

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОКИСЛЯЕМОСТЬ РАЗНЫХ КЛАССОВ ЛИПОПРОТЕИДОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

© 2022 В.З. Ланкин\*, А.К. Тихазе, В.Я. Косач

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии им. акад. Е.И. Чазова» Минздрава РФ,  
121552 Москва, Россия; электронная почта: lankin0309@mail.ru

Поступила в редакцию 29.08.2022

После доработки 21.09.2022

Принята к публикации 21.09.2022

Исследовали кинетику свободнорадикального окисления разных классов липопротеидов плазмы крови – наночастиц липид-транспортующей системы организма. Установлено, что  $\text{Cu}^{2+}$ -иницированная окисляемость (susceptibility to free radical peroxidation) «атерогенных» липопротеидов низкой плотности (ЛНП) плазмы крови человека *in vitro* более чем на порядок выше окисляемости «антиатерогенных» липопротеидов высокой плотности (ЛВП). Исходное содержание ацилгидроперокси-производных фосфолипидов в наружном слое частиц ЛНП *in vivo* (при расчёте на одну частицу) также более чем на порядок превышает содержание этих первичных продуктов свободнорадикального окисления в частицах ЛВП. Окисляемость субфракции ЛВП – ЛВП<sub>2</sub> – была достоверно выше, чем окисляемость общих ЛВП и субфракции ЛВП<sub>3</sub>. Полученные данные подтверждают важную роль свободнорадикального окисления ЛНП в молекулярных механизмах, приводящих к индукции повреждения стенки сосудов при атеросклерозе.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** липопротеиды низкой плотности (ЛНП), липопротеиды высокой плотности (ЛВП), свободнорадикальное окисление, ацилгидроперокси-производные фосфолипидов.

DOI: 10.31857/S0320972522110112, EDN: LWVDMY

### ВВЕДЕНИЕ

Липид-транспортующая система плазмы крови представлена двумя основными классами липид-белковых наноструктур – липопротеидами низкой плотности (ЛНП) и липопротеидами высокой плотности (ЛВП), которые существенно различаются по метаболическим функциям, а также по размеру и химическому составу частиц [1–5]. Частицы ЛВП содержат апопротеины А<sub>1</sub>, С<sub>2</sub> и Е, тогда как частицы больших по размеру ЛНП содержат единственный белок – апопротеин В-100 [1–4]. Образующиеся в печени ЛНП транспортируют липиды в периферические ткани, а ЛВП осуществляют обратный транспорт липидов для их утилизации в печени [5–8]. Апопротеин В-100 частиц ЛНП может подвергаться химической модификации с участием низкомолекулярных дикарбониллов, образующихся в качестве вторичных продуктов при свобод-

норадикальном окислении полиеновых липидов (4-гидрокси-2-ноненаль и малоновый диальдегид – МДА) и при окислении глюкозы и других шестиатомных углеводов (глиоксаль и метилглиоксаль) [9]. Изомер МДА метилглиоксаль образуется ферментативно из триозофосфатов, накапливающихся в процессе гликолиза при гипергликемии [10], тогда как гомолог МДА глиоксаль образуется при автоокислении глюкозы [11] и её соокислении с полиеновыми липидами [11, 12]. Нами была продемонстрирована возможность эффективного образования метилглиоксаля при атаке глюкозофосфатов гидропероксидными радикалами липидов [13], что предусматривает возможность накопления метилглиоксаля в процессе неферментативного свободнорадикального соокисления шестиатомных сахаров и ненасыщенных липидов в процессе окислительного стресса. Частицы окислительно модифицированных ЛНП активно захватываются scavenger-рецепторами клеток сосудистой стенки, что сопровождается возникновением предатерогенных липоидозных повреждений сосудов при атеросклерозе и диабете [9, 12]. При этом молекулярный механизм карбонильной модификации

Принятые сокращения: ЛВП – липопротеиды высокой плотности; ЛНП – липопротеиды низкой плотности; ЛП(а) – липопротеин (а); ЛООН – липогидропероксиды.

\* Адресат для корреспонденции.

апопротеинов ЛНП при атеросклерозе с преимущественным участием МДА и при диабете с участием глиоксаля и метилглиоксаля сходен [12, 14], хотя эффективность модификации белка различными дикарбонилами может отличаться [15, 16]. Кроме того, показано, что частицы «окисленных» ЛНП могут образовывать комплекс с рецептором LOX-1 на мембране эндотелиоцитов, стимулируя запуск апоптоза, приводящий к дисфункции эндотелия [17]. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что не окисленные ферментативно (при катализе животной С-15 липоксигеназой) ЛНП, а преимущественно дикарбонил-модифицированные ЛНП могут эффективно захватываться scavenger-рецепторами клеток сосудистой стенки [18]. Исходя из этого, можно полагать, что в многочисленных работах по атерогенному действию «окисленных» ЛНП наблюдаемые эффекты связаны не с действием собственно окисленных ЛНП (содержащих ацилгидроперокси-производные фосфолипидов в наружном слое частиц), а с карбонильной модификацией апопротеинов, вызванной накоплением низкомолекулярных дикарбониллов [9, 14]. Таким образом, очевидно, что окислительные превращения липопротеидов могут играть ведущую роль в этиологии и патогенезе атеросклероза и сахарного диабета [9, 14]. Тем не менее в литературе не существует общего мнения относительно сравнительной окисляемости частиц ЛНП и ЛВП [19–27], так как при сравнении скорости окисления обычно используют не только различные инициаторы окисления, различные методы анализа, но и различные расчёты для анализа результатов (обычно – на количество белка частиц, что при большой разнице в содержании апопротеинов в частицах ЛНП и ЛВП затрудняет интерпретацию результатов). Исходя из вышесказанного, в настоящей работе исследовали потенциальную способность частиц ЛНП, ЛВП и их субфракций (ЛВП<sub>2</sub>, ЛВП<sub>3</sub>) к Cu<sup>2+</sup>-инициированному свободнорадикальному перекисному окислению *in vitro* (susceptibility to free radical peroxidation), а также исходный уровень липогидроперокси-производных фосфолипидов *in vivo* в наружном слое частиц этих липопротеидов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Изолирование разных классов липопротеидов (ЛНП, ЛВП) и субфракций ЛВП (ЛВП<sub>2</sub>, ЛВП<sub>3</sub>) при помощи препаративного ультрацентрифугирования.** Препаративное выделение

ЛНП, общей фракции ЛВП и субфракций ЛВП<sub>2</sub>, ЛВП<sub>3</sub> из плазмы крови практически здоровых доноров проводили методом центрифугирования в градиенте плотности NaBr на ультрацентрифуге Beckman Optima XPN-80 («Beckman Coulter», США) [28]. Липопротеиды изолировали из трёх образцов плазмы крови, полученных от трёх разных здоровых доноров. В центрифужную пробирку вносили донорскую плазму, содержащую 1 мМ ЭДТА, осторожно наслаивали раствор NaBr с плотностью 1,006 г/мл и центрифугировали (105 000 g в течение 18 ч) при 4 °С в роторе Ti-60. После удаления верхнего слоя, содержащего липопротеиды очень низкой плотности (ЛОНП), к содержимому пробирки добавляли при перемешивании расчётное количество мелко растёртого порошка NaBr и растворяли соль для создания плотности 1,065 г/мл, после чего пробирку дополняли раствором NaBr этой же плотности. После центрифугирования (105 000 g в течение 18 ч при 4 °С) аккуратно отбирали верхний слой, содержащий флотированные ЛНП. К раствору в центрифужной пробирке вновь добавляли NaBr и доводили плотность до 1,125 г/мл. После центрифугирования (150 000 g в течение 24 ч при 4 °С) отбирали верхний слой, содержащий ЛВП<sub>2</sub>. К раствору в пробирке добавляли и при перемешивании растворяли NaBr, доводя плотность до 1,21 г/мл. Верхнюю фракцию ЛВП<sub>3</sub> отбирали после центрифугирования в течение 24 ч при 150 000 g и температуре 4 °С. Фракцию общих ЛВП получали путём центрифугирования (150 000 g в течение 24 ч при 4 °С) после отбора ЛНП и создания плотности NaBr, равной 1,21 г/л. Все полученные фракции липопротеидов подвергали диализу в течение 18 ч при температуре 4 °С против 2000 объёмов 0,145 М NaCl в 50 мМ К,Na-фосфатном буфере (рН 7,4).

**Исследование кинетики свободнорадикального Cu<sup>2+</sup>-инициированного окисления разных классов липопротеидов (ЛНП, ЛВП) и субфракций (ЛВП<sub>2</sub>, ЛВП<sub>3</sub>).** После диализа содержание белка в образцах липопротеидов определяли по методу Лоури, а затем пробы разбавляли до 50 мкг белка/мл раствором, содержащим 0,154 М NaCl в 50 мМ К,Na-фосфатном буфере (рН 7,4). Окисление частиц ЛНП, ЛВП, ЛВП<sub>2</sub> и ЛВП<sub>3</sub> при 37 °С индуцировали введением в среду инкубации 30 мкМ CuSO<sub>4</sub>, после чего через фиксированные интервалы времени измеряли накопление липогидропероксидов (LOOH) при 233 нм на спектрофотометре UV-2600 Shimadzu («Shimadzu», Япония) [12, 29, 30]. Содержание LOOH (конъ-

югированные диены —  $\Delta D_{233}$ ) в частицах ЛНП и ЛВП рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции  $22\,000\text{ M}^{-1} \times \text{см}^{-1}$ . Концентрацию LOOH на 1 частицу ЛНП и ЛВП рассчитывали, исходя из содержания апопротеина В-100 в частицах ЛНП и апопротеина А<sub>1</sub> в частицах ЛВП (каждый из этих апопротеинов присутствует в количестве 1 молекулы на частицу ЛНП и ЛВП соответственно). Содержание апопротеина В-100 и апопротеина А<sub>1</sub> измеряли на химическом анализаторе Abbott Architect С8000 («Abbott», США) при использовании соответствующих тест-наборов этой же фирмы. Исследование кинетики медь-зависимого свободнорадикального окисления липопротеидов *in vitro* проводили, используя частицы, изолированные из плазмы крови 3 доноров (липопротеиды, выделенные из плазмы крови каждого донора, использовали в независимых экспериментах).

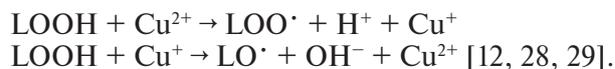
**Статистическая обработка результатов.** Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью пакетов программного обеспечения STATISTICA 10 («Statsoft», США); MedCalc, версия 12.7.0.0 («MedCalc Software», Бельгия) и Microsoft Excel 2010, версия 14.0.7263.5000. Поскольку анализ данных показал, что распределение признаков во всех случаях отличается от нормального, для статистического анализа применяли непараметрические методы статистики. Анализ различий количественных показателей при межгрупповых сравнениях выполняли с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни (Mann–Whitney U test). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

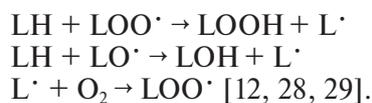
**Сравнительное исследование окисляемости разных классов липопротеидов.** Механизм инициации свободнорадикального перекисного окисления липопротеидов ионами меди хорошо изучен [29, 30]. Очевидно, что кинетика окисления липопротеидов *in vitro* должна существенно зависеть от строения частиц, качества (ненасыщенность) и количества субстрата окисления — полиеновых фосфолипидов наружного слоя частиц, но прежде всего от наличия первичных продуктов окисления — LOOH, накопленных в частицах в процессе их циркуляции в кровяном русле *in vivo* [12]. Деструкция этих нестойких LOOH может происходить спонтанно:



но медь-зависимая деструкция LOOH с образованием пероксильных ( $\text{LOO}^\bullet$ ) и алкоксильных ( $\text{LO}^\bullet$ ) радикалов происходит более эффективно:

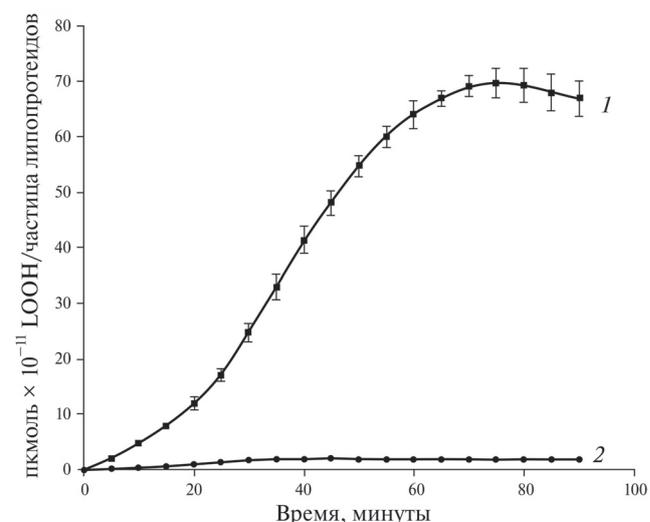


Из приведённых уравнений реакций следует, что скорость иницирования свободнорадикального окисления липопротеидов определяется исходным уровнем LOOH, накопленных в частицах *in vivo*. Дальнейшее окисление полиеновых липидов (LH) частиц липопротеидов происходит по цепному механизму с промежуточным образованием липидных радикалов ( $\text{L}^\bullet$ ):

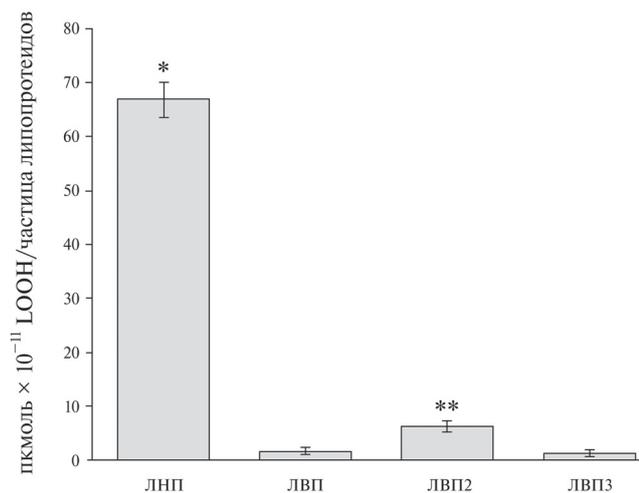


Результаты наших исследований сравнительной кинетики окисляемости частиц ЛНП и общей фракции ЛВП представлены на рис. 1.

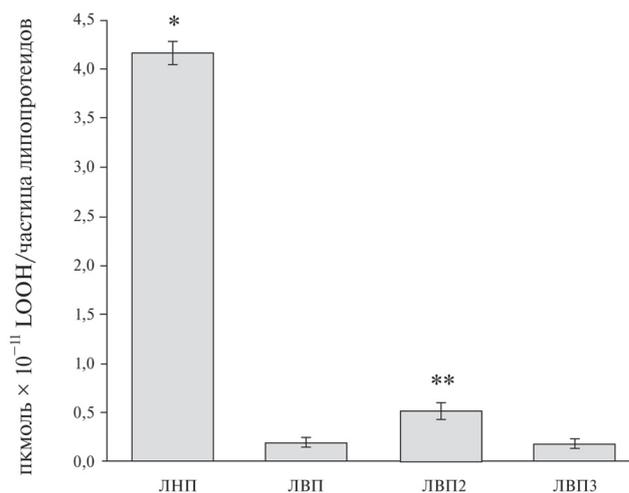
Как видно из рис. 1, при расчёте на 1 частицу скорость свободнорадикального окисления частиц ЛНП в идентичных условиях *in vitro* более чем на два порядка превышает скорость окисления частиц ЛВП. За 90 мин иницированного ионами  $\text{Cu}^{2+}$  окисления в частицах ЛНП накапливается  $66,9 \pm 3,26$  пмоль  $\times 10^{-11}$  LOOH на 1 частицу, тогда как за это же время в частицах ЛВП (общая фракция) накапливается лишь  $1,85 \pm 0,09$  пмоль  $\times 10^{-11}$  LOOH на 1 частицу (рис. 2).



**Рис. 1.** Кинетика свободнорадикального  $\text{Cu}^{2+}$ -индуцируемого окисления частиц ЛНП (кривая 1) и ЛВП (кривая 2). Примечания: различия между кривыми 1 и 2 статистически достоверны ( $p < 0,05$ ) во всех точках, начиная с 20 мин исследования



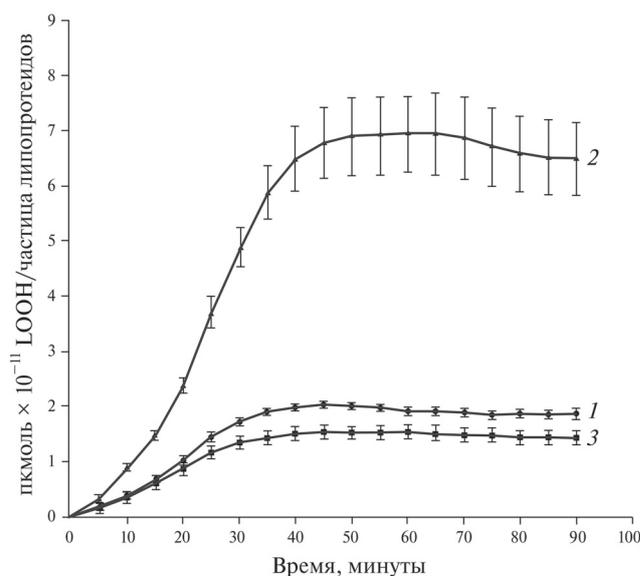
**Рис. 2.** Уровень LOOH, накопившихся в частицах ЛНП, общей фракции ЛВП, а также в частицах ЛВП<sub>2</sub> и ЛВП<sub>3</sub> за 90 мин свободнорадикального окисления фосфолипидов наружного слоя частиц после инициации окисления ионами Cu<sup>2+</sup>. Примечания: \* достоверные различия со всеми фракциями ЛВП ( $p < 0,05$ ); \*\* достоверные различия ЛВП<sub>2</sub> ( $p < 0,05$ ) от ЛВП и ЛВП<sub>3</sub>



**Рис. 3.** Стационарная (исходная) концентрация LOOH (содержание LOOH *in vivo*) в частицах ЛНП, в общей фракции ЛВП, а также в частицах ЛВП<sub>2</sub> и ЛВП<sub>3</sub>, измеренная непосредственно после изолирования липопротеидов методом ультрацентрифугирования в присутствии ЭДТА. Примечания: \* достоверные различия со всеми фракциями ЛВП ( $p < 0,05$ ); \*\* достоверные различия ЛВП<sub>2</sub> ( $p < 0,05$ ) от ЛВП и ЛВП<sub>3</sub>

Из полученных данных однозначно следует, что частицы ЛНП значительно более чувствительны к индукции свободнорадикального окисления в наружном фосфолипидном слое, чем частицы ЛВП. Стационарная (исходная) концентрация LOOH (ацилгидроперокси-производных фосфолипидов) в изолированных ЛНП составляла  $4,2 \pm 0,11$  пкмоль  $\times 10^{-11}$  LOOH на 1 частицу, тогда как исходное содержание первичных продуктов окисления в ЛВП составляло всего  $0,20 \pm 0,04$  пкмоль  $\times 10^{-11}$  LOOH на 1 частицу (рис. 3).

Таким образом, исходная окисленность частиц ЛНП *in vivo* также была более чем на порядок выше окисленности частиц ЛВП. Из этого следует, что и *in vivo* скорость свободнорадикального окисления частиц ЛНП должна быть значительно выше, чем скорость окисления частиц ЛВП, поскольку при деструкции LOOH из них образуются активные алкоксильные свободные радикалы LO<sup>•</sup>, способные инициировать дальнейшее свободнорадикальное окисление липидного субстрата по цепному механизму. Следовательно, повышенная чувствительность частиц ЛНП к индукции в них свободнорадикального окисления должна весьма сильно зависеть от скорости иницирования [12]. Повышенное содержание липопероксидов в ЛНП *in vivo* [25, 26] может быть объяснено инициацией окисления этих частиц активными формами кислорода (АФК) в процессе развития окислительного стресса [9, 14, 26], в частности, при гиперлипидемии в процессе атерогенеза [9, 12, 26].



**Рис. 4.** Сравнительная кинетика свободнорадикального Cu<sup>2+</sup>-индуцируемого окисления частиц общей фракции ЛВП (кривая 1), а также ЛВП<sub>2</sub> (кривая 2) и ЛВП<sub>3</sub> (кривая 3). Примечания: различия между кривыми 2 и 1, а также между кривыми 2 и 3 статистически достоверны ( $p < 0,05$ ) во всех точках, начиная с 20 мин исследования

При исследовании кинетики индуцированного свободнорадикального окисления наиболее антиатерогенных субфракций ЛВП (ЛВП<sub>2</sub> и ЛВП<sub>3</sub>) было обнаружено, что скорость окисления частиц ЛВП<sub>2</sub> значительно (в несколько раз) превышает скорость окисления частиц ЛВП<sub>3</sub> и частиц общей фракции ЛВП (рис. 4).

За 90 мин окисления в частицах ЛВП<sub>2</sub> накапливалось в 3,5 раза больше LOOH, чем в

частицах общей фракции ЛВП ( $6,49 \pm 0,66$  и  $1,85 \pm 0,09$  пмоль  $\times 10^{-11}$  LOON на 1 частицу соответственно), тогда как различия в накоплении LOON в частицах ЛВП<sub>3</sub> и частицах общей фракции ЛВП были незначительны (рис. 4). Исходный уровень LOON в частицах ЛВП<sub>2</sub> также был более чем в 2,5 раза выше, чем в частицах общей фракции ЛВП ( $0,52 \pm 0,087$  и  $0,20 \pm 0,04$  пмоль  $\times 10^{-11}$  LOON на 1 частицу соответственно), а различия в исходном уровне LOON в частицах ЛВП<sub>3</sub> и частицах общей фракции ЛВП были недостоверны (рис. 3).

Таким образом, нами получены убедительные доказательства того, что частицы ЛНП имеют значительно большие потенции к свободнорадикальному окислению *in vitro* и спонтанному окислению *in vivo*. Результаты наших исследований, свидетельствующие о том, что частицы ЛНП служат предпочтительным субстратом свободнорадикального окисления не только *in vitro*, но и *in vivo*, хорошо согласуются с представлениями о важной роли окислительно модифицированных ЛНП в молекулярных механизмах повреждения стенки сосудов при атеросклерозе [9, 27] и сахарном диабете [9, 12, 14–16]. Обогащённые гидроперокси-производными фосфолипидов частицы ЛНП легко подвергаются модификации вторичными продуктами деструкции LOON, такими как 4-гидрокси-2-ноненаль и малоновый диальдегид [14–16], причём карбонильная модификация апопротеина В-100 частиц ЛНП, вероятно, играет ключевую роль в пусковых механизмах атерогенеза [9, 14] и сахарного диабета [9, 12, 14, 15]. В литературе имеются отдельные данные, указывающие на большую окисляемость частиц ЛНП по сравнению с ЛВП [24, 26, 27], что согласуется с полученными нами результатами (рис. 1–3). Тем не менее авторы некоторых работ приходят к противоположным выводам [19–23, 25]. Эти противоречия могут быть связаны с рядом факторов, таких как использование различных инициаторов окисления *in vitro*, различных методов определения продуктов окисления, а также различных методов расчётов для интерпретации полученных результатов [19–27]. В частности, следует признать неприемлемым для сравнительной оценки окисляемости ЛНП и ЛВП представление результатов в виде уровня накопленных продуктов окисления на мг общего белка, что обычно и делается. По нашему мнению, такой способ представления результатов является совершенно некорректным вследствие больших различий в содержании апобелков в частицах ЛНП и ЛВП [31]. Мы полагаем, что выполненные нами расчёты, позволяющие представить

уровень LOON на 1 частицу ЛНП или ЛВП, наиболее адекватны для сравнения как уровня преобразованных в ЛНП и ЛВП липопероксидов, так и для сравнения содержания липопероксидов, накопленных в результате инициированного свободнорадикального окисления *in vitro*. По нашему мнению, большая окисляемость ЛВП по сравнению с ЛНП даже теоретически маловероятна вследствие большего процентного содержания апобелков в ЛВП и, в ещё большей степени, вследствие значительно меньшего содержания молекул субстрата окисления – фосфолипидов в частицах ЛВП по сравнению с частицами ЛНП [31]. Действительно, в частицах ЛВП<sub>2</sub> и ЛВП<sub>3</sub> содержится в 5–13 раз меньше молекул фосфолипидов, чем в частицах ЛНП [31]. В то же время процентное содержание белка в ЛВП<sub>2</sub> и ЛВП<sub>3</sub> в 2–2,6 раза выше, чем в ЛНП [31]. Следует отметить, что, как показано нами на примере сравнительной кинетики окисления частиц липопропротеина (а) (ЛП(а)) и ЛНП, при практически равном содержании субстрата окисления значительно меньшая окисляемость ЛП(а) может быть связана с большим содержанием белка в этих липопропротеидах [32]. Можно полагать, что длинный гликопротеиновый «хвост», отличающий молекулу апопротеина (а) от апопротеина В-100, ответственен за меньшую окисляемость частиц ЛП(а), поскольку он способен экранировать полиеновые ацилы фосфолипидов наружного слоя частиц ЛП(а) и тем самым уменьшать их доступность для свободнорадикального окисления (проявление феномена «структурного антиоксиданта») [32]. Доказательством справедливости этого предположения являются результаты наших экспериментов, свидетельствующие о том, что карбонильная модификация ЛП(а), приводящая к снятию или уменьшению экранирования фосфолипидов апопротеином (а), усиливает скорость свободнорадикального окисления частиц ЛП(а) [32].

В настоящее время трудно объяснить обнаруженные нами существенные различия в окисляемости частиц ЛВП<sub>2</sub> и ЛВП<sub>3</sub> (рис. 2–4), однако следует отметить, что свободнорадикальное окисление частиц ЛВП приводит к модификации их апобелков, причём при этом ЛВП могут терять способность к обратному транспорту холестерина [33–35]. Повышенная способность частиц ЛВП<sub>2</sub> к окислительной модификации (рис. 2–4), вероятно, нарушает их трансформацию в ЛВП<sub>3</sub> [36] и способствует усугублению негативного влияния свободнорадикального окисления на обратный транспорт холестерина [33–35]. Данные наших исследований о повышенной подверженности ча-

стиц ЛНП свободнорадикальному окислению *in vitro* и *in vivo* хорошо согласуются также с ранее полученными результатами других авторов, свидетельствующими о том, что повышенная окисляемость частиц ЛНП является предиктором развития коронарного атеросклероза [37].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые с использованием апробированных классических кинетических методов получены данные о содержании первичных продуктов свободнорадикального окисления в частицах ЛНП, ЛВП и субфракциях ЛВП (ЛВП<sub>2</sub> и ЛВП<sub>3</sub>). Как следует из полученных данных, использование расчётов содержания LOOH на мг белка в ранее опубликованных работах не позволяет получить однозначные результаты, и только расчёт содержания LOOH на частицу ЛНП и ЛВП является корректным. Результаты работы свидетельствуют о том, что даже у здоровых людей стационарная концентрация LOOH в «атерогенных» ЛНП *in vivo* и скорость индуцированного накопления LOOH в ЛНП *in vitro* значительно превышают значения соответствующих показателей в частицах «анти-атерогенных» ЛВП. Полученные данные убедительно свидетельствуют в пользу того, что именно ЛНП накапливают основное количество продуктов свободнорадикального окисле-

ния в плазме крови при окислительном стрессе, сопровождающем процесс атерогенеза.

**Вклад авторов.** Ланкин В.З. — концепция и руководство работой, обсуждение результатов исследования, написание текста; Тихазе А.К. — обсуждение результатов исследования, написание текста, редактирование текста статьи; Косач В.Я. — проведение экспериментов, обсуждение результатов исследования, редактирование текста статьи.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-15-00013.

**Благодарности.** Авторы признательны А.А. Панферовой и к.б.н. Г.Г. Коноваловой за помощь в выделении липопротеидов и проведении отдельных экспериментов, а также д.б.н. К.Б. Шумаеву за участие в обсуждении результатов.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 года и её последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включённых в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tomkin, G. H. (2010) Atherosclerosis, diabetes and lipoproteins, *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.*, **8**, 1015-1029, doi: 10.1586/erc.10.45.
2. Arnao, V., Tuttolomondo, A., Daidone, M., and Pinto, A. (2019) Lipoproteins in atherosclerosis process, *Curr. Med. Chem.*, **26**, 1525-1543, doi: 10.2174/0929867326666190516103953.
3. Carr, S. S., Hooper, A. J., and Sullivan, D. R. (2019) Non-HDL-cholesterol and apolipoprotein B compared with LDL-cholesterol in atherosclerotic cardiovascular disease risk assessment, *Pathology*, **51**, 148-154, doi: 10.1016/j.pathol.2018.11.006.
4. Getz, G. S., and Reardon, C. A. (2020) Atherosclerosis: cell biology and lipoproteins, *Curr. Opin. Lipidol.*, **31**, 286-290, doi: 10.1097/MOL.0000000000000704.
5. Wang, H. H., Garruti, G., Liu, M., Portincasa, P., and Wang, D. H. (2017) Cholesterol and lipoprotein metabolism and atherosclerosis: recent advances in reverse cholesterol transport, *Ann. Hepatol.*, **16** (Suppl. 1), S27-S42, doi: 10.5604/01.3001.0010.5495.
6. Lee, J. M. S., and Choudhury, R. P. (2010) Atherosclerosis regression and high-density lipoproteins, *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.*, **8**, 1325-1334, doi: 10.1586/erc.10.108.
7. Bryan, H., and Brewer, Jr. (2011) Clinical review: the evolving role of HDL in the treatment of high-risk patients with cardiovascular disease, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **96**, 1246-1257, doi: 10.1210/jc.2010-0163.
8. Hernáez, Á., Soria-Flórido, M., Schröder, H., Ros, E., Pintó, X., et al. (2019) Role of HDL function and LDL atherogenicity on cardiovascular risk: A comprehensive examination, *PLoS One*, **14**, e0218533, doi: 10.1371/journal.pone.0218533.
9. Lankin, V. Z., and Tikhaze, A. K. (2017) Role of oxidative stress in the genesis of atherosclerosis and diabetes mellitus: a personal look back on 50 years of research, *Curr. Aging Sci.*, **10**, 18-25, doi: 10.2174/1874609809666160926142640.
10. Schalkwijk, C. G., and Stehouwer, C. D. A. (2020) Methylglyoxal, a highly reactive dicarbonyl compound, in diabetes, its vascular complications, and other age-related diseases, *Physiol. Rev.*, **100**, 407-461, doi: 10.1152/physrev.00001.2019.

11. Spitteller, G. (2008) Peroxyl radicals are essential reagents in the oxidation steps of the maillard reaction leading to generation of advanced glycation end products, *Ann. NY Acad. Sci.*, **1126**, 128-133, doi: 10.1196/annals.1433.031.
12. Lankin, V. Z., Konovalova, G. G., Tikhaze, A. K., Shumaev, K. B., Kumskova, E. M., et al. (2014) The initiation of the free radical peroxidation of low-density lipoproteins by glucose and its metabolite methylglyoxal: a common molecular mechanism of vascular wall injuries in atherosclerosis and diabetes, *Mol. Cell. Biochem.*, **395**, 241-252, doi: 10.1007/s11010-014-2131-2.
13. Lankin, V. Z., Shadyro, O. I., Shumaev, K. B., Tikhaze, A. K., and Sladkova, A. A. (2019) Non-enzymatic methylglyoxal formation from glucose metabolites and generation of superoxide anion radical during methylglyoxal-dependent cross-links reaction, *J. Antioxidant Activity*, **1**, 33-45, doi: 10.14302/issn.2471-2140.jaa-19-2997.
14. Lankin, V. Z., Tikhaze, A. K., and Melkumyants, A. M. (2022) Dicarbonyl-dependent modification of LDL as a key factor of endothelial dysfunction and atherosclerotic vascular wall damage, *Antioxidants*, **11**, 1565, doi: 10.3390/antiox11081565.
15. Lankin, V. Z., Tikhaze, A. K., Kapel'ko, V.I., Shepel'kova, G. S., Shumaev, K. B., et al. (2007) Mechanisms of oxidative modification of low density lipoproteins under conditions of oxidative and carbonyl stress, *Biochemistry (Moscow)*, **72**, 1081-1090, doi: 10.1134/s0006297907100069.
16. Lankin, V. Z., Tikhaze, A. K., Konovalova, G. G., Kumskova, E. M., and Shumaev, K. B. (2010) Aldehyde-dependent modification of low density lipoproteins, in *Handbook of Lipoprotein Research*, NY., pp. 85-107.
17. Sun, Y., and Chen, X. (2011) Ox-LDL-induced LOX-1 expression in vascular smooth muscle cells: role of reactive oxygen species, *Fundam. Clin. Pharmacol.*, **25**, 572-579, doi: 10.1111/j.1472-8206.2010.00885.x.
18. Lankin, V. Z., Tikhaze, A. K., and Kumskova, E. M. (2012) Macrophages actively accumulate malonyl-dialdehyde-modified but not enzymatically oxidized low density lipoprotein, *Mol. Cell. Biochem.*, **365**, 93-98, doi: 10.1007/s11010-012-1247-5.
19. Bowry, V. W., Stanley, K. K., and Stocker, R. (1992) High density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in human blood plasma from fasting donors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 10316-10320, doi: 10.1073/pnas.89.21.10316.
20. Suzukawa, M., Ishikawa, T., Yoshida, H., and Nakamura, H. J. (1995) Effect of in-vivo supplementation with low-dose vitamin E on susceptibility of low-density lipoprotein and high-density lipoprotein to oxidative modification, *J. Am. Coll. Nutr.*, **14**, 46-52, doi: 10.1080/07315724.1995.10718472.
21. Garner, B., Witting, P. K., Waldeck, A. R., Christison, J. K., Raftery, M., et al. (1998) Oxidation of high density lipoproteins. I. Formation of methionine sulfoxide in apolipoproteins AI and AII is an early event that accompanies lipid peroxidation and can be enhanced by alpha-tocopherol, *J. Biol. Chem.*, **273**, 6080-6087, doi: 10.1074/jbc.273.11.6080.
22. Ohmura, H., Watanabe, Y., Hastumi, C., Sato, H., Daida, H., et al. (1999) Possible role of high susceptibility of high-density lipoprotein to lipid peroxidative modification and oxidized high-density lipoprotein in genesis of coronary artery spasm, *Atherosclerosis*, **142**, 179-184, doi: 10.1016/S0021-9150(98)00235-4.
23. Raveh, O., Pinchuk, I., Fainaru, M., and Lichtenberg, D. (2001) Kinetics of lipid peroxidation in mixtures of HDL and LDL, mutual effects, *Free Radic. Biol. Med.*, **31**, 1486-1497, doi: 10.1016/s0891-5849(01)00730-4.
24. Parthasarathy, S., Barnett, J., and Fong, L. G. (1990) High-density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein, *Biochim. Biophys. Acta*, **1044**, 275-283, doi: 10.1016/0005-2760(90)90314-n.
25. Raveh, O., Pinchuk, I., Schnitzer, E., Fainaru, M., Schaffer, Z., et al. (2000) Kinetic analysis of copper-induced peroxidation of HDL, autoaccelerated and tocopherol-mediated peroxidation, *Free Radic. Biol. Med.*, **29**, 131-146, doi: 10.1016/s0891-5849(00)00332-4.
26. Nourooz-Zadeh, J., Tajaddini-Sarmad, J., Ling, K. L., and Wolff, S. P. (1996) Low-density lipoprotein is the major carrier of lipid hydroperoxides in plasma. Relevance to determination of total plasma lipid hydroperoxide concentrations, *Biochem. J.*, **313** (Pt 3), 781-786, doi: 10.1042/bj3130781.
27. Lankin, V. Z., and Tikhaze, A. K. (2003) in *Free Radicals, Nitric Oxide, and Inflammation: Molecular, Biochemical, and Clinical Aspects* (Tomasi, A., Ozben, T., Skulachev, V. P., eds) IOS Press, NATO Science Series, Amsterdam, **344**, pp. 218-231.
28. Lindgren, F. T. (1975) in *Analysis of Lipids and Lipoproteins* (Perkins, E. G., ed) Champaign: Amer. Oil. Chemists Soc., pp. 204-224.
29. Mark, J., and Burkitt, A. (2001) Critical overview of the chemistry of copper-dependent low density lipoprotein oxidation: roles of lipid hydroperoxides, a-tocopherol, thiols, and ceruloplasmin, *Arch. Biochem. Biophys.*, **394**, 117-135, doi:10.1006/abbi.2001.2509.
30. Patel, R. P., and Darley-Usmar, V. (1999) Molecular mechanisms of the copper dependent oxidation of low-density lipoprotein, *Free Rad. Res.*, **30**, 1-9, doi: 10.1080/10715769900300011.
31. Shen, B.W., Scanu, A. M., and Kezdy, F. J. (1977) Structure of human serum lipoproteins inferred from compositional analysis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 837-841. doi: 10.1073/pnas.74.3.837.
32. Lankin, V. Z., Afanasieva, O. I., Konovalova, G. G., Utkina, E. A., Dmitrieva, O. A., et al. (2011)

- Modification of lipoprotein(a) by natural dicarbonyls induced their following free radical peroxidation, *Dokl. Biochem. Biophys.*, **441**, 287-289, doi: 10.1134/S1607672911060159.
33. Nagano, Y., Arai, H., and Kita, T. (1991) High density lipoprotein loses its effect to stimulate efflux of cholesterol from foam cells after oxidative modification, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 6457-6461, doi: 10.1073/pnas.88.15.6457.
  34. Salmon, S., Maziere, C., Auclair, M., Theron, L., Santus, R., et al. (1992) Malondialdehyde modification and copper-induced autooxidation of high-density lipoprotein decrease cholesterol efflux from human cultured fibroblasts, *Biochim. Biophys. Acta*, **1125**, 230-235, doi: 10.1016/0005-2760(92)90050-6.
  35. Gao, D., and Podrez, E. A. (2018) Characterization of covalent modifications of HDL apoproteins by endogenous oxidized phospholipids, *Free Radic. Biol. Med.*, **115**, 57-67, doi:10.1016/j.freeradbiomed.2017.11.012.
  36. Nestel, P. J. (1987) High-density lipoprotein turnover, *Am. Heart J.*, **113** (Pt. 2), 518-521, doi: 10.1016/0002-8703(87)90624-7.
  37. Aoki, T., Abe, T., Yamada, E., Matsuto, T., and Okada, M. (2012) LDL susceptibility to oxidation accelerates future carotid artery atherosclerosis, *Lipids Health Dis.*, **11**, 4, doi: 10.1186/1476-511X-11-4.

## COMPARATIVE OXIDIZABILITY OF DIFFERENT CLASSES OF BLOOD PLASMA LIPOPROTEINS

V. Z. Lankin\*, A. K. Tikhaze, and V. Ya. Kosach

*National Medical Research Center of Cardiology, Ministry of Health of the Russian Federation,  
121552 Moscow, Russia*

The kinetics of free radical peroxidation of different classes of blood plasma lipoproteins, nanoparticles of the lipid-transporting system of the body, was studied. It was found that Cu<sup>2+</sup>-initiated peroxidation of "atherogenic" low density lipoproteins (LDL) of human blood plasma *in vitro* is more than an order of magnitude higher than oxidation of "anti-atherogenic" high density lipoproteins (HDL). The initial content of acylhydroperoxy derivatives of phospholipids in the outer layer of LDL particles *in vivo* (per particle) also exceeds the content of these primary products of free radical peroxidation in HDL particles by more than an order of magnitude. The oxidizability of the HDL subfraction, HDL<sub>2</sub>, was higher than the oxidizability of total HDL and HDL<sub>3</sub>. The obtained data confirm the important role of free radical peroxidation of LDL in the molecular mechanisms of vascular wall damage under atherosclerosis.

*Keywords:* low density lipoproteins (LDL), high density lipoproteins (HDL), free radical peroxidation, acylhydroperoxy derivatives of phospholipids