

УДК 57.085.2

# Сорбент с синтетическим лигандом для удаления провоспалительных и проатерогенных компонентов из плазмы крови человека

О. А. Дмитриева<sup>1\*</sup>, Е. Д. Овчинникова<sup>1</sup>, Е. А. Уткина<sup>1</sup>, П. А. Левашов<sup>2</sup>, О. И. Афанасьева<sup>1</sup>, И. Ю. Адамова<sup>1</sup>, С. Н. Покровский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Минздрава РФ, Москва, 121552 Россия

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

\*E-mail: dmitrievaoksan@rambler.ru

Поступила в редакцию 22.03.2021

Принята к печати 20.07.2021

DOI: 10.32607/actanaturae.11292

**РЕФЕРАТ** Часто выявляемые у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями повышенные концентрации атерогенных apoB-100-содержащих липопротеидов и маркеров системного воспаления снижают с использованием медикаментозных либо экстракорпоральных методов. Сорбент для сочетанного удаления С-реактивного белка (СРБ) и атерогенных липопротеидов обеспечивает одновременное уменьшение уровней этих компонентов в кровотоке. Исследованы эффективность и селективность разработанного сорбента, рассчитаны константы десорбции СРБ ( $K_d = 4.2 \times 10^{-8}$  М) и липопротеидов низкой плотности ( $K_d = 7.7 \times 10^{-7}$  М), коэффициенты распределения СРБ ( $K_c = 101$ ) и липопротеида (а) ( $K_c = 38$ ). Показано, что сорбент способен связывать большие количества атерогенных липопротеидов – до 32 мг общего холестерина/мл геля сорбента. Разработанный сорбент может быть рекомендован для комплексного удаления СРБ и атерогенных липопротеидов из плазмы крови пациентов при терапии рефрактерных гиперлипидемий и сердечно-сосудистых заболеваний, сопровождающихся повышением уровня СРБ.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** С-реактивный белок, атерогенные липопротеиды, липопротеид (а), атеросклероз, терапевтический аферез.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** СРБ – С-реактивный белок; мСРБ – мономерная форма СРБ; нСРБ – пентамерная форма СРБ; Лп(а) – липопротеид (а); apoB-100 – аполипопротеин В-100; ЛНП – липопротеиды низкой плотности; ЛВП – липопротеиды высокой плотности; окЛНП – окисленные ЛНП; ОХС – общий холестерин; ТГ – триглицериды; ЧСА – сывороточный альбумин человека; IgG – иммуноглобулины класса G; ХС ЛНП холестерин липопротеидов низкой плотности; ХС ЛВП – холестерин липопротеидов высокой плотности; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания.

## ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) по-прежнему остаются основной причиной смертности в развитых странах, несмотря на новые гиполипидемические препараты и высокотехнологичные инвазивные методы диагностики и лечения. Нарушения липидного обмена считаются основной причиной возникновения и развития атеросклероза, лежащего в основе ССЗ, в то время как С-реактивный белок (СРБ) служит маркером системного воспаления. Все больше данных свидетельствует в пользу того, что СРБ может быть не только маркером воспаления, но и одним из патогенетических компонентов разви-

тия ССЗ [1]. Наиболее патогенная, обладающая провоспалительными и протромбогенными свойствами мономерная форма СРБ (мСРБ) образуется при диссоциации нативной пентамерной формы (нСРБ) на поверхности активированных тромбоцитов и поврежденных клеток [2, 3]. мСРБ выявлена в зонах некроза при остром инфаркте миокарда и в атеросклеротических бляшках [4]. Высокий уровень СРБ после перенесенного инфаркта миокарда связан с риском последующего развития дисфункции миокарда и сердечной недостаточности [5, 6]. Концентрация СРБ в плазме крови ассоциирована с прогнозом течения заболевания при атеросклерозе, хронической

сердечной недостаточности, мерцательной аритмии, миокардите, недостаточности аортального клапана и после трансплантации сердца [7]. Исследование CANTOS, проведенное на пациентах высокого риска с повышенным уровнем нСРБ (медиана 4.1 мг/л), показало, что подавление воспаления без влияния на концентрацию холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП) приводит к значимому снижению риска сердечно-сосудистых осложнений и может представлять собой новую терапевтическую стратегию в случае пациентов с ССЗ [8].

В ряде исследований выявлена связь повышенной концентрации нСРБ и атерогенных apoB-100-содержащих липопротеидов. Увеличение уровней нСРБ и окисленных липопротеидов низкой плотности (окЛНП) отмечено у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) при нарастании тяжести атеросклероза, оцениваемой по количеству пораженных коронарных артерий [9]. Повышенные уровни нСРБ и липопротеида (а) (Лп(а)) наблюдали в группе пациентов моложе 45 лет, перенесших острый инфаркт миокарда [10]. Grønholdt M. и соавт. установили, что повышенная концентрация маркеров острой фазы воспаления прочно ассоциирована с высоким уровнем триглицерид-богатых липопротеидных частиц, повышенным объемом атеромы и экзогенностью бляшек в сонных артериях, что также говорит о роли маркеров воспаления как возможных предикторов тяжести поражения и формирования нестабильной атеросклеротической бляшки [11].

В настоящее время возможности медикаментозной коррекции уровня СРБ ограничены препаратами, воздействующими на пути его синтеза в печени [12], при этом ведется интенсивный поиск способов влияния непосредственно на концентрацию этого белка. Один из таких способов – удаление СРБ из кровотока с помощью экстракорпоральных методов терапевтического афереза. Наиболее эффективными и селективными являются методы на основе сорбционных технологий. В качестве активных ингредиентов сорбционных колонок используют специфические антитела или синтетические миметики природных лигандов и сайтов связывания молекул СРБ.

Удаление СРБ привело к достоверному уменьшению зоны некроза в животной модели острого инфаркта миокарда [13]. Снижение уровня СРБ (до 50% за процедуру) наблюдали при использовании колонки PentraSorb® CRP (Pentracor, Германия) у пациентов с острым инфарктом миокарда [14]. В настоящее время продолжается накопление данных о клинической эффективности таких процедур.

Ранее нами был синтезирован сорбент с синтетическим лигандом-миметиком, способный одновременно связывать СРБ и атерогенные липопротеиды

[15]. Одновременное снижение уровней этих компонентов в кровотоке позволит уменьшить их провоспалительное и проатерогенное действие и таким образом воздействовать на оба важных звена патогенеза атеросклероза.

Цель данной работы состояла в изучении эффективности и селективности связывания провоспалительных и проатерогенных компонентов плазмы крови человека синтезированным сорбентом.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали растворы очищенных препаратов: липопротеидов низкой плотности, сывороточного альбумина человека (ЧСА), иммуноглобулинов класса G (IgG), СРБ, а также плазмы/сыворотки крови: плазмы здоровых доноров, стабилизированной антикоагулянтом цитрат-фосфат-декстроза, гепаринсодержащей плазмы, полученной после проведения процедур плазмообмена, сыворотки больных ИБС. Растворы ЛНП с концентрациями общего холестерина (ОХС) 500 и 800 мг/дл получены из плазмы крови здоровых доноров методом ультрацентрифугирования в градиенте плотности нейтральной соли NaBr [16]. Раствор ЧСА с концентрацией 29 мг/мл готовили с использованием лиофилизированного препарата (Calbiochem, США). Раствор СРБ с концентрацией 1 мг/мл содержал 1% ЧСА в качестве стабилизатора («Имтек», Россия). Использовали препарат иммуноглобулина G человека для внутривенного введения (Octapharma, Швейцария) с концентрацией 50 мг/мл.

При проведении сравнительного анализа использовали иммуносорбенты с иммобилизованными поликлональными антителами: к ЛНП – активный ингредиент колонки ЛНП-Липоак®, к IgG – активный ингредиент колонки Ig Адсоак® (оба сорбента НПФ «ПОКАРД», Россия) и к препарату нСРБ. Сорбент с синтетическим лигандом получен иммобилизацией ароматического альдегида на перешитую агарозную матрицу через молекулярный спейсер в соответствии с модифицированной методикой, описанной ранее [17]. При проведении синтеза не требовалось присутствие глутарового альдегида.

Свойства сорбентов изучали с использованием метода бечч-хроматографии (хроматографии в объеме) при комнатной температуре и соотношении объемов геля сорбента и исследуемого препарата (раствора белка, плазмы или сыворотки крови человека) 1 : 10, если не оговорено иначе. Для построения изотерм адсорбции хроматографию проводили в буферной смеси, содержащей 10 мМ NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 140 мМ NaCl (pH 7.0), в течение 1 ч. На основании изотерм рассчитывали максимальную сорбционную емкость (S<sub>max</sub>) и константу десорбции (K<sub>d</sub>). Распределение компо-

нентов плазмы в процессе хроматографии, характеризующее отношением концентраций связанного с сорбентом и свободного вещества или величиной коэффициента распределения ( $K_c$ ), оценивали при постоянной нагрузке и разведении плазмы в 1–5 раз. Для определения максимальной ЛНП-связывающей способности проводили хроматографию с концентрированными растворами ЛНП (300 и 500 мг/дл), контролируя количество свободного холестерина (в течение 0.5–20 ч).

Для определения в плазме концентрации ОХС, ХС ЛВП, ЧСА, ТГ использовали наборы реагентов Analiticon Biotechnologies AG (Германия) и «Вектор Бест» (Россия). Концентрацию IgG и ЧСА в растворе определяли спектрофотометрически с использованием коэффициентов молярной экстинкции 1.4 и 0.6 соответственно. Концентрацию СРБ и IgG определяли с помощью иммуноферментного анализа («Вектор-Бест»). Концентрацию Лп(а) измеряли при помощи иммуноферментного анализа с использованием моноспецифических поликлональных антител барана против Лп(а) человека как описано ранее [18]. Концентрацию ХС ЛНП рассчитывали по формуле Фридвальда:  $\text{ХС ЛНП} = \text{ОХС} - \text{ХС ЛВП} - \text{ТГ} / 5$  (мг/дл) [19]. В образцах с повышенной концентрацией Лп(а) рассчитывали уровень коррегированного ХС ЛНП ( $\text{ХС ЛНП}_{\text{корр}}$ ), учитывающего холестерин, входящий в состав Лп(а), по модифицированной формуле Фридвальда:  $\text{ХС ЛНП}_{\text{корр}} = \text{ХС ЛНП} - \text{Лп(а)} \times 0.33$ , где Лп(а) – концентрация Лп(а), мг/дл [20].

Процессы адсорбции СРБ, IgG, ЧСА и ЛНП на сорбенте удовлетворительно описываются уравнением Ленгмюра:  $S = S_{\text{max}} \times [\text{Ср-p}] / (K_d + [\text{Ср-p}])$ , где  $S$  – количество связанного с сорбентом компонента,  $S_{\text{max}}$  – максимальная сорбционная емкость,  $[\text{Ср-p}]$  – концентрация свободного компонента в растворе,  $K_d$  – константа десорбции. При пересчете  $K_d$  в константы десорбции, выраженные в количестве частиц ( $K_d \text{ M}$ ), использовали соответствующие молекулярные массы. При пересчете концентрации ХС ЛНП в концентрацию ЛНП учитывали процентное содержание холестерина в данной липопротеидной частице.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработанный нами сорбент представляет собой полимерную агарозную матрицу, к которой посредством молекулярного спейсера ковалентно присоединен синтетический лиганд, содержащий ароматическую группу. Сорбент имеет значительную удельную поверхность и развитые поры, доступные для всех исследуемых в нашей работе компонентов плазмы крови человека. Размер гранул матрицы варьирует от 40 до 180 мкм, размер пор (предел

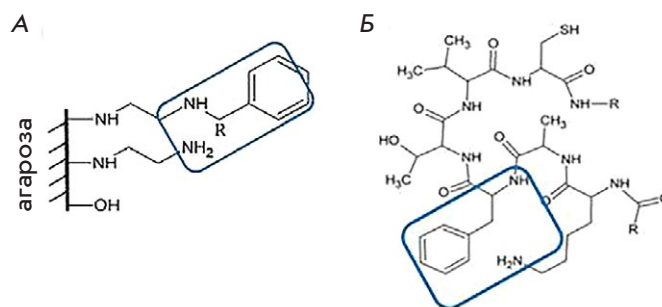


Рис. 1. Структурные компоненты разработанного сорбента (А) и участок молекулы СРБ (AFTV), ответственный за связывание с рецептором лейкоцитов (Б) [22]

исключения по молекулярной массе) составляет  $6.3 \times 10^5$  кДа [21].

Возможными функциональными группами на поверхности синтезированного сорбента являются гидроксильные группы моносахаридных остатков агарозы, первичные и вторичные аминогруппы спейсера и бензольные группы лиганда (рис. 1А). Адсорбция компонентов плазмы может осуществляться посредством ионообменных, ароматических и гидрофобных взаимодействий.

При изучении пептидов – ингибиторов взаимодействия СРБ с клетками линии U937, Zen и соавт. показали, что критическое значение для взаимодействия молекулы СРБ с СРБ-связывающим сайтом рецептора имеет аминокислотная последовательность ТКРЛК**AFTV**СЛН [22]. Эта последовательность содержит участок из трех гидрофобных аминокислот, в том числе одну ароматическую (рис. 1Б). При разработке сорбента было сделано допущение, что ароматические и аминогруппы будут участвовать в связывании СРБ по принципу комплементарности и гидрофобных взаимодействий. Адсорбция атерогенных липопротеидов, происходящая на данном сорбенте, позволяет также считать его миметиком рецептора LOX-1 [23].

Сорбционные характеристики – максимальная сорбционная емкость ( $S_{\text{max}}$ ) и константа десорбции ( $K_d$ ) – представлены в табл. 1 в сравнении с соответствующими параметрами иммуносорбентов IgG-Адсопак® и сорбента с иммобилизованными поликлональными антителами против нСРБ человека. Значение константы десорбции ( $4.2 \times 10^{-8} \text{ M}$ ) свидетельствует о специфичном связывании синтетического сорбента с СРБ и показывает, что набор функциональных групп сорбента способен выполнять роль миметика СРБ-связывающего сайта. Взаимодействие синтетического сорбента с такими основными белковыми компонентами плазмы крови человека, как IgG и ЧСА, существенно менее специфично ( $K_d$  для IgG и ЧСА равны  $2.9 \times 10^{-5}$

Таблица 1. Параметры изотерм адсорбции белков плазмы крови человека – СРБ, IgG, ЧСА

	Белки плазмы крови		
	СРБ	IgG	ЧСА
Мол. масса, кДа	115	146	64
Сорбционные характеристики			
Константа десорбции, Kd, М			
Синтетический сорбент	$4.2 \times 10^{-8}$	$2.9 \times 10^{-5}$	$1.4 \times 10^{-5}$
Иммунсорбент*	$1.3 \times 10^{-8}$	$7.5 \times 10^{-7}$	Н.о.#
Сорбционная емкость, Smax, мг/мл геля			
Синтетический сорбент	34.4	45.2	46.6
Иммунсорбент*	0.9	16.1	Н.о.#

\*Для сорбции СРБ использовали сорбент с иммобилизованной сульфатной фракцией поликлональных антител козла к нСРБ человека; для сорбции IgG – сорбент с иммобилизованными поликлональными антителами барана к IgG человека IgG-Адсопак®.

# - Н.о. – не определяли.

и  $1.4 \times 10^{-5}$  М соответственно). Взаимодействие с ЛНП характеризуется значением константы десорбции, равным  $(7.7 \pm 3.6) \times 10^{-7}$  М и соизмеримым со значением для высокоспецифичного к ЛНП иммунсорбента ЛНП-Липопак® ( $(8.0 \pm 2.2) \times 10^{-7}$  М). Большое количество активных функциональных групп в составе синтетического сорбента обуславливает высокие значения Smax, подтвержденные в опытах *in vitro* с плазмой/сывороткой крови.

Липопротеиды плазмы крови являются лигандами разнообразных рецепторов, присутствующих на поверхности эндотелиальных и гладкомышечных клеток, макрофагов и тромбоцитов. Эти многочисленные рецепторы, способные связывать нативные и/или модифицированные ЛНП, участвуют не только в транспорте холестерина, но и во множестве физиологических и патофизиологических процессов,

включая процессы воспаления, репарации и атеросклероза [24]. Семейство скавенджер-рецепторов (рецепторов-мусорщиков) способно связывать широкий спектр различных лигандов, включая апоВ-100-содержащие модифицированные липопротеиды, Лп(а) и СРБ [25, 26], что предполагает существование возможных общих эпитопов для взаимодействия.

Липопротеид (а) представляет собой ЛНП-подобную частицу, в которой молекула апоВ-100 связана ковалентной дисульфидной связью с высокомолекулярным гликозилированным апобелком (а). Несмотря на то что Лп(а) является независимым генетическим фактором риска широкого спектра ССЗ, медикаментозных способов коррекции его уровня до сих пор не существует [27, 28]. Разработанные с этой целью терапевтические антисмысловые олигонуклеотиды проходят в настоящее время клинические испытания [29].

Адсорбцию Лп(а), ТГ и ХС ЛНП<sub>корр</sub> на сорбенты изучали методом хроматографии с плазмой крови человека при варьировании концентрации исследуемых компонентов (разведение от 1 до 5 раз) с постоянной нагрузкой, равной 1 мл плазмы на 0.1 мл синтетического либо иммунсорбента. Значения коэффициентов распределения (Kс) представлены в табл. 2, сорбционной емкости и эффективности сорбции (% удаления) – на рис. 2. Обнаружена бо-

Таблица 2. Значения коэффициентов распределения (Kс) компонентов плазмы крови человека – Лп(а), ТГ и ЧСА

Сорбент	Коэффициенты распределения, Kс		
	Лп(а)	ТГ	ЧСА
Синтетический сорбент	$38 \pm 7$	$7 \pm 1$	$6 \pm 5$
ЛНП-Липопак®	$23 \pm 6$	$6 \pm 1$	$5 \pm 4$

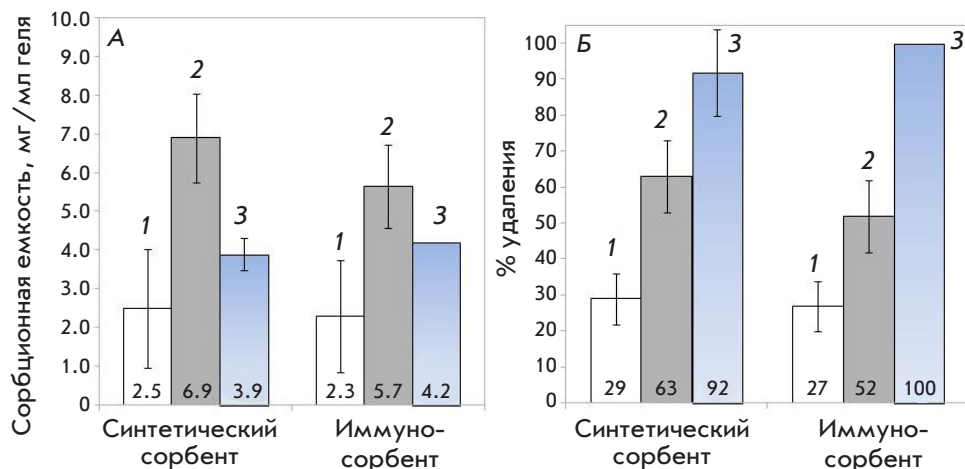
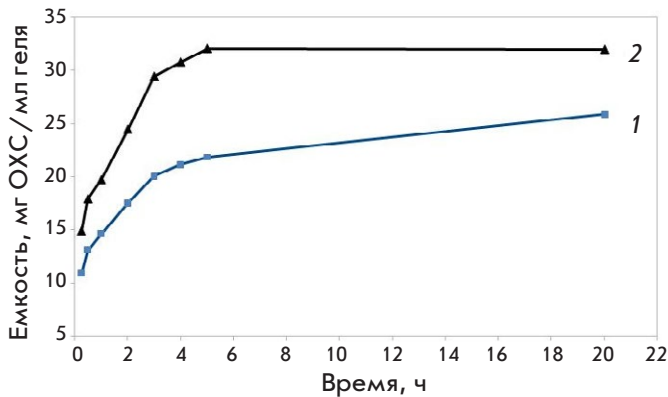


Рис. 2. Значения сорбционной емкости (А); эффективности сорбции (% удаления) исследуемых компонентов плазмы на синтетическом сорбенте и иммунсорбенте ЛНП-Липопак® (Б). Исследуемые компоненты плазмы – ТГ (1), Лп(а) (2), ХС ЛНП<sub>корр</sub> (3). Исходные концентрации в плазме (мг/дл): ОХС – 149, ХС ЛВП – 48, ТГ – 108, Лп(а) – 109, ХС ЛНП<sub>корр</sub> – 42 (расчетное значение)



**Рис. 3.** Зависимость сорбционной емкости синтетического сорбента от нагрузки и времени хроматографии (от 30 мин до 20 ч). 1 – нагрузка 30 мг ОХС/мл геля, 2 – нагрузка 50 мг ОХС/мл геля

лее выраженная адсорбция Лп(а) по сравнению с ТТ и ЧСА, причем максимальное различие по значениям  $K_s$  у синтетического сорбента. Иммуносорбент ЛНП-Липопак® лучше взаимодействует с ЛНП, что подтверждается большими величинами эффективности сорбции.

Адсорбцию СРБ изучали в опытах *in vitro* с сыровороткой крови пациента с экстремально высокой концентрацией СРБ (1330 мг/л). Специфичность взаимодействия синтетического сорбента с СРБ убедительно доказана высокой эффективностью связывания, равной 91%, а также высоким значением коэффициента распределения СРБ, равным 101, тогда как для ЧСА и IgG значение  $K_s$  составило 2. По результатам данного эксперимента сорбционная емкость синтетического сорбента достигла 12 мг СРБ/мл геля.

Как показывают результаты длительной инкубации сорбента с синтетическим лигандом с концентрированными растворами ЛНП (300 и 500 мг/дл), максимальная ЛНП-связывающая способность сорбента достигается не ранее 6-го ч инкубации, что, по-видимому, можно объяснить стерическими затруднениями при взаимодействии активных функциональных групп сорбента с таким крупным надмолекулярным комплексом, как частица ЛНП. При более высокой нагрузке сорбционная емкость через 6 ч инкубации составляет 32 мг ОХС/мл геля, а эффективность связывания 64%. При более низкой нагрузке через 20 ч инкубации наблюдали меньшую сорбци-

онную емкость (26 мг ОХС/мл геля) при большей эффективности связывания (86%). Зависимость сорбционной емкости синтетического сорбента от нагрузки и времени хроматографии представлена на рис. 3.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных экспериментов получены данные, свидетельствующие о высокой специфичности взаимодействия сорбента с синтетическим лигандом с СРБ – константа десорбции ( $K_d$ ), равная  $4.2 \times 10^{-8}$  М, в 1000 раз превышает  $K_d$  таких основных белков плазмы, как ЧСА и IgG, и коэффициент распределения ( $K_s$ ), равный 101, в 50 раз превышает  $K_s$  ЧСА и IgG. Показана способность сорбента связывать большие количества атерогенных липопротеидов; максимальное значение сорбционной емкости, полученное на растворе ЛНП, составляет 32 мг ОХС/мл геля сорбента. Разработанный нами сорбент можно рекомендовать для комплексного удаления СРБ и атерогенных липопротеидов из плазмы крови пациентов при рефрактерных гиперлипидемиях и ССЗ, сопровождающихся повышенным уровнем СРБ.

### Ограничения исследования

Изотерма адсорбции СРБ была построена с использованием раствора, содержащего СРБ в концентрации 1 мг/мл и ЧСА в концентрации 10 мг/мл. Коэффициент распределения холестерина ЛНП ( $K_s$  ЛНП<sub>корр</sub>) не был рассчитан из-за низкой исходной концентрации ЛНП в плазме. Время проведения хроматографии, равное 1 ч, было меньше времени, необходимого для насыщения синтетического сорбента при высоких концентрациях ЛНП.

*Работа выполнена в рамках программы исследований ФГБУ НМИЦ Кардиологии МЗ РФ – НИР ГЗ АААА-А18-118030690076-7 «Разработка новых поколений аффинных сорбентов для процедур терапевтического афереза при лечении больных сердечно-сосудистыми и другими заболеваниями, резистентных к лекарственной терапии».*

*Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или животных в качестве объектов.*

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Avan A., Tavakoly Sany S.B., Ghayour-Mobarhan M., Rahimi H.R., Tajfard M., Ferns G. // *J. Cell. Physiol.* 2018. V. 233. № 11. P. 8508–8525. doi:10.1002/jcp.26791

2. Sproston N.R., Ashworth J.J. // *Front. Immunol.* 2018. V. 9. P. 754. doi:10.3389/fimmu.2018.00754  
3. Thiele J.R., Habersberger J., Braig D., Schmidt Y., Goerendt K., Maurer V., Bannasch H., Scheichl A., Woollard K.J.,

- von Dobschütz E. // *Circulation*. 2014. V. 130. № 1. P. 35–50. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007124.
4. Meuwissen M., van der Wal A.C., Niessen H.W., Koch K.T., de Winter R.J., van der Loos C.M., Rittersma S.Z., Chamuleau S.A., Tijssen J.G., Becker A.E. // *J. Clin. Pathol.* 2006. V. 59. № 2. P. 196–201. doi:10.1136/jcp.2005.027235
  5. Al Aseri Z.A., Habib S.S., Marzouk A. // *Vasc. Health Risk Manag.* 2019. V. 15. P. 221–227. doi:10.2147/VHRM.S198452
  6. Wang J., Tang B., Liu X., Wu X., Wang H., Xu D., Guo Y. // *Atherosclerosis*. 2015. V. 239. № 2. P. 343–349. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.024
  7. Osman R., L'Allier P.L., Elgharib N., Tardif J.C. // *Vasc. Health Risk Manag.* 2006. V. 2. № 3. P. 221–237. doi:10.2147/vhrm.2006.2.3.221
  8. Koening W. // *Eur. Cardiol.* 2017. V. 12. № 2. P. 89–91. doi:10.15420/ecr.2017:18:1
  9. Abolhasani S., Shahbazloo S.V., Saadati H.M., Mahmoodi N., Khanbabaei N. // *Arq. Bras. Cardiol.* 2019. V. 113. № 4. P. 667–674. doi:10.5935/abc.20190159
  10. Wadhwa A., Avasthi R., Ghambhir J.K., Dwivedi S. // *J. Assoc. Physicians India.* 2013. V. 61. № 6. P. 384–386.
  11. Grønholdt M.L., Sillesen H., Wiebe B.M., Laursen H., Nordestgaard B.G. // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2001. V. 21. № 3. P. 227–234. doi:10.1053/ejvs.2001.1321
  12. McFadyen J.D., Kiefer J., Braig D., Loseff-Silver J., Potempa L.A., Eisenhardt S.U., Peter K. // *Front Immunol.* 2018. V. 9. P. 1351. doi:10.3389/fimmu.2018.01351
  13. Sheriff A., Schindler R., Vogt B., Abdel-Aty H., Unger J.K., Bock C., Gebauer F., Slagman A., Jerichow T., Mans D. // *J. Clin. Apher.* 2015. V. 30. № 1. P. 15–21. doi:10.1002/jca.21344
  14. Ries W., Heigl F., Garlichs C., Sheriff A., Torzewski J. // *Ther. Apher. Dial.* 2019. V. 23. № 6. P. 570–574. doi:10.1111/1744-9987.12804
  15. Левашов П.А., Дмитриева О.А., Афанасьева М.И., Овчинникова Е.Д., Уткина Е.А., Афанасьева О.И., Адамова И.Ю., Покровский С.Н. // Патент РФ № 2700605. В01J 20/26 (2006.01). В01J 20/32 (2006.01). 2019.
  16. Patsch J.R., Sailer S., Kostner G., Sandhofer F., Holasek A., Braunsteiner H. // *J. Lipid. Res.* 1974. V. 15. № 4. P. 356–366.
  17. Левашов П.А., Овчинникова Е.Д., Фрид Д.А., Азьмуко А.А., Афанасьева М.И., Коткина Т.И., Афанасьева О.И., Адамова И.Ю., Покровский С.Н. // *Биоорг. химия*. 2015. Т. 41. № 5. С. 553–558. doi:10.7868/S0132342315040089
  18. Афанасьева О.И., Адамова И.Ю., Беневоленская Г.Ф., Покровский С.Н. // *Бюл. эксп. биол. мед.* 1995. Т. 120. № 10. С. 398–401.
  19. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. // *Clin. Chem.* 1972. V. 18. № 6. P. 499–502.
  20. Dahlen G.H. // *Lipoprotein(a)*. / Ed. Scanu A.M. New York: Acad. Press, 1990. P. 151–173.
  21. Афанасьева М.И., Дмитриева О.А., Афанасьева О.И., Адамова И.Ю., Левашов П.А., Овчинникова Е.Д., Покровский С.Н. // *Кардиол. вест.* 2019. Т. 14. № 3. С. 26–32. doi:10.36396/MS.2019.14.03.004
  22. Zen Q., Zhong W., Mortensen R.F. // *J. Cell. Biochem.* 1997. V. 64. № 1. P. 140–151. doi:10.1002/(sici)1097-4644(199701)64:1<140::aid-jcb16>3.0.co;2-p
  23. Stancel N., Chen C.C., Ke L.Y., Chu C.S., Lu J., Sawamura T., Chen C.H. // *Clin. Chem.* 2016. V. 62. № 2. P. 320–327. doi:10.1373/clinchem.2015.243923
  24. Mineo C. // *Cardiovasc. Res.* 2020. V. 116. № 7. P. 1254–1274. doi:10.1093/cvr/cvz338
  25. Pirillo A., Norata G.D., Catapano A.L. // *Mediators Inflamm.* 2013. V. 2013. P. 152786. doi:10.1155/2013/152786
  26. McCormick S.P.A., Schneider W.J. // *Pathology*. 2019. V. 51. № 2. P. 155–164. doi:10.1016/j.pathol.2018.11.003
  27. Pokrovsky S.N., Afanasieva O.I., Ezhov M.V. // *Curr. Opin. Lipidol.* 2016. V. 27. № 4. P. 351–358. doi:10.1097/MOL.0000000000000319
  28. Афанасьева О.И., Покровский С.Н. // *Рос. кардиол. журн.* 2019. Т. 24. № 5. С. 101–108. doi:10.15829/1560-4071-2019-5-101-108
  29. Афанасьева О.И., Ежов М.В., Покровский С.Н. // *Рос. кардиол. журн.* 2018. Т. 23. № 8. С. 99–109. doi:10.15829/1560-4071-2018-8-99-109