

Оценка связывания гомоцистеина с фракцией белков плазмы, ассоциированных с ремоделированием сосудистой стенки

А.А. Жлоба, Т.Ф. Субботина

ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Жлоба А.А. — доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела биохимии научно-исследовательского центра ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; Субботина Т.Ф. — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией биохимического мониторинга отдела биохимии научно-исследовательского центра ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России.

Контактная информация: ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, ул. Л. Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Россия, 197022. E-mail: zhloba@mail.spbnit.ru (Жлоба Александр Анатольевич).

Резюме

Повышение общей концентрации различных химических форм гомоцистеина (Гци) выше 12 μM носит название гипергомоцистеинемия. Термин «общий гомоцистеин» плазмы (оГци) обозначает сумму концентраций восстановленной (-SH) и окисленных форм Гци (-SS-). Предполагают, что S- и особенно N-гомоцистеинилирование белков играют важную роль в развитии токсических эффектов Гци. Уровень оГци в плазме не проявляет тесной корреляции с выраженностью патологического процесса с ремоделированием сосудистой стенки и поэтому не очень подходит для проспективных исследований. В статье описан метод исследования оГци и его фракции после ультрафильтрации, позволяющей отсечь белки, масса которых превышает 300 кДа. К белкам этой фракции, которые могут образовывать смешанные дисульфиды Гци, относятся апоВ и активированный альфа-2-макроглобулин. Предлагаемое определение Гци в препаратах плазмы до и после ультрафильтрации доступно в любой лаборатории с помощью наборов реактивов для определения Гци в плазме. Определение фракции Гци, связанной с белками, с помощью центрифужного устройства Vivaspin 300 000 MWCO PES «Сарториус» дает информацию о дополнительных путях транспорта Гци в макрофаги, эндотелиальные клетки, гладкомышечные и другие клетки сосудистой стенки путем рецепторного эндоцитоза.

Ключевые слова: общий гомоцистеин, гипергомоцистеинемия, глутатион, альфа-2-макроглобулин, ультрафильтрация, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Evaluation of homocysteine binding with a fraction of plasma proteins associated with vascular remodeling

A.A. Zhloba, T.F. Subbotina

Pavlov St Petersburg State Medical University, St Petersburg, Russia

Corresponding author: Pavlov St Petersburg State Medical University, 6/8 L. Tolstoy, St Petersburg, Russia, 197022. E-mail: zhloba@mail.spbnit.ru (Aleksander A. Zhloba, MD, PhD, Professor, the Head of the Biochemistry Department at Pavlov St Petersburg State Medical University).

Abstract

Elevated levels of homocysteine (Hcy) in tissues cause cytotoxic effects. Increase in the overall concentration of the various Hcy chemical forms above 12 μM is called hyperhomocysteinemia. The term «total homocysteine» of plasma (tHcy) is the sum of concentrations of aminothiols in reduced (-SH) and

oxidized (-SS-) forms. It was suggested that the S- and, partially, N-homocysteinylation of proteins plays a major role in the toxic effects of Hcy. The rate of tHcy in plasma is not closely related to pathological process with remodeling of the vascular wall and not entirely suitable for prospective evaluation of the pathologic process. The paper presents the method of evaluation of the tHcy and its fraction after ultrafiltration, allowing cut off proteins with mass above 300 kDa. Proteins in this fraction which can form a mixing disulfides of Hcy include apoB protein and activated alpha-2-macroglobulin. The proposed Hcy estimation in plasma preparations prior and after ultrafiltration may be performed in any laboratory with kits for tHcy evaluation in plasma. Evaluation of Hcy fraction associated with > 300 kDa plasma proteins by means of centrifugal device Vivaspin 300 000 MWCO PES «Sartorius» provides information about Hcy transport by an additional way in macrophages, endothelial cells, smooth muscle cells and others in vascular wall by receptorial endocytosis.

Key words: total homocysteine glutathione, hyperhomocysteinemia, alpha-2-macroglobulin, ultrafiltration, high-performance liquid chromatography.

Статья поступила в редакцию: 07.05.13. и принята к печати: 14.05.13.

Введение

Повышение суммарного содержания различных фракций гомоцистеина (Гци) в крови выше 12 мкМ принято называть гипергомоцистеинемией (ГГЦ). Термин «общий гомоцистеин» плазмы крови (оГци, tHcy) обозначает сумму концентраций аминокислоты в восстановленной (-SH) и окисленных (-S-S-) формах. Предполагают, что S- и, частично, N-гомоцистеинилирование белков играет основную роль в токсических эффектах Гци [1–6]. Соотношения свободного и связанного с белком аминокислоты составляют 0,2 для Гци, около 0,5–0,6 для цистеина и 4–5 для глутатиона (Глт) [7–9]. Таким образом, за счет образования дисульфидных связей Гци прочнее других аминокислот связывается с белками. Это может быть объяснено довольно высокой рКа = 10,0 Гци. С возрастом происходит увеличение количества Гци и других аминокислот, связанных с белками крови [10–12]. Благодаря низкой рКа 34 цистеинового остатка альбумина, Гци в норме транспортируется в плазме крови, в основном, с этим белком [13]. Участие в патофизиологических процессах данного аминокислоты объясняется образованием смешанных дисульфидов с другими белками, включая фибронектин, транстиретин и металлотионеин. Цитотоксичность повышенного уровня Гци можно объяснить S-гомоцистеинилированием цистеиновых остатков белков [4]. Возможно, гомоцистеинилирование апопротеина В в составе липопротеинов может приводить к переносу Гци в клетки сосудистой стенки, включая эндотелиоциты [14].

При помощи гель-фильтрации было показано, что этот аминокислота может также транспортироваться в значительном количестве в составе альфа-2-макроглобулина [15, 16]. Связывающая способность белков плазмы крови в отношении Гци составляет $4,88 \pm 0,51$ и $4,74 \pm 0,68$ мкмоль/г для здоровых муж-

чин и женщин соответственно [17]. В соответствии с полученными ранее данными при ГГЦ значительная доля Гци переносится высокомолекулярными фракциями, содержащими альфа-2-макроглобулин (МГ) [15, 18].

Определение оГци не вполне удовлетворяет своей информативностью при проспективной оценке патологического процесса в области сосудистой стенки [19].

В работе уделяется внимание дальнейшему изучению механизма, при помощи которого Гци мог бы избирательно накапливаться именно в клетках меди сосудистой стенки, экспрессирующих LRP-рецептор.

Материалы и методы

В исследовании использовали кровь пациентов, взятую из кубитальной вены утром натощак в вакутейнеры с цитратом натрия в качестве антикоагулянта, для проведения исследований показателей гемостаза. Кровь объемом не менее 5 мл центрифугировали 10 минут при 580 g (3000 об/мин). Исследование оГци и содержание аминокислот в форме, связанной с фракциями белков плазмы крови, проводили в отделе биохимии научно-исследовательского центра ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ЭДТА-стабилизированная плазма добровольных доноров была использована после проведения обязательных тестов на вирусные инфекции. Исследование с образцами доноров и пациентов проведено с 2009 по 2012 годы. Образцы плазмы до анализа хранили порциями по 0,5–1,0 мл при температуре -70°C. Ретроспективное исследование проводилось с анонимным использованием полученных данных.

В основную группу было отобрано 23 образца, взятых у пациентов старше 55 лет с сердечно-сосудистыми заболеваниями с повышенным уровнем систолического и диастолического артериального давления ($> 135/90$ мм рт. ст.). У них отмечалась умеренная ГГЦ, в среднем — $19,1 \pm 3,2$ мкМ (Ме 22,9), а средний уровень фолиевой кислоты в плазме крови составил $10,3 \pm 7,7$ нМ.

Группа сравнения включала плазму крови 13 здоровых доноров 19–20-летнего возраста со средним уровнем оГци 7,9 (от 5 до 11) мкМ.

Наряду с этим, 8 образцов плазмы крови пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и уровнем общего холестерина крови (от 5,28 до 7,33 мм), С-реактивного белка (от 1,65 до 9,57 мг/л) и ГГци от 15,6 до 18,5 мкМ были использованы для сравнения фильтрующей способности мембран Vivaspin 100 000 и 300 000 MWCO PES.

Во всех образцах были определены уровни оГци и Гци, как в препаратах плазмы, так и в их ультрафильтратах. Это позволило рассчитать параметр фильтруемости Гци в виде коэффициента фильтрации (Кф).

Уровень оГци и Глт в плазме крови и их препаратах определяли так, как описано ранее с небольшими изменениями [20]. Анализ аминотиолов проводили с использованием хроматографа Agilent 1100 в комплектации с насосом, аутосамплером и детектором с изменяемой длиной волны (Agilent Technologies, Germany). Для пробоподготовки в пробирку Эппендорф объемом 1,5 мл приливали 100 мкл исследуемого образца или внешнего стандарта (препарат плазмы крови с известным содержанием Гци, Глт или пенициллина) и 25 мкл 10 мМ раствора дитиотреитола, приготовленного на 1 мМ растворе ЭДТА динатриевой соли. После перемешивания в течение 10 секунд пробы термостатировали при 60°C в течение 10 минут. Затем приливали по 100 мкл 10 мМ раствора 5',5'-дитиобиснитробензойной кислоты на 0,1 М калий фосфатном буфере, pH 8,0. После перемешивания в течение 10 секунд и выдерживания в течение 5 минут, в пробы приливали раствор 0,15 мл 10%-ной сульфосалициловой кислоты, приготовленной на 1 мМ растворе ЭДТА динатриевой соли. Отделение выпавшего осадка проводили путем центрифугирования при 8000 об/мин в течение 10 минут. Надосадочную жидкость фильтровали через мембранные нейлоновые фильтры с порами 0,2 микрона. Далее проводили хроматографию. На колонку Zorbax Eclipse XDB C18 5 мкм; $250 \times 4,6$ мм (Agilent Technologies, Германия) наносили по 10 мкл тионитробензоатные производных аминотиолов. Изократическая элюция со скоростью 1,0 мл/

мин проведена подвижной фазой, содержащей 12 % ацетонитрила в 0,1 М калий фосфатном буфере pH 3,7–3,8 в течение 7 минут. Пробоподготовку для определения фракций Гци и Глт в ультрафильтратах осуществляли так же, как и в отношении цельной плазмы крови.

Получение фракций Гци и Глт в фильтратах плазмы крови было проведено с использованием центрифужных устройств Vivaspin 500 фирмы Sartorius (Германия) с порами 300 000 и 100 000 MWCO PES. Ультрафильтрация препаратов плазмы была проведена в соответствии с рекомендациями производителя. Фильтруемость аминотиолов сравнивали по коэффициенту фильтрации. Коэффициент или фактор фильтрации Кф представлял собой соотношение концентрации Гци или Глт в ультрафильтрате к общей концентрации аминотиола в препарате плазмы.

Для определения МГ использован имунотурбидиметрический метод фирмы Beckman Coulter, Inc. Уровень фолиевой кислоты определяли методом хемилюминесцентного иммунологического анализа с тест-системами фирмы Beckman Coulter (США) с использованием анализатора Access-2 и наборов фирмы Beckman Coulter, Inc (США). Белок в препаратах определяли биуретовым способом.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием методов параметрической и непараметрической статистики. Методом дескриптивной статистики проводили оценку среднего арифметического и среднеквадратического отклонения ($M \pm SD$) или медианы и квартилей. Степень соответствия параметров наблюдаемого статистического распределения теоретическим распределениям оценивали с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Пирсона. Для оценки межгрупповых различий использован непараметрический тест Вилкоксона. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05. Статистическую обработку материала выполняли с использованием статистической программы SPSS16.

Результаты

С использованием центрифужных фильтрующих устройств Vivaspin 500 (Sartorius, Германия) с порами 100 000 и 300 000 единиц MWCO PES (Sartorius) была проведена оценка фильтруемости белков и оГци. Сравнение фильтрующей способности в отношении белков плазмы крови было необходимо, так как единицы MWCO PES приблизительно указывают на способность удерживать растворенные белки выше 100 или 300 кДа соответственно. Целью

этих опытов было определение типа фильтров, не пропускающих в ультрафильтрат молекулы или диссоциированные субъединицы МГ. Для этого была использована плазма крови восьми пациентов с умеренной ГГЦ: Ме 17,4 (межквартильный размах 15,6–18,5) мкМ.

При использовании фильтров Vivaspin 500 с порами 100 000 MWCO PES в низкомолекулярных фракциях этих образцов обнаружили от 8 до 37 % Гци (Ме = 21 %) и от 7 до 33 % белка (Ме = 21 %). После ультрафильтрации этих же препаратов плазмы через фильтры 300 000 MWCO PES в фильтратах обнаружено от 20 до 39 % Гци (Ме = 28 %) и от 37 до 56 % белка. По данным ИФА-анализа, МГ сохранялся в нефiltrуемом высокомолекулярном материале и не выявлялся в фильтратах. В связи с этим в дальнейшем были использованы фильтры 300 000 MWCO PES.

Проведенные эксперименты позволили перейти к оценке фильтруемости Гци, содержащегося в препаратах плазмы крови пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Изменение Кф Гци в препаратах плазмы пациентов с нарушениями кровообращения оценивали по отношению к референтным интервалам доноров. Для определения референтных границ коэффициента фильтруемости Гци у лиц без нарушений системы кровообращения использовали образцы плазмы доноров. Кф Гци плазмы крови пациентов с нарушениями кровообращения был значительно понижен ($p < 0,05$) по отношению к референтной группе. Уровень Глт в полученных фракциях и его Кф значимо не изменялись по отношению к референтной группе.

В образцах фильтратов доноров обнаружено в среднем $56,0 \pm 5,6$ %, а в образцах фильтратов группы пациентов выявлено 37 ± 5 % от содержания Гци в препаратах плазмы. В референтной группе нижняя граница (25-й перцентиль) Кф составляет 0,43. При снижении фильтруемости Гци наблюдается понижение Кф, характеризующее удержание Гци, преимущественно связанного с белками плазмы с молекулярной массой более 300 кДа. Верхняя граница (75 %) интервала Кф в группе пациентов составляет 0,62, что выше 0,43, и разница составляет 0,19. Опираясь на полученные данные, можно сделать вывод о том, что в группе пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы Кф у значительной части пациентов существенно ниже, чем в группе здоровых доноров. В группе пациентов таких случаев было 8. При использовании для ультрафильтрации плазмы пациентов с уровнем оГци от 15 до 20 мкМ в фильтратах в среднем выявляли $6,9 \pm 1,8$ мкМ Гци, а в фильтратах препаратов

плазмы с уровнем оГци от 20 до 70 мкМ в среднем обнаруживали $13,0 \pm 3,5$ мкМ Гци, что существенно не отражалось на величине его Кф. Возможно, пациенты с сохранившимся высоким уровнем Кф характеризуются менее опасной ГГЦ, тогда как пациенты без ГГЦ и с низкими значениями Кф могут быть охарактеризованы повышенной вероятностью удерживания Гци в клетках сосудистой стенки за счет рецепторного эндоцитоза вместе с МГ или липопротеинами низкой плотности (ЛПНП).

Обсуждение

В опытах с очищенными препаратами продемонстрирована способность МГ связывать Гци [16]. Известно, что при активации, то есть связывании протеиназ и некоторых других молекул этим поливалентным ингибитором, экспрессируется из тиоэфирных связей 4 свободные тиоловые группировки. По-видимому, при патологических состояниях, сопровождающихся активацией протеолитических систем, происходит увеличение доли Гци, транспортируемого в составе активированного МГ. Известно, что активированный МГ быстро извлекается из кровотока макрофагами, экспрессирующими рецептор LRP (Lipoprotein-Related-Protein-receptor). Активированные макрофаги являются носителями этого рецептора и в большом количестве обнаруживаются при развитии атеросклероза в субэндотелиальном пространстве [21]. По-видимому, не только этот белок способен к транспорту Гци в клетки сосудистой стенки. Показано, что апоВ ЛПНП (550 кДа) может связывать Гци. Следует учитывать, что к рецепторам ЛПНП имеет высокое сродство активированный МГ [22, 23].

Возможно, большую роль в обеспечении альтернативного транспорта Гци через рецепторный эндоцитоз МГ могут играть процессы активации этого белка секретируемыми в кровь протеиназами. Следует ожидать, что транспорт Гци с МГ может активировать перенос Гци в клетки меди сосудистой стенки. Этому может благоприятствовать экспрессия альфа-2-макроглобулинового рецептора макрофагами, гладкомышечными и другими клетками сосудистой стенки. По-видимому, определение Кф дает информацию о части оГци, транспортируемой путем рецепторного эндоцитоза в клетки, экспрессирующие рецепторы, связывающие активированный МГ.

Выводы

На основании полученных данных можно сделать вывод, что при оценке роли Гци в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний большое значение имеет определение величины Кф этого амино-

тиола, характеризующего удерживание его крупномолекулярной фракцией белков крови. Определение оГци и его Кф дает более полную информацию с учетом части Гци, транспортируемой путем рецепторного эндоцитоза в клетки, экспрессирующие рецепторы к активированному МГ и ЛПНП.

Благодарность

Работа выполнена при поддержке научной части ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Жлоба А.А. Диагностика, патогенез и интерпретация лабораторного исследования при гипергомоцистеинемии // В книге: «Клиническая и экспериментальная кардиология» / Под ред. чл.-корр. РАМН проф. Е.В. Шляхто. — Изд-во ООО «Академический медицинский центр». — СПб., 2005. — С. 198–208. / Zhloba A.A. Diagnosis, pathogenesis and interpretation of laboratory tests in hyperhomocysteinemia // In the book: «Clinical and Experimental Cardiology» / Ed. by Corr. Professor of Medical Sciences E.V. Shlyakhto. — Publishing Ltd. «Academic Medical Center». — St Petersburg, 2005. — P. 198–208 [Russian].
2. Fridman O., Fuchs A.G., Porcile R., Morales A.V., Gariglio L.O. Paraoxonase: its multiple functions and pharmacological regulation // Arch. Cardiol. Mex. — 2011. — Vol. 81, № 3. — P. 251–260.
3. Głowacki R., Bald E., Jakubowski H. An on-column derivatization method for the determination of homocysteine-thiolactone and protein N-linked homocysteine // Amino Acids. — 2011. — Vol. 41, № 1. — P. 187–194.
4. Glushchenko A.V., Jacobsen D.W. Molecular targeting of proteins by L-homocysteine: mechanistic implications for vascular disease // Antioxid. Redox. Signal. — 2007. — Vol. 9, № 11. — P. 1883–1898.
5. Jakubowski H., Głowacki R. Chemical biology of homocysteine thiolactone and related metabolites // Adv. Clin. Chem. — 2011. — Vol. 55. — P. 81–103.
6. Ueland P.M., Mansoor M.A., Guttormsen A.B. et al. Reduced, oxidized and protein-bound forms of homocysteine and other aminothiols in plasma comprise the redox thiol status — a possible element of the extracellular antioxidant defense system // J. Nutr. — 1996. — Vol. 126, № 4, Suppl. — P. 1281S–1284S.
7. Mansoor M.A., Svoldal A.M., Ueland P.M. Determination of the in vivo redox status of cysteine, cysteinylglycine, homocysteine, and glutathione in human plasma // Anal. Biochem. — 1992. — Vol. 200, № 2. — P. 218–229.
8. Mansoor M.A., Svoldal A.M., Schneede J., Ueland P.M. Dynamic relation between reduced, oxidized and protein-bound homocysteine and other thiol components in plasma during methionine loading in healthy men // Clin. Chem. — 1992. — Vol. 38, № 7. — P. 1316–1321.
9. Mansoor M.A., Ueland P.M., Svoldal A.M. Redox status and protein binding of plasma homocysteine and other aminothiols in patients with hyperhomocysteinemia due to cobalamin deficiency // Am. J. Clin. Nutr. — 1994. — Vol. 59, № 3. — P. 631–635.

10. Giustarini D., Dalle-Donne I., Lorenzini S. et al. Age-related influence on thiol, disulphide and protein mixed disulphide levels in human plasma // J. Gerontol. A. — 2006. — Vol. 61, № 10. — P. 1030–1038.
11. Rossi E., Beilby J.P., McQuillan B.M., Hung J. Biological variability and reference intervals for total plasma homocysteine // Ann. Clin. Biochem. — 1999. — Vol. 36, Pt. 1. — P. 56–61.
12. Rossi R., Giustarini D., Milzani A., Dalle-Donne I. Cysteinylolation and homocysteinylolation of plasma protein thiols during ageing of healthy human beings // J. Cell Mol. Med. — 2009. — Vol. 13, № 9B. — P. 3131–3140.
13. Sengupta S., Chen H., Togawa T. et al. Albumin thiolate anion is an intermediate in the formation of albumin-S-S-homocysteine // J. Biol. Chem. — 2001. — Vol. 276, № 32. — P. 30111–30117.
14. Zinellu A., Sotgia S., Scanu B. et al. S-homocysteinylated LDL apolipoprotein B adversely affects human endothelial cells in vitro // Atherosclerosis. — 2009. — Vol. 206, № 1. — P. 40–46.
15. Жлоба А.А., Блашко Э.Л., Шляхто Е.В. Связывание гомоцистеина высокомолекулярными белками α 2-макроглобулином в плазме крови у пациентов с гипергомоцистеинемией // Бюлл. науч.-исследоват. института кардиологии им. В.А. Алмазова. — 2005. — Т. 3, № 1. — С. 67. / Zhloba A.A., Blashko E.L., Shlyakhto E.V. Binding of homocysteine to macromolecular proteins α 2-macroglobulin in the blood plasma of patients with hyperhomocysteinemia // Bulletin of the V.A. Almazov Research Institute of Cardiology [Bulletin Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Kardiologii im. V.A. Almazova]. — 2005. — Vol. 3, № 1. — P. 67.
16. Catanescu C.O., Willard B.B., Kinter M.T., Zhloba A.A., Jacobsen D.W. Structural modifications of homocysteinylated- α 2-macroglobulin // FASEB J. — 2008. — Vol. 22. — P. 1057–1063.
17. Togawa T., Sengupta S., Chen H. et al. Mechanisms for the formation of protein-bound homocysteine in human plasma // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2000. — Vol. 277, № 3. — P. 668–674.
18. Catanescu C.O., Barbato J.C., DiBello P.M., Willard B., Kinter M.T., Zhloba A.A., Jacobsen D.W. Molecular targeting of α 2-macroglobulin by homocysteine: stoichiometry and possible implications in inflammatory diseases // FASEB J. — 2007. — Vol. 21. — P. 641–648.
19. Xiao Y., Zhang Y., Lv X., Su D., Li D., Xia M. et al. Relationship between lipid profiles and plasma total homocysteine, cysteine and the risk of coronary artery disease in coronary angiographic subjects // Lipids Health Dis. — 2011. — Vol. 10. — P. 137.
20. Zhloba A.A., Blashko E.L. Liquid chromatographic determination of total homocysteine in blood plasma with photometric detection // J. Chromatogr. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. — 2004. — Vol. 800, № 1–2. — P. 275–280.
21. Жлоба А.А., Иванова С.Ю. Изучение свойств и выявление экспрессии рецептора активированного альфа-2-макроглобулина человека // Клинич. лабораторная диагностика. — 2002. — № 4. — С. 7–11. / Zhloba A.A., Ivanova S.Y. Evaluation of properties and identification of receptor expression of activated human α 2-macroglobulin // Clinical laboratory diagnostics [Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika]. — 2002. — № 4. — P. 7–11 [Russian].
22. Luoma J., Hiltunen T., Särkioja T. et al. Expression of α 2-macroglobulin receptor/low density lipoprotein receptor-related protein and scavenger receptor in human atherosclerotic lesions // J. Clin. Invest. — 1994. — Vol. 93, № 5. — P. 2014–2021.
23. Schulz S., Birkenmeier G., Schagdarsurengin U. et al. Role of LDL receptor-related protein (LRP) in coronary atherosclerosis // Int. J. Cardiol. — 2003. — Vol. 92, № 2–3. — P. 137–144.