макрофагов J774 в плазму больных ИБС с гиперальфапопротеинемией: уровень ФЛ АВП оказался у них неожиданно низким. По мнению авторов данной работы [3], это и явилось причиной дисфункциональности АВП и обусловленной ею подверженности организма коронарному атеросклерозу, несмотря на высокий уровень ХС АВП.

Высокая корреляция ($r^2=0,84$) способности АВП к выведению ХС из клеток Fu5AH и концентрации ФЛ АВП показана в экспериментах с сывороткой крови крыс, трансгенных по апоА1. В отличие от упомянутой выше ограниченной корреляции с ХС АВП и апоА1, линейная зависимость выхода ХС от уровня ФЛ АВП наблюдалась при всех его значениях, из чего авторы сделали заключение, что ФЛ АВП являются основными детерминантами выхода клеточного ХС [9].

Роль такого показателя, как уровень ФЛ АВП, отмечали и без оценки выведения ХС. Так, на большом контингенте больных показано его обратное соотношение с предрасположенностью к метаболическому синдрому [51] и сосудистым заболеваниями мозга [52], со свертываемостью крови [53]. С повышением концентрации ФЛ АВП связывают снижение риска развития ИБС у женщин в постменопаузе после курса терапии модулятором эстрогеновых рецепторов (ралоксифеном) [54].

Помимо общего количества ФЛ в АВП, их антиатерогенные функции, особенно способность акцептировать клеточный ХС, сопряжены также с изменением их свойств и состава. По мнению А. Kontush и соавт. [55], при осуществлении АВП одной из их функций – антиоксидантной защиты ЛНП – может повышаться ригидность поверхностного ФЛ-слоя АВП за счет транспорта окисленных молекул ФЛ от ЛНП к АВП, при недостаточности последующих реакций их выведения [55]. Такие изменения приводят к ослаблению взаимодействия поверхности частицы с ХС, т.е. способности к его включению [9, 22]. Может изменяться и состав ФЛ. Так, у больных ИБС показано снижение в АВП уровня фосфатидилохолина (ФХ) и сфингомиелина, больший уровень лизолецитина, причем эти изменения усиливались по мере прогрессирования болезни [45]. Наблюдалась высокая корреляция выведения ХС из клеток с уровнем в АВП ФХ ($r^2=0,985$) [29] и, меньшая – сфингомиелина ($r=0,43$) [34], наряду с отрицательной корреляцией с уровнем фосфатидилэтаноламина ($r=-0,64$) [34]. Добавление к сыворотке крови ФХ или сфингомиелина в виде дисперсий, приводящее

к обогащению ими фракции АВП, повышало выход ХС из клеток [56]. В ФЛ АВП больных уреимией (и сниженной функциональностью АВП) наблюдали некоторое возрастание доли лизолецитина [26]. Увеличение доли этого ФЛ показано во фракциях АВП (АВП2b, 2a, 3a, 3b, 3c) у больных ИМ наряду с повышением уровня другого, минорного, ФЛ – фосфатидной кислоты [35]. Оба эти ФЛ сопряжены с воспалительными процессами – за счет активации фосфолипаз. Авторы провели *in vitro* обогащение ими выделенных АВП, после чего наблюдали снижение выведения ХС из клеток ТНР-1 [35]. Обогащение же АВП ФХ существенно повышало, а обработка фосфолипазой А₂ (гидролизующей этот ФЛ) ослабляла выведение ХС [29].

Внедрение в липидную химию методов МС позволило исследовать не только соотношение классов ФЛ, но и (в свете многообразия их жирнокислотного состава) проводить анализ уровня их индивидуальных молекулярных видов, что и было сделано для ФЛ АВП [2]. При МС-профилировании, названном авторами «фосфосфинголипидом», оценивали 162 молекулярных вида в 9 классах липидов. В работе проведен МС-анализ возможной сопряженности состава ФЛ и церамидов АВП с их биологическими функциями, в частности, способностью извлекать ХС из клеток. Единственным существенным в этом отношении компонентом оказался минорный ФЛ фосфатидилсерин, некоторое повышение содержания которого авторы наблюдали во фракции малых плотных АВП₃, основных эффекторов выведения ХС. О роли его отдельных молекулярных видов не говорится. Проведенное *in vitro* обогащение этим ФЛ выделенных АВП привело к повышению выведения ХС из клеток ТНР-1. Авторы полагают, что это обусловлено отрицательным зарядом молекулы фосфатидилсерина: он может вызывать конформационные изменения апоА1, способствующие его взаимодействию с клеткой и выходу ХС. Такое же свойство авторы предполагают и для другого электроотрицательного ФЛ – фосфатидной кислоты [2]. Однако это опровергается упомянутыми выше данными работы [35], показавшими, наоборот, снижение интенсивности выведения ХС из клеток ТНР-1 при обогащении АВП фосфатидной кислотой. Обращает внимание, что при исследовании связи «фосфосфинголипидома» фракций АВП с их ХС-акцепторной активностью нормирование концентрации образцов проводилось по общим ФЛ АВП, т.е. авторы этой работы также считают фракцию ФЛ в АВП ответственной за их ХС-выводящую функцию, проводя затем ее детальный анализ [2].

Таким образом, пока не сформулировано четкое представление о том, какие конкретные химические изменения в АВП ответственны за нарушение их основной,

ХС-выводящей функции, и большие надежды в этом отношении возлагают на дальнейшие протеомные и липидомные исследования. Данные различных авторов противоречивы, и единственное, в чем сходится мнение большинства авторов, это существенная роль частиц ФЛ ЛВП в выведении ими клеточного ХС, и что их содержание в ЛВП [29, 56] коррелирует со способностью к выведению ХС из клеток.

Терапевтические мишени для коррекции нарушений ХС-акцепторных функций ЛВП. Воздействие экзогенных ФЛ

Из-за отсутствия ясности в причинах дисфункциональности ЛВП пока не существует доказанных мишеней для ее коррекции. Как отмечено A. V. Khera и соавт. [10], это еще «молодая область исследований», и она находится пока на уровне накопления данных. Имеющиеся подходы с использованием миметиков и рекомбинантов апоА1 [57] компенсируют недостаточность выведения ХС за счет дополнительных его акцепторов, но не влияют на свойства собственных частиц ЛВП. Отрицательный опыт с лекарственным повышением уровня ХС ЛВП [4] также показывает, что воздействия только на концентрацию фракций ЛВП не дадут желаемого результата. Данные о специфических атерогенных изменениях соотношений отдельных фракций ЛВП при ИБС еще противоречивы. В ряде случаев у больных наблюдали относительное повышение малых плотных частиц ЛВП [58] (обуславливающих в норме акцепцию ХС [2]), однако при дислипидемиях и ИБС эта их способность оказывается нарушенной [8–10]. Таким образом, вопрос упирается снова в необходимость воздействия не на уровень фракций ЛВП, а на их свойства. А какое из них является первичным, пока неясно. В кратко рассмотренных нами модельных и липидомных исследованиях [2, 29, 35, 56] показана возможность модификации ХС-выводящей активности ЛВП путем обогащения их *in vitro* тем или иным ФЛ. Данные эти в ряде случаев противоречивы и пока далеки от реальных практических подходов.

Однако существует и широко применяется терапевтический подход, разработанный давно и предназначенный исходно для других целей – использование полиненасыщенных соевых ФЛ. В период разработки таких препаратов (липостабил или эссенциале), более 40 лет назад, понятия «дисфункциональности ЛВП» не существовало, и эти препараты разрабатывали и использовали для коррекции дислипидемий или/и для лечения заболеваний печени [59, 60]. Впоследствии была показана их способность повышать уровень ХС ЛВП и восстанавливать свойства поврежденных клеточных мембран [61], однако они были вытеснены с рынка

статиными. Сейчас в лечении атеросклероза они практически не применяются, и их использование ограничено в основном гепатопротекторной терапией [60, 61]. В то же время суммированные в настоящем обзоре последние данные о вариациях в функциональности ЛВП и о роли в ней ФЛ позволяют по-новому взглянуть на механизм действия таких препаратов. По всей вероятности, введение их в организм может повысить уровень ФЛ в ЛВП и, тем самым, их способность к выведению ХС из клеток. Можно полагать, что в первую очередь именно это свойство, а не снижение концентрации общего ХС в плазме, как предполагалось [60], и является основным механизмом действия препаратов ФЛ. Существенно, по всей вероятности, то, что основным компонентом препаратов соевых ФЛ является ФХ [59–61], уровень которого в ЛВП, как отмечено выше, прямо коррелирует с их ХС-выводящей активностью [29, 45, 56]. Повышение этого эффекта должно быть тем выражено, чем больше включение ФХ в ЛВП, зависящее, в свою очередь, от биодоступности вводимого ФЛ. Для достижения этой цели в ФГБНУ ИБМХ разрабатывается препарат (фосфолипovit) на основе соевого ФЛ, представляющий собой эмульсию наночастиц размером 20–25 нм, устойчивую при хранении в виде лиофилизированного порошка. При инкубации с плазмой крови наблюдалось преимущественное обогащение ФХ фракции ЛВП [62], а в предварительных исследованиях при клинических испытаниях I фазы после 2-недельного его приема добровольцами также показано относительное обогащение ЛВП ФЛ. В соответствии с приведенными в настоящем обзоре многочисленными данными это должно привести к повышению способности ЛВП выводить ХС из макрофагов, оказывая тем самым защитное антиатерогенное действие. Такое воздействие может быть одним из путей коррекции функциональности ЛВП – за счет репарации их нарушенных свойств. В то же время отмечается необходимость дальнейших исследований, с использованием сочетания липидомных подходов и детальным изучением регуляторных реакций, определяющих формирование, метаболизм и свойства частиц ЛВП [2, 4, 7]. Более глубокое понимание таких взаимодействий может выявить мишени для первичной коррекции свойств ЛВП с целью поддержания их нормального метаболизма и предотвращения дисфункциональности.

Авторы выражают благодарность академику РАН А. Н. Арчакову за высказанные им ранее идеи, нашедшие подтверждение в работах последних лет и взятые за основу данного обзора.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований Госакадемий 2013–2020 гг.

Сведения об авторах:

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича», Москва

Маркин С. С. – д. биол. н., проф., зам. директора института по научно-клиническим вопросам.

Лаборатория фосфолипидных нанолекарств и транспортных систем

Торховская Т. И. – д. биол. н., вед. н. с. лаборатории.

Кудинов В. А. – мл. н. с. лаборатории.

Захарова Т. С. – к. биол. н., ст. н. с. лаборатории.

E-mail: torti@mail.ru

Information about the author:

Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

Tatyana I. Torchovskaya – ScD.

E-mail: torti@mail.ru

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Annema W., von Eckardstein A. High-density lipoproteins. Multifunctional but vulnerable protections from atherosclerosis. *Circ J* 2013;77 (10):2432–2448.
2. Camont L., Lhomme M., Rached F. et al. Small, dense high-density lipoprotein-3 particles are enriched in negatively charged phospholipids: relevance to cellular cholesterol efflux, antioxidative, anti-thrombotic, anti-inflammatory, and antiapoptotic functionalities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33 (12):2715–2723. DOI: 10.1161/ATVBAHA.113.301468.
3. Agarwala A.P., Rodrigues A., Risman M. et al. High-Density Lipoprotein (HDL) Phospholipid Content and Cholesterol Efflux Capacity Are Reduced in Patients With Very High HDL Cholesterol and Coronary Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015;35 (6):1515–1519. DOI: 10.1161/ATVBAHA.115.305504.
4. Rosenson R. The High-Density Lipoprotein Puzzle: Why Classic Epidemiology, Genetic Epidemiology, and Clinical Trials Conflict? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016;36 (5):777–782. DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.307024
5. Okamoto H., Yonemori F., Wakitani K. et al. A cholesteryl ester transfer protein inhibitor attenuates atherosclerosis in rabbits. *Nature* 2000;406 (6792):203–207.
6. Rothblat G.H., Phillips M.C. High-density lipoprotein heterogeneity and function in reverse cholesterol transport. *Curr Opin Lipidol* 2010;21 (3):229–238.
7. Bhatt A., Rohatgi A. HDL Cholesterol Efflux Capacity: Cardiovascular Risk Factor and Potential Therapeutic Target. *Curr Atheroscler Rep* 2016;18 (1):2. DOI: 10.1007/s11883-015-0554-1
8. Khera A.V., Cuchel M., de la Llera-Moya M. et al. Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. *N Engl J Med* 2011;364 (2):127–135. DOI: 10.1056/NEJMoa1001689
9. Rothblat G.H., de la Llera-Moya M., Atger V. et al. Cell cholesterol efflux: integration of old and new observations provided new insights. *J Lipid Res* 1999;40:781–796.
10. Khera A.V., Rader D.J. Cholesterol efflux capacity: full steam ahead or a bump in the road? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33:1449–1451. DOI: 10.1161/ATVBAHA.113.301519.
11. Zhang J., Xu J., Wang J. et al. Prognostic Usefulness of Serum Cholesterol Efflux Capacity in Patients With Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol* 2016;117 (4):508–514. DOI: 10.1016/j.amjcard.2015.11.033.
12. Ishikawa T., Ayaori M., Uto-Kondo H. et al. High-density lipoprotein cholesterol efflux capacity as a relevant predictor of atherosclerotic coronary disease. *Atherosclerosis* 2015;242 (1):318–322. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.06.028.
13. Ogura M., Hori M., Harada-Shiba M. Association between cholesterol efflux capacity and atherosclerotic cardiovascular disease in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016;36 (1):181–188. DOI: 10.1161/ATVBAHA.115.306665.
14. Borja M.S., Ng K.F., Irwin A. et al. HDL-apolipoprotein A-I exchange is independently associated with cholesterol efflux capacity. *J Lipid Res* 2015;56 (10):2002–2009. DOI: 10.1194/jlr.M059865.
15. Hafiane A., Genest J. High density lipoproteins: Measurement techniques and potential biomarkers of cardiovascular risk. *BBA Clin* 2015;3:175–188. DOI: 10.1016/j.bbacli.2015.01.005.
16. Rohatgi A. High-Density Lipoprotein Function Measurement in Human Studies: Focus on Cholesterol Efflux Capacity. *Progress in cardiovascular diseases* 2015;58:32–40.
17. Hutchins P.M., Heinecke J.W. Cholesterol efflux capacity, macrophage reverse cholesterol transport and cardioprotective HDL. *Curr Opin Lipidol* 2015;26 (5):388–393.
18. Saleheen D., Scott R., Javad S. et al. Association of HDL cholesterol efflux capacity with incident coronary heart disease events: a prospective case-control study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2015;3 (7):507–513. DOI: 10.1016/S2213-8587 (15) 00126
19. Li X.M., Tang W.H., Mosior M. et al. Paradoxical association of enhanced cholesterol efflux with increased incident cardiovascular risks. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013;33 (7):1696–1705. DOI:10.1161/ATVBAHA.113.301373.
20. Tsun J. G., Shiu S.W., Wong Y. et al. Impact of serum amyloid A on cellular cholesterol efflux to serum in type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 2013;231 (2):405–410. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.008
21. Rohatgi A., Khera A., Berry J.D. et al. HDL Cholesterol Efflux Capacity and Incident Cardiovascular Events *N Engl J Med* 2014;371:2383–2393. DOI: 10.1056/NEJMoa140906527
22. Phillips MC. Molecular mechanisms of cellular cholesterol efflux. *J Biol Chem* 2014;289 (35):24020–24029. DOI: 10.1074/jbc.R114.583658.
23. Sankaranarayanan S., Oram J.F., Asztalos B.F. et al. Effects of acceptor composition and mechanism of ABCG1-mediated cellular free cholesterol efflux. *J Lipid Res* 2009;50:275–284.
24. Tarling E.J., Edwards P.A. ATP binding cassette transporter G1 (ABCG1) is an intracellular sterol transporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:19719–19724.
25. Ivan-Charvet L., Ranalletta M., Wang N. et al. Combined deficiency of ABCA1 and ABCG1 promotes foam cell accumulation and accelerates atherosclerosis in mice. *J Clin Invest* 2007;117:3900–3908.
26. Holzer M., Birner-Gruenberger R., Stojakovic T. et al. Uremia alters HDL composition and function. *J Am Soc Nephrol* 2011;22 (9):1631–1641.
27. de la Llera-Moya M., Rothblat G.H., Connelly M.A. et al. Scavenger receptor BI (SR-BI) mediates free cholesterol flux independently of HDL tethering to the cell surface. *J Lipid Res* 1999;40:575–580.
28. Plebanek M. P., Mutharasan R.K., Volpert O. et al. Nanoparticle targeting and cholesterol flux through scavenger receptor type b-1 inhibits cellular exosome uptake. *Sci Rep* 2015;5:15724. DOI: 10.1038/srep15724.

29. Yancey P.G., de la Llera-Moya M., Swarnakar S. et al. High density lipoprotein phospholipid composition is a major determinant of the bi-directional flux and net movement of cellular free cholesterol mediated by scavenger receptor BI *J Biol Chem* 2000;275:36596–36604.
30. Sankaranarayanan S., de la Llera-Moya M., Drazul-Schrader D. et al. Serum albumin acts as a shuttle to enhance cholesterol efflux from cells. *J Lipid Res* 2013;54 (3):671–676.
31. Gilotte K.L., Zaiou M., Lund-Katz S. et al. Apolipoprotein-mediated plasma membrane microsolubilization: role of lipid affinity and membrane penetration in the efflux of cellular cholesterol and phospholipid. *J Biol Chem* 1999;274:2021–2028.
32. Doonan R.J., Hafiane A., Lai C. et al. Cholesterol efflux capacity, carotid atherosclerosis, and cerebrovascular symptomatology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014;34 (4):921–926. DOI: 10.1161/ATVBAHA.113.302590.
33. Chadwick A.C., Holme R.L., Chen Y. et al. Acrolein impairs the cholesterol transport functions of high density lipoproteins. *PLoS One* 2015;10 (4):e0123138. DOI: 10.1371/journal.pone.0123138.
34. Fournier N., Paul J.L., Atger V. et al. HDL phospholipid content and composition as a major factor determining cholesterol efflux capacity from Fu5AH cells to human serum. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17 (11):2685–2689.
35. Rached F., Lhomme M., Camont L. et al. Defective functionality of small, dense HDL3 subpopulations in ST segment elevation myocardial infarction: Relevance of enrichment in lysophosphatidylcholine, phosphatidic acid and serum amyloid A. *Biochim Biophys Acta* 2015;1851 (9):1254–1261. DOI: 10.1016/j.bbali. 2015.05.007.
36. de la Llera-Moya M., Drazul-Schrader D., Asztalos B.F. et al. The ability to promote efflux via ABCA1 determines the capacity of serum specimens with similar high-density lipoprotein cholesterol to remove cholesterol from macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010;30:796–801.
37. Yamamoto S., Yancey P.G., Ikizler T.A. et al. Dysfunctional high-density lipoprotein in patients on chronic hemodialysis. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:2372–2379.
38. Nestel P., Hoang A., Sviridov D., Straznicki N. Cholesterol efflux from macrophages is influenced differentially by plasmas from overweight insulin-sensitive and -resistant subjects. *Int J Obes (Lond)* 2012;36 (3):407–413. DOI: 10.1038/ijo.2011.170.
39. Khera A.V., Millar J.S., Ruotolo G. et al. Potent peroxisome proliferator-activated receptor- α agonist treatment increases cholesterol efflux capacity in humans with the metabolic syndrome. *Eur Heart J* 2015;36 (43):3020–3022. DOI: 10.1093/eurheartj/ehv291.
40. Hafiane A., Genest J. HDL-Mediated Cellular Cholesterol Efflux Assay Method. *Ann Clin Lab Sci* 2015;45 (6):659–668.
41. Sankaranarayanan S., Oram J.F., Asztalos B.F. et al. Effects of acceptor composition and mechanism of ABCG1-mediated cellular free cholesterol efflux. *J Lipid Res* 2009;50 (2):275–284. DOI: 10.1194/jlr.M800362-JLR200
42. Kontush A., Lindahl M., Lhomme M., Calabresi L. Structure of HDL: Particle Subclasses and Molecular Components. In: High Density Lipoproteins: From Biological Understanding to Clinical Exploitation. Eckardstein A., Kardassis D. Eds. Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London. Handb. Exp. Pharmacol. 2015;224:3–52. DOI 10.1007/978-3-319-09665-0
43. Vaisar T., Tang C., Babenko I. et al. Inflammatory remodeling of the HDL proteome impairs cholesterol efflux capacity. *J Lipid Res* 2015;56 (8):1519–1530. DOI: 10.1194/jlr.M059089
44. Pamir N., Hutchins P., Ronsein G. et al. Proteomic analysis of HDL from inbred mouse strains implicates APOE associated with HDL in reduced cholesterol efflux capacity via the ABCA1 pathway. *J Lipid Res* 2016;57 (2):246–257. DOI: 10.1194/jlr.M063701
45. Salazar J., Olivar L.C., Ramos E. et al. Dysfunctional High-Density Lipoprotein: An Innovative Target for Proteomics and Lipidomics. *Cholesterol* 2015;2015:296417. DOI: 10.1155/2015/296417.
46. Holzer M., Trieb M., Konya V. et al. Aging affects high-density lipoprotein composition and function. *Biochim Biophys Acta* 2013;1831 (9):1442–1448. DOI: 10.1016/j.bbali.2013.06.004
47. Kostara C.E., Papathanasiou A., Psychogios N. et al. NMR-based lipidomic analysis of blood lipoproteins differentiates the progression of coronary heart disease. *J Proteome Res* 2014;13 (5):2585–2598. DOI: 10.1021/pr500061n
48. Morgantini C., Meriwether D., Baldi S. et al. HDL lipid composition is profoundly altered in patients with type 2 diabetes and atherosclerotic vascular disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2014;24 (6):594–599. DOI: 10.1016/j.numecd.2013.12.011
49. Sattler K., Lehmann I., Gräler M. et al. HDL-bound sphingosine 1-phosphate (S1P) predicts the severity of coronary artery atherosclerosis. *Cell Physiol Biochem* 2014;34 (1):172–184.
50. Torhovskaya T.J., Khalilov E.M., Kaliman M.A. et al. Phosphatidylcholine (Polyenphosphatidylcholine/PPC) Effect on Cell Membranes and Transport of cholesterol. Archakov A.I., Gundermann K.-J. Eds. Bingen/Rhein. 1989; 99–110.
51. Hergenç G., Onat A., Sari I. et al. Serum total and high-density lipoprotein phospholipid levels in a population-based study and relationship to risk of metabolic syndrome and coronary disease. *Angiology* 2008;59 (1):26–35. DOI: 10.1177/0003319706291145.
52. Kostner G.M., Marth E., Pfeiffer K.P., Wege H. Apolipoproteins AI, AII and HDL phospholipids but not Apo-B are risk indicators for occlusive cerebrovascular disease. *Eur Neurol* 1986;25 (5):346–354.
53. Kunz F., Pechlaner C., Erhart R. et al. HDL and plasma phospholipids in coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1994;14 (7):1146–1150.
54. Piperi C., Kalofoutis C., Skenderi K. et al. Beneficial effects of raloxifene and atorvastatin on serum lipids and HDL phospholipids levels of postmenopausal women. *J Obstet Gynaecol* 2004;24 (4):414–419.
55. Kontush A., Chapman M.J. Antiatherogenic function of HDL particle subpopulations: focus on antioxidative activities. *Curr Opin Lipidol* 2010;21 (4):312–318. DOI: 10.1097/MOL.0b013e32833bcd1
56. Jian B., de la Llera-Moya M., Royer L. et al. Modification of the cholesterol efflux properties of human serum by enrichment with phospholipid. *J Lipid Res* 1997;38:152–162.
57. Dullens S.P., Plat J., Mensink R.P. Increasing apoA-I production as a target for CHD risk reduction. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007;17 (8):616–628.
58. Ozerova I.N., Metelskaya V.A., Perova N.V. et al. Subfractional spectrum of high density lipoproteins in coronary atherosclerosis patients. *Cardiovascular Therapy And Prevention* 2015;14 (2):31–34. Russian (Озерова И.Н., Метельская В.А., Перова Н.В. и др. Субфракционный спектр липопротеинов высокой плотности у больных с коронарным атеросклерозом. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2015;14 (2):31–34).
59. Gundermann K.-J. The essential phospholipids as a membrane therapeutic. Publisher: Polish Section of European Society of Biochemical Pharmacology, Institute of Pharmacology and Toxicology, Medical Academy, Szczecin. 1993.
60. Gundermann K.-J., Kuenker A., Kuntz E., Drozdziak M. Activity of essential phospholipids (EPL) from soybean in liver diseases. *Pharmacol Rep* 2011;63 (3):643–659.
61. Markin S.S., Olbinskaya L.I., Torkhovskaya T.I. Phospholipid therapy of atherosclerosis. Moscow, “Belyi veter”, 2016. Russian (Маркин С.С., Ольбинская Л.И., Торховская Т.И. Фофолипидная терапия атеросклероза. М., «Белый ветер», 2016).
62. Medvedeva N.V., Prozorovskiy V.N., Ignatov D.V. et al. Pharmacological agents and transport nanosystems based on plant phospholipids. *Biomed Khim* 2015;61 (2):219–230. Russian (Медведева Н.В., Прозоровский В.Н., Игнатов Д.В. и др. Лекарственные препараты и транспортные наносистемы на основе растительных фосфолипидов. Биомедицинская химия 2015;61 (2):219–230). DOI: 10.18097/PBMC20156102219

Поступила 29.08.16 (Received 29.08.16)