

ЖУЧКОВА Т. Е.

**«ЗАГАДОЧНЫЙ» ЛИПОПРОТЕИН (А) И АТЕРОГЕНЕЗ:
МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ**

Аннотация. В статье приводятся сведения о роли липопротеина (а) в патогенезе кардиоваскулярной патологии. Анализируется его участие в экспрессии рецепторов на клеточной поверхности, активации тромбоцитарной агрегации, миграции воспалительных клеток и индукции сосудистого ремоделирования.

Ключевые слова: атеросклероз, липопротеин (а), тромбоз, фибриноген, гладкомышечные клетки, воспаление, эндотелий, адгезия, сосудистое ремоделирование.

ZHUCHKOVA T. E.

**"MYSTERIOUS" LIPOPROTEINE (A) AND ATHEROGENESIS:
MOLECULAR-CELL INTERACTIONS**

Abstract. The article includes a review of experimental and clinical studies on the role of lipoprotein (a) in the pathogenesis of cardiovascular pathology. The author analyzes its involvement in the expression of receptors on the cell surface, the activation of platelet aggregation, the migration of inflammatory cells and the induction of vascular remodeling.

Keywords: atherosclerosis, lipoprotein (a), thrombosis, fibrinogen, smooth muscle cells, inflammation, endothelium, adhesion, vascular remodeling.

Введение. В настоящее время заболевания сердечно-сосудистой системы вышли на первое место как причина потери трудоспособности, инвалидности и смертности населения большинства экономически развитых стран. На основе многих экспериментальных и клинических исследований липопротеин (а) признан проатерогенным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Строение липопротеина (а). Липопротеин (Lp)(а) – это липопротеин плазмы крови, состоящий из липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), в котором молекула апобелка В100 при помощи дисульфидного мостика связана с дополнительным апобелком (а), имеющим гомологию с плазминогеном. Сходство с ЛПНП заключается в наличии центрального ядра, состоящего из эфиров холестерина и триглицеридов, окруженных фосфолипидами и одной молекулы апобелка В [7].

Тромбоз и липопротеин (а). Известно, что Lp(а) влияет на активацию/агрегацию тромбоцитов. Но потенцирует или ослабляет эти механизмы?

Сообщается, что влияние Lp(а), на агрегацию тромбоцитов зависит от концентрации коллагена. Так, при концентрации коллагена 4 мкг/мл, липопротеин (а) подавляет агрегацию

тромбоцитов, а при концентрации коллагена 10 мкг/мл ингибирующее влияние Lp(a) на агрегацию тромбоцитов исчезает. Обнаружено [20], что Lp(a), угнетает агрегацию тромбоцитов в присутствии фактора активации тромбоцитов (ФАТ).

Lp(a) может проявлять дезагрегационный эффект и через его взаимодействие с интегрином $\alpha\text{IIb}\beta_3$ на поверхности тромбоцитов. Соединение интегрин $\alpha\text{IIb}\beta_3$ с фибриногеном стимулирует агрегацию тромбоцитов, но при действии Lp(a), молекула апобелка(a) соединяется с фибриногеном, удаляет его от рецептора и устраняет взаимодействие фибриногена с интегрином $\alpha\text{IIb}\beta_3$ [20].

Участие в тромбозе тканевого фактора. Обработка моноцитов Lp(a) увеличивает вдвое продукцию тканевого фактора и его связывание с мембранами моноцитов в результате активации интегрин $\alpha\text{IIb}\beta_3$ и нуклеарного фактора $\text{NF-}\kappa\text{B}$. В свою очередь, тканевой фактор активирует тромбин, запуская тем самым систему коагуляции. Lp(a) проявляет тромботические свойства путем связывания с ингибитором тканевого фактора [16].

Нарушение активации плазминогена. Первичная структура молекулы апобелка (a) имеет высокую степень гомологии (до 90%) с молекулой плазминогена. Известно, что плазминоген является энзимом фибринолитической системы, состоит из домена трипсиноподобной протеазы и пяти гомозиготных доменов – кринглов, имеет сериновую протеазу. Кринглы являются структурами, которые стабилизированы тремя внутренними дисульфидными мостиками [8].

Несмотря на структурную гомологию с плазминогеном, Lp(a) может подавлять образование активного плазмина. Активация плазминогена происходит внеклеточным путем при участии тройного комплекса, состоящего из тканевого активатора плазминогена, плазминогена и фибрина [13]. Активный плазмин, в свою очередь, способен активировать трансформирующий фактор роста β (ТФР β) и разрушать фибрин внутри кровяных сгустков [4]. Однако в присутствии Lp(a) фрагмент апобелка (a) связывается с фибрином, и вместо классического третичного комплекса образуется четвертичный комплекс, что в значительной степени угнетает скорость активации плазминогена. Lp(a) конкурирует как с плазминогеном, так и с тканевым фактором активации за связывание с фибрином.

Lp(a) в крови может нарушать активацию плазминогена за счет конкуренции с плазминогеном и тканевым активатором плазминогена (ТАП) за связывание с фибрином, повышения экспрессии ингибитора тканевого активатора плазминогена-1 (ИТАП-1) и ассоциации с SERPINA1, приводящими к угнетению ТАП; взаимодействия с α_2 -макроглобулином, являющимся ингибитором плазмина. Подавлять активацию плазминогена Lp(a) может как через весь четвертичный комплекс, так и через связывание с ингибиторами каждого из компонентов этого комплекса [4].

Подавление активации ТФРβ. Поскольку ТФРβ (ингибитор пролиферации лимфоцитов) является одним из субстратов плазмина, то Lp(a) подавляя активацию плазминогена, предупреждает активацию и ТФРβ, что в большей степени зависит от субъединицы апоБелка (а). Исследователи [5] обнаружили, что 96-часовая экспозиция гладкомышечных клеток аорты с рекомбинантным апоБелком (а) не вызывает секрецию латентного (неактивного) ТФРβ *per se*, но обнаружено зависящее от крингля 4 типа 9 подавление активности ТФРβ.

Согласно результатам исследования, 72-часовая экспозиция эндотелиальных клеток пуповины человека с рекомбинантным апо(а) предупреждает снижение активности ТФРβ за счет 50% уменьшения его общей секреции эндотелиальными клетками. Это дает основание предположить о непосредственной роли Lp(a) на биодоступность ТФРβ. В этих условиях как подавление активности ТФРβ, так и снижение его образования в эндотелиальных клетках зависят от лизин-связывающего сайта крингля 4 типа 10 и крингля 5, а также от интегрина $\alpha_v\beta_3$ [5].

Вовлечение клеток в процесс воспаления с адгезией их на эндотелии. Lp(a) является маркером воспалительного процесса. Это подтверждается повышением его концентрации в крови при миокардите эндокардите, перикардите, остром инфаркте миокарда, васкулитах, остром холецистите и болезни Крона [19]. Окисленные фосфолипиды имеют провоспалительные свойства, и обнаруживается их ассоциация с АпоВ-100. Носителем окисленных фосфолипидов в кровотоке является Lp(a) [17].

Lp(a) может оказывать провоспалительный эффект в низких концентрациях – связывает и удаляет окисленные фосфолипиды из циркулирующей крови и атерогенный эффект в высоких концентрациях – откладывает такие комплексы внутри сосудистой стенки.

Известно [4], что Lp(a) усиливает экспрессию воспалительных цитокинов специфическим клеточным путем.

В ходе молекулярного анализа было установлено, что Lp(a) повышает интенсивность транскрипции мРНК интерлейкина (IL)-8 в 12 раз, в то время как, апоБелок (а) всего лишь в 3 раза. Однако индукция IL-8 в макрофагах не наблюдается, если эти клетки контактируют изолированно с Lp(a), лишенным апоБелка (а). Следовательно, ведущая роль принадлежит апо(а).

В рамках исследования [18] эксперты определили, что Lp(a) дополнительно индуцирует экспрессию моноцитарного хемоатрактного протеина-1 (MCP-1), туморнекротизирующего фактора α (TNF α) и IL-1 β . Lp(a) может не только индуцировать хемотаксис, но и оседание на эндотелии сосудов моноцитов.

Также эксперты обнаружили, что эндотелиальные клетки пуповины человека,

обработанные Lp(a), продуцируют MCP-1 и I-309, которые притягивают к эндотелию лейкоциты [9]. I-309 – клеточный хемокин, продуцируемый моноцитами и Т-лимфоцитами. 17 крингль рекомбинантной молекулы апобелка (a) оказывает стимулирующее влияние на активность I-309, который притягивает к эндотелию лейкоциты. Было установлено, что Lp(a) активирует G_i-протеины на поверхности клеточных мембран, повышает активность фосфокреатинкиназы, увеличивает концентрацию внутриклеточного циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), приводя к хемокинезу [18].

Lp(a) способен не только увлекать моноциты к сосудистому эндотелию, но и облегчать их миграцию через эндотелий. Результаты показали, что в присутствии Lp(a) и рекомбинантного апобелка (a), наблюдалась миграция моноцитов через мембрану, опосредованная интегрином α_vβ₂ Mac-1. Было установлено, что взаимодействие апобелка (a) с интегрином α_vβ₂ Mac-1 усиливает и адгезию моноцитов к эндотелию [3].

Lp(a) индуцирует экспрессию молекул адгезии на поверхности эндотелиальных клеток. Обработка эндотелиальных клеток пуповины человека липопротеином (a) способствует повышению экспрессии сосудистой клеточной молекулы адгезии (VCAM-1) и E-селектина. Интересно, что обработка эндотелиальных клеток средой, содержащей 17β-эстрадиол, способствует подавлению экспрессии молекул адгезии. Это, в свою очередь, может служить доказательством кардиопротективного действия эстрогенов [9].

Сосудистое ремоделирование и Lp(a). Сосудистое ремоделирование – это адаптация сосудистой стенки к воздействию патологических стимулов. Патолофизиологическими процессами при сердечно-сосудистых заболеваниях являются: эндотелиальная дисфункция, пролиферация и миграция гладкомышечных клеток.

Lp(a) усиливает пролиферацию гладкомышечных клеток через подавление активации ТФРβ. При обработке гладкомышечных клеток рекомбинантным апобелком (a) с последующей экспозицией на 24–96 часов выяснено, что пролиферация гладкомышечных клеток возрастает на 60% [5].

Согласно результатам проведенного ранее исследования [10], Lp(a) индуцирует внутрисосудистую пролиферацию гладкомышечных клеток через повышение экспрессии на поверхности эндотелиальных клеток тромбоцитарного фактора роста. Так, в присутствии окисленной формы Lp(a) наблюдалось повышение экспрессии тромбоцитарного фактора роста на поверхности эндотелиальных клеток пуповины, что в дальнейшем усиливало внутрисосудистую пролиферацию гладкомышечных клеток [10].

Обнаружено, что в присутствии Lp(a) пролиферация эндотелиальных клеток пуповины повышается в 4,5 раза, в то время как ЛПНП повышает их пролиферацию в 6 раз. Отсюда следует, что АпоВ-100/ЛПНП фрагмент молекулы липопротеина (a) является более

мощным активатором пролиферации эндотелиальных клеток, чем апо(а) фрагмент [15]. Когда эндотелиальные клетки обрабатывались только апо(а), их пролиферация зависела от лизин-связывающего сайта в крингле 4 10-го типа, крингля 5 и интегрин $\alpha_v\beta_3$. Когда эндотелиальные клетки контактировали только с молекулой липопротеина(а), лизин-связывающий сайт апо(а) фрагмента не играл существенной роли в митогенном ответе [19].

Кроме этого, Lp(а) повышает экспрессию и фибробластный фактор роста (ФФР-2) на поверхности эндотелиальных клеток пуповины человека и этот стимулирующий эффект угасает при взаимодействии с ингибиторами ФФР-2 или Gi-протеинами. Возможно, между Lp(а) и ФФР-2 существует синергия в пролиферативном ответе эндотелиальных клеток [6].

Обнаружено, что рекомбинантный апобелок (а) способен активировать в эндотелиальных клетках пуповины человека целый каскад внутриклеточных сигналов, которые усиливают пролиферацию: фокально-адгезивную киназу, активированные митогеном киназы (MAPKs) – p38, p42/44 эндотелийзависимые киназы (ERK) и p54c-jun N – терминальную киназу (JNK). Фосфорилирование перечисленных киназ зависит от интегрин $\alpha_v\beta_3$. Было установлено, что окисленный Lp(а) может выступать в роли фактора апоптоза. Проапоптотический эффект окисленного Lp(а) на эндотелиальных клетках пуповины человека опосредуется окислительным стрессом и нейтрализуется при добавлении к клеточной среде супероксид дисмутазы и каталазы. Окисленный Lp(а)/апо(а) повреждает эндоплазматический ретикулум макрофагов, вызывая их апоптоз. Апоптоз реализуется за счет окисленных форм липопротеина, носителем которых выступает апо(а), включения апоптотического сигнального рецептора CD36-TLR2 и продукции свободных радикалов кислорода [14]. Таким образом, все это обеспечивает благоприятную почву для развития эндотелиальной дисфункции.

Кроме нарушенной пролиферации, патологическая миграция гладкомышечных и эндотелиальных клеток вносит существенный вклад в патогенез сердечно-сосудистых заболеваний [11].

Установлено, что интенсивная миграция гладкомышечных клеток, обработанных рекомбинантным апобелком (а), наблюдается в течение 24–96 часов и зависит от крингля 49-го типа. Однако имеющиеся сегодня данные позволяют заключить, что в сравнении с частицами ЛПНП Lp(а) является более мощным стимулятором миграции эндотелиальных клеток пуповины человека. Сообщается [10], что апо(а) по сравнению с ЛПНП/АпоВ-100 фрагментом молекулы Lp(а) обладает более выраженным пролиферативным эффектом.

В основе клеточной миграции лежит координированная дезорганизация активного цитоскелета с повышенным образованием активированных f-актином волокон, стимулирующих клеточную подвижность. Апобелок (а) может влиять на образование таких

волокон в условиях клеточного стресса. При инкубации эндотелиальных клеток пуповины человека и эндотелиальных клеток коронарных артерий человека в среде с концентрацией рекомбинантного апобелка (а) ниже 25 нмоль/л наблюдается значительное образование стрессовых волокон. Аналогичный эффект воспроизводится в присутствии Lp(a). Инкубация тех же клеточных культур с плазминогеном или ЛПНП не приводит к желаемому результату, что подтверждает непосредственную роль апобелка (а) в образовании стресс-волокон.

Сообщается [12], что рекомбинантный апобелок (а) повышает проницаемость эндотелия, индуцирует сокращение эндотелиальных клеток и трансэндотелиальную миграцию моноцитов. Более детальное изучение механизма сокращения эндотелиальных клеток обнаружило его зависимость от лизин-связывающего сайта крингля 4 10-го типа в культуре эндотелиальных клеток пуповины человека с присутствующим в ней рекомбинантным апобелком (а).

Было выяснено [12] два механизма, которые обеспечивают повышенное образование стресс-волокон и клеточное сокращение через фосфорилирование миозина легких цепей. Первый заключается в повышении активности киназы миозина легких цепей, второй – в повышении активности целевой субъединицы-1 миозиновой фосфатазы (ингибитора фосфатазы миозина легких цепей). Реализация этих механизмов стимулирует фосфорилирование и активность миозина легких цепей. Установлено, что фосфорилирование миозина легких цепей зависит от активации RhoA-киназы, а апо(а) в культуре эндотелиальных клеток пуповины человека активирует RhoA-киназу.

Заключение. Lp(a) обладает широким спектром негативного воздействия на сердечно-сосудистую систему благодаря наличию в составе молекулы двух фрагментов: ЛПНП/АпоВ-100 и апобелка (а). Lp(a) вносит весомый вклад в повышение кардиоваскулярного риска и прогрессирование сердечно-сосудистых заболеваний через модуляцию тромбоцитарной агрегации, снижение фибринолиза, вовлечение воспалительных клеток, индукцию сосудистого ремоделирования.

К сожалению, традиционная гиполипидемическая терапия не влияет на уровень циркулирующего в крови Lp(a). Для того, чтобы приблизиться к решению данной проблемы необходимо углубленное изучение сигнальных механизмов влияния Lp(a) на клетки сердечно-сосудистой системы, которые в будущем могут стать точками-мишенями терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арабидзе Г. Г., Теблов К. И. Атеросклероз и факторы риска: клиническое значение аполипопротеинов в развитии ИБС: руководство для врачей. – М.: Литера, 2008. – 240 с.

2. Ройтберг Г. Е., Струтынский А. В. Внутренние болезни. Сердечно-сосудистая система: учеб. пособие. – 5-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2017. – 896 с.
3. Deb A., Caplice N. M. Lipoprotein (a): new insights into mechanisms of atherogenesis and thrombosis // *Clinical Cardiology*. – 2004. – Vol. 27. – pp. 258–264.
4. Garelnabi M., Mahini H., Wilson T. Quercetin intake with exercise modulates lipoprotein metabolism and reduces atherosclerosis plaque formation // *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. – 2014. – Vol. 11. – pp. 11–22.
5. Hong L., Daugherty A. Atherosclerosis: cell biology and lipoproteins // *Current Opinion in Lipidology*. – 2013. – Vol. 24, No. 1. – pp. 107–109.
6. Ioanna G. B., Heiner K. B. Lipoprotein (a): a current perspectives // *Current Vascular Pharmacology*. – 2011. – Vol. 9, No. 6. – pp. 682–692.
7. Koschinsky M. L., Marcovina S. M. Structure-function relationships in apolipoprotein (a): insights into lipoprotein (a) assembly and pathogenicity // *Current Opinion in Lipidology*. – 2004. – Vol. 15. – pp. 167–174.
8. McCormick S. P. Lipoprotein (a): biology and clinical importance // *The Clinical Biochemist Review*. – 2004. – Vol. 25, No. 1. – pp. 69–80.
9. Nakagami F., Nakagami M., Osako K. Estrogen attenuates vascular remodeling in Lp(a) transgenic mice // *Atherosclerosis*. – 2010. – Vol. 211, No. 1. – pp. 41–47.
10. Nordestgaard B. G., Chapman M. J., Ray K. Lipoprotein (a) as a cardiovascular risk factor: current status // *European Heart Journal*. – 2010. – Vol. 31, No. 23. – pp. 2844–2853.
11. Peyton K. J., Liu X., Yu Y. Activation of AMP-activated protein kinase inhibits the proliferation of human endothelial cells // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2012. – Vol. 342, No. 3. – pp. 827–834.
12. Pellegrino M., Furmaniak-Kazmierczak E., Leblank J. C. The apolipoprotein (a) component of Lipoprotein (a) stimulates actin stress fiber formation and loss of cell-cell contact in cultured endothelial cells // *Journal of Biological Chemistry*. – 2004. – Vol. 279, No. 8. – pp. 6526–6533.
13. Rowland C. M., Pullinger C. R., Luke M. M. Lipoprotein(a), LPA Ile4399Met, and fibrin clot properties // *Thrombosis Research*. – 2014. – Vol. 133, No. 5. – pp. 863–867.
14. Seimon T. A., Nadolsky M. J., Liao X. Atherogenic lipids and lipoproteins trigger CD36-TLR2-dependent apoptosis in macrophages undergoing endoplasmic reticulum stress // *Cell Metabolism*. – 2010. – Vol. 12, No. 5. – pp. 467–482.
15. Siekmeir R., Scharnagl H., Kostner G. M. Variation of Lp(a) plasma concentrations in health and disease // *The Open Clinical Chemistry Journal*. – 2010. – Vol. 3. – pp. 72–

16. Sortirion S. N., Orlova V. V., Al-Fakhri N. Lipoprotein (a) in atherosclerotic plaques recruits inflammatory cells through interaction with Mac-1 integrin // *FASEB Journal*. – 2006. – Vol. 20, No. 3. – pp. 559–561.
17. Taleb A., Witztum J., Tsimikas S. Oxidized phospholipids on apoB-100-containing lipoproteins: a biomarker predicting cardiovascular disease and cardiovascular events // *Biomarkers in Medicine*. – 2011. – Vol. 5, No. 5. – pp. 673–694.
18. Tasci T., Sukur Y. E., Ozmen B. Effect of transdermal and oral hormone replacement therapies on monocyte chemoattractant protein-1 levels: a randomized clinical trial // *European Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2014. – Vol. 176. – pp. 50–54.
19. Tayal D., Goswami B., Koner B., Mallika V. Role of homocysteine and lipoprotein (a) in atherosclerosis: an update // *Biomedical Research*. – 2011. – Vol. 22, No. 4. – pp. 391–405.
20. Tsimikas S., Witztum J. The role of oxidized phospholipids in mediating lipoprotein (a) atherogenicity // *Current Opinion in Lipidology*. – 2008. – Vol. 19, No. 4. – pp. 369–377.