

РАЗЛИЧИЯ В СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ И ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТАХ ЛИПОПРОТЕИДОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ ПРИ НАКОПЛЕНИИ В НИХ АЦИЛГИДРОПЕРОКСИ-ПРОИЗВОДНЫХ В НАРУЖНОМ ФОСФОЛИПИДНОМ МОНОСЛОЕ ИЛИ ПРИ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ АПОПРОТЕИНА В-100 ПРИРОДНЫМ ДИКАРБОНИЛОМ

© 2023 В.З. Ланкин*, А.К. Тихазе, Г.Г. Коновалова

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

Поступила в редакцию 04.08.2023

После доработки 20.09.2023

Принята к публикации 20.09.2023

Наночастицы липид-транспортирующей системы организма — липопротеиды низкой плотности (ЛНП) плазмы крови легко подвергаются свободнорадикальному окислению с образованием их основных модифицированных форм — собственно окисленные ЛНП (содержащие гидроперокси-ацилы в фосфолипидах наружного слоя частиц) и дикарбонил-модифицированные ЛНП (апопротеин В-100 которых подвергся химической модификации по реакции Майара). На основании исследования кинетики свободнорадикального окисления ЛНП установлено, что существующее в литературе обозначение «окисленные липопротеиды» некорректно, поскольку не раскрывает природы окислительной модификации ЛНП. Показано, что «атерогенными» ЛНП (частицы которых активно захватываются культивируемыми макрофагами) являются не истинно окисленные ЛНП (в которых липогидроперокси-производные фосфолипидов были образованы при ферментативном окислении С-15 липоксигеназой ретикулоцитов кролика), а дикарбонил-модифицированные ЛНП. Обсуждается важная роль дикарбонил-модифицированных ЛНП в молекулярных механизмах атерогенеза и дисфункции эндотелия.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: окисленные липопротеиды низкой плотности (ЛНП), дикарбонил-модифицированные ЛНП, свободнорадикальное окисление, «атерогенные» ЛНП, окислительный стресс, карбонильный стресс.

DOI: 10.31857/S0320972523110209, EDN: MNINOG

ВВЕДЕНИЕ

В литературе достаточно давно активно обсуждается важная роль окисленных липопротеидов в атерогенезе [1–9] и в диабетогенезе [7, 8]. Тем не менее для выяснения роли окисленных липопротеидов в важнейших патофизиологических процессах, таких как атеросклероз и сахарный диабет, следует определить, что собой представляют так называемые «окисленные липопротеиды». Это необходимо не

только для уточнения терминологии, но главным образом для установления связи между строением «окисленных липопротеидов» и их ролью в молекулярных механизмах атерогенеза и дисфункции эндотелия. Следует отметить, что термин «окисленные липопротеиды», прежде всего, применим к липопротеидам низкой плотности (ЛНП) [1–4, 8]. Наночастицы ЛНП осуществляют транспорт липидов, синтезируемых в печени, в периферические ткани. Нами установлено, что частицы именно ЛНП

Принятые сокращения: апоВ-100 — апопротеин В-100; ЛНП — липопротеиды низкой плотности; МДА — малоновый диальдегид; ПНЖК — полиненасыщенные жирные кислоты; LOX-1 — лектин-подобный рецептор-1 для окисленных ЛНП; С-15 LOX — С-15 липоксигеназа ретикулоцитов кролика; LOOH — липогидропероксиды; TBARS — продукты, реагирующие с 2-тиобарбитуровой кислотой.

* Адресат для корреспонденции.

наиболее подвержены свободнорадикальной липопероксидации [10]. Первоначальным субстратом окисления служат β -ацилы фосфолипидов наружного слоя частиц ЛНП [11], которые обычно представлены полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК). Более глубокое окисление, затрагивающее ненасыщенные липиды гидрофобного ядра ЛНП (триглицериды и эфиры холестерина), развивается позднее [12]. «Окисленным» ЛНП приписывается важная роль в первичном повреждении сосудов, поскольку, как полагают, эти частицы усиленно захватываются клетками стенки сосудов (макрофагами, плейоморфными гладкомышечными клетками и т.д.), которые превращаются в обогащенные липидами «пенистые клетки» [1–8, 9]. Скопления «пенистых клеток» образуют липидные кластеры (липидные пятна или зоны липоидоза), которые рассматриваются как первичные предатеросклеротические повреждения стенки сосудов [6–9]. Исходя из теории жидкофазного окисления углеводов [13], можно выделить две основные стадии свободнорадикального окисления ЛНП, связанные с образованием первичных и вторичных продуктов окисления. Введение полярных гидроперокси-групп (-ООН) в ПНЖК-ацилы фосфолипидов наружного слоя частиц ЛНП (образование первичных продуктов окисления — липогидропероксидов, LOOH) должно сопровождаться увеличением гидрофильности β -ацилов, вследствие чего они могут «выдвигаться» в водную фазу (рис. 1).

Это подтверждают наши эксперименты по окислению фосфолипидных липосом при катализе С-15 животной липоксигеназой [14]. Увеличение содержания ацилгидроперокси-производных в фосфолипидной мембране, как и следовало ожидать, приводит к значительно-

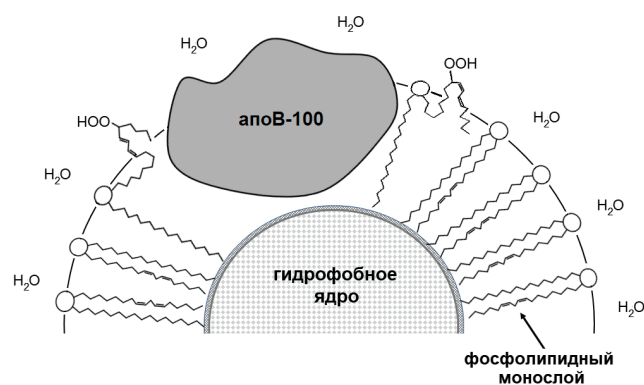


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая возможность физического изменения конформации апопротеина В-100 при образовании гидроперокси-производных ПНЖК-ацилов в фосфолипидном монослое частиц ЛНП

му увеличению ее микровязкости вследствие удаления из гидрофобного окружения полярных LOOH-содержащих β -ацилов, которые образуются при окислении ПНЖК (рис. 1) [14]. Увеличение микровязкости при этом объяснимо увеличением содержания в фосфолипидах ригидных насыщенных и мононенасыщенных ацилов (рис. 1). Следует отметить, что при NADPH-инициируемом окислении микросом печени крысы нами было обнаружено разнонаправленное изменение активности ряда мембраносвязанных ферментов [6–8], что, несомненно, является отражением изменения конформации мембранных белков в процессе свободнорадикального окисления. Аналогичный процесс в наружном фосфолипидном слое частиц ЛНП может приводить к физической модификации единственного белка этих частиц — апопротеина В-100 (апоВ-100), который встроен в фосфолипидный монослой. Очевидно, что изменение конформации апоВ-100 может влиять на его рецепторные свойства при взаимодействии со scavenger-рецептором клеток стенки сосудов и, таким образом, определять роль LOOH-содержащих ЛНП в атерогенезе.

Свободнорадикальное окисление ЛНП — многостадийный процесс, при котором накопление первичных продуктов окисления (рис. 2, реакция 1) — LOOH — неизбежно сопровождается образованием низкомолекулярных водорастворимых вторичных продуктов окисления липидов альдегидной природы (рис. 2, реакция 2), таких как 4-гидроксинон-аль и малоновый диальдегид (МДА) [6–8].

Известно, что МДА и другие дикарбонилы могут модифицировать белки по реакции Майяра (Maillard reaction) вследствие взаимодействия альдегидной группы дикарбониллов с концевыми аминогруппами белков (рис. 2, реакция 3), что приводит к образованию аддуктов с белками (поперечных сшивок типа

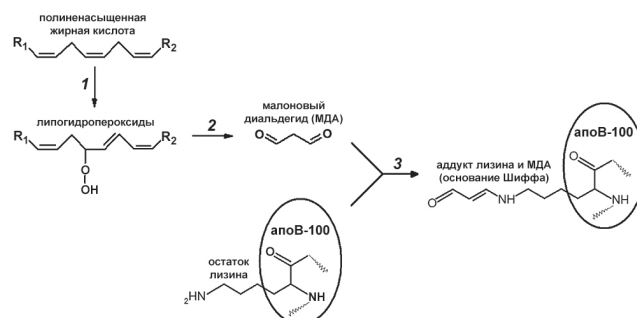


Рис. 2. Схема, иллюстрирующая образование первичных и вторичных продуктов свободнорадикальной липопероксидации ацилов ПНЖК в частицах ЛНП

шиффовых оснований) [9, 15]. Представляется вероятным, что именно такая химическая модификация апоВ-100 изменяет рецепторные свойства частиц ЛНП, делая их более атерогенными.

Таким образом, основной целью настоящей работы было исследование патофизиологических особенностей действия *окисленных частиц ЛНП* (содержащих первичные продукты окисления — гидроперокси-производные ПНЖК-ацилов фосфолипидного монослоя) и *МДА-модифицированных ЛНП* (частиц ЛНП, химически модифицированных вторичным продуктом липопероксидации МДА). Учитывая предполагаемую роль окислительно модифицированных ЛНП в атерогенезе, в работе представлены сравнительные данные экспериментального исследования «атерогенности» (по захвату частиц ЛНП культивируемыми макрофагами) ферментативно окисленных и МДА-модифицированных ЛНП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изолирование ЛНП при помощи препаративного ультрацентрифугирования. ЛНП выделяли из плазмы трех здоровых доноров, которую приобретали в ФГБУ «НМИЦ сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева». Кровь была взята натощак в присутствии 1 мг/мл ЭДТА в качестве антикоагулянта и антиоксиданта. ЛНП выделяли при помощи дифференциального ультрацентрифугирования в градиенте плотности NaBr [16] с использованием ротора Ti50 на препаративной ультрацентрифуге Optima XPN-80 («Beckman Coulter», США). Солевую суспензию ЛНП концентрировали при помощи Sephadex G-100 Superfine («GE Healthcare», США) и диализовали против 2000 объемов 10 mM K,Na-фосфатного буфера (pH 7,4) в течение 18 ч при 4 °C. Концентрацию белка в препаратах ЛНП определяли по методу Лоури, содержание апоВ-100 определяли на химическом анализаторе Architect C8000 («Abbot», США) при использовании реагентов той же фирмы.

Выделение и очистка С-15 липоксигеназы ретикулоцитов кролика, ферментативное окисление ЛНП и получение МДА-модифицированных ЛНП. Экспериментальная анемия кроликов с последующим ретикулоцитозом была вызвана ежедневным (в течение 4 дней) подкожным введением гемолитика фенолгидразина (6,25 мг/кг). С-15 липоксигеназа (С-15 LOX) была выделена из лизата обогащенной ретикулоцитами клеточной массы путем выса-

ливания $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (55%), как описано ранее [17], а затем последовательно очищена до получения гомогенного белка (по данным SDS-электрофореза) с помощью ионообменной хроматографии на DEAE-Sephadex A50 в линейном градиенте NaCl и препаративного изоэлектрического фокусирования [17]. Препарат С-15 LOX из ретикулоцитов кролика был очищен до гомогенного состояния в Институте биохимии Университета им. А. Гумбольдта (Берлин, Германия). Порции ЛНП (0,5 мг белка/мл) окисляли при катализе С-15 LOX при 37 °C в среде, содержащей 154 mM NaCl и 20 mM Tris-HCl (pH 7,4). Поскольку С-15 LOX подвергается самоинактивации продуктом реакции (LOOH) [17], фермент добавляли трижды, контролируя окисление ЛНП по накоплению конъюгированных диенов (LOOH) при 233 нм на спектрофотометре UV-2600 Shimadzu («Shimadzu», Япония). Для расчета концентрации LOOH использовали коэффициент молярной экстинкции $25\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$.

МДА-модифицированные ЛНП были получены путем обработки свежевыделенных ЛНП приготовленным *ex tempore* МДА, который был получен из 1,1,3,3-тетраэтоксипропана путем кислотного гидролиза [18]. Для этого ЛНП (100 мкг апоВ-100) инкубировали с 1 мкмоль МДА в темноте при 37 °C (pH 6,5) в течение 3 ч [18, 19]. Избыток МДА удаляли диализом против 2000 объемов PBS (pH 7,4) в течение 18 ч при 4 °C.

Исследование специфичности тест-набора «Oxidized LDL ELISA». В нашем исследовании мы использовали тест-набор «Oxidized LDL ELISA» фирмы «Mercodia», который ранее успешно использовали в клинических исследованиях [20]. Тест-набор «Mercodia», как известно, содержит моноклональные антитела mAb-4E6 к МДА-модифицированным ЛНП [20]. Образцы ЛНП, полученные от здоровых добровольцев, подвергали химической модификации различными дикарбонилами — МДА (полученным, как описано выше), а также глиоксалем и метилглиоксалем [21] (все реагенты фирмы «Sigma-Aldrich», США), после чего проводили количественное определение модифицированных ЛНП в диапазоне концентраций 0–80 нг апоВ-100 в соответствии с инструкцией «Mercodia». Измерение поглощения проводили при 450 нм и температуре 25 °C с помощью планшетного спектрофотометра BioTek EL808 («BioTek Instruments», США). Содержание модифицированных ЛНП в образцах рассчитывали по калибратору и выражали в единицах на литр. Эффективность

модификации аминокислотных остатков белков (включая апоВ-100) дикарбонилами при использованном нами методе проведения реакции Майара, по литературным данным, составляет не менее 80–90% [18, 22].

Исследование свободнорадикального Cu^{2+} -инициированного окисления ЛНП и кинетики накопления первичных и вторичных продуктов. После диализа пробы ЛНП разбавляли до 50 мкг белка/мл раствором, содержащим 154 мМ NaCl в 50 мМ K,Na-фосфатном буфере (pH 7,4), и окисление частиц инициировали при 37 °C введением в среду инкубации 30 мкМ CuSO_4 , после чего через фиксированные интервалы времени измеряли накопление LOOH при 233 нм (ΔD_{233}) на спектрофотометре UV-2600 Shimadzu [10, 23, 24]. Одновременно в параллельных пробах определяли содержание TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) в нашей модификации, уровень которых при окислении ЛНП *in vitro* отражает преимущественно концентрацию МДА [25]. ЛНП в образцах (1 мл) денатурировали добавлением равного объема 10%-ной трихлоруксусной кислоты, и через 15 мин осадок седиментировали при 2000 g в течение 30 мин в центрифуге Sigma 3-16RL (Япония). К 1 объему супернатанта в стеклянных контейнерах добавляли 2 объема 0,5%-ного водного раствора 2-тиобарбитуровой кислоты («Sigma-Aldrich»), содержащей 0,5% бутилированного гидрокситолуола (2,6-дитретбутил-4-метилфенол)ВНТ («Sigma-Aldrich») в качестве антиоксиданта для предотвращения дальнейших окислительных процессов. Контейнеры герметизировали заворачивающимися пластиковыми крышками и нагревали в кипящей водяной бане в течение 20 мин. После охлаждения до комнатной температуры измеряли поглощение окрашенного триметинового комплекса при 532 нм против образцов, содержащих неокисленные ЛНП (ΔD_{532}). Исследование кинетики медь-зависимого свободнорадикального окисления липопротеидов по образованию LOOH и TBARS *in vitro* проводили, используя частицы, изолированные из плазмы крови трех доноров (липопротеиды, выделенные из плазмы крови каждого донора, использовали в независимых экспериментах).

Исследование «атерогенности» окисленных и МДА-модифицированных ЛНП по тесту поглощения их культивируемыми макрофагами. ЛНП окисляли ферментативно при 37 °C путем трехкратного добавления по 1 ед./мл гомогенного препарата С-15 LOX в среду, содержащую 0,5 мг/мл белка ЛНП, 154 мМ NaCl и 20 мМ Tris-HCl (pH 7,4). Трехкратное добав-

ление свежих порций фермента обеспечивало эффективное окисление ЛНП, поскольку С-15 LOX подвергается инактивации накапливающимися в ходе ферментативной реакции LOOH [17]. Накопление LOOH оценивали по увеличению концентрации диеновых конъюгатов при 233 нм (ΔD_{233}) [10] на спектрофотометре UV-2600 Shimadzu.

Макрофаги были получены из крови здоровых людей в стерильных условиях. Моноцитарно-лимфоцитарную фракцию выделяли в градиенте 9% фиколла/50% хипака, разведенных в соотношении 1 : 2,4 («GE Healthcare») [26]. Клетки подсчитывали в гематометре («Weber Scientific», США) и помещали в пластиковые стерильные планшеты для тканевых культур («Nucolon», Дания) из расчета 5×10^5 клеток на лунку, после чего культивировали в среде 199, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки («Flow», Великобритания), 2 мМ L-глутамина, 100 ед./мл пенициллина, 100 ед./мл стрептомицина и 2,5 мкг/мл фунгизона (все реактивы – «GIBCO», США), в CO_2 -инкубаторе INNOVA («New Brunswick Scientific», США) в атмосфере 95% воздуха и 5% CO_2 при 37 °C в течение 14 дней со сменой инкубационной среды каждые 48 ч. После этого культуральную среду заменяли на свежую среду 199, содержащую 10% липопротеин-дефицитной сыворотки крови человека (получали методом ультрацентрифугирования при $d > 1,215$ г/мл [27]), 2 мМ L-глутамина, 100 ед./мл пенициллина, 100 ед./мл стрептомицина и 2,5 мкг/мл фунгизона, а затем добавляли исследуемые ЛНП. Через 7 ч инкубации в CO_2 -инкубаторе при 37 °C удаляли среду, содержащую ЛНП, и липиды из макрофагов трижды экстрагировали смесью гексан-изопропанол (3/2, v/v) [28]. Экстракт выпаривали под вакуумом и измеряли концентрацию общего холестерина с помощью тест-набора фирмы «Boehringer-Mannheim GmbH» (Германия) на химическом анализаторе Multiscan MCC («Labsystems Oy», Финляндия) при 492 нм.

Статистический анализ результатов исследования. Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью пакетов программного обеспечения STATISTICA 10 («Statsoft», США), MedCalc version 12.7.0.0 («MedCalc Software», Бельгия) и Microsoft Excel 2010, версия 14.0.7263.5000, представляя данные как среднее $\pm$ ошибка среднего. Поскольку анализ данных показал, что распределение признаков во всех случаях отличается от нормального, для статистического анализа применяли непараметрические методы ста-

тики. 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 ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 3 представлены результаты исследования специфичности тест-набора «Oxidized LDL ELISA» при определении различных дикарбонил-модифицированных ЛНП.

Поскольку было установлено, что данные определения нативных (неокисленных) ЛНП, глиоксаль-модифицированных ЛНП и метилглиоксаль-модифицированных ЛНП при всех исследованных концентрациях апоВ-100 достоверно не отличаются, полученные результаты были использованы для построения суммарной кривой (рис. 3, кривая 1). Данные определения МДА-модифицированных ЛНП представлены на рис. 3, кривая 2. При концентрации 80 нг/мл апоВ-100 уровень выявленных МДА-модифицированных ЛНП составлял 74,2%, а суммарный уровень нативных и других дикарбонил-модифицированных ЛНП составлял 25,8% (рис. 3, кривые 1 и 2). Таким образом, при помощи тест-набора фирмы «Mercodia» определяются преимущественно МДА-модифицированные ЛНП, что не удивительно, поскольку этот тест-набор содержит моноклональные антитела mAb-4E6 к МДА-

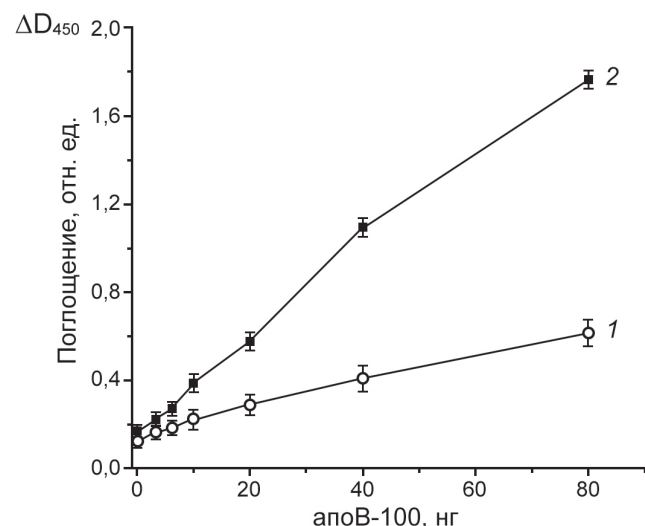


Рис. 3. Специфичность определения различных дикарбонил-модифицированных ЛНП с использованием тест-набора «Oxidized LDL ELISA»: кривая 1 — суммарные данные определения неокисленных (нативных) ЛНП, глиоксаль-модифицированных ЛНП и метилглиоксаль-модифицированных ЛНП; кривая 2 — данные определения МДА-модифицированных ЛНП

модифицированным ЛНП [20]. Реакция, выявляемая с нативными ЛНП, несомненно, отражает присутствие в исследуемых препаратах ЛНП некоторого количества образованных *in vivo* МДА-модифицированных ЛНП. Тот факт, что глиоксаль-модифицированные ЛНП и метилглиоксаль-модифицированные ЛНП дают такую же реакцию, как и нативные ЛНП, свидетельствует о том, что модификации ЛНП, вызываемые этими дикарбонилами, не влияют на определение МДА-модифицированных ЛНП тест-набором фирмы «Mercodia». Следовательно, дикарбонил-модифицированные ЛНП, отличные от МДА-модифицированных ЛНП, не являются антигенами для моноклональных антител mAb-4E6. Таким образом, тест-набор «Oxidized LDL ELISA» («Mercodia») может быть использован для определения МДА-модифицированных ЛНП *in vitro* и *in vivo*, поскольку модификации ЛНП другими дикарбонилами не мешают определению МДА-модифицированных ЛНП. Исходя из этого, мы неоднократно использовали тест-наборы фирмы «Mercodia» в наших клинических исследованиях для определения уровня МДА-модифицированных ЛНП в крови пациентов [29, 30].

Полученные данные позволили использовать тест-набор фирмы «Mercodia» для определения содержания МДА-модифицированных ЛНП в модельных экспериментах по Cu^{2+} -инициируемому свободнорадикальному окислению ЛНП. Результаты этих экспериментов представлены на рис. 4.

В соответствии со схемой свободнорадикального окисления ЛНП (рис. 2) после

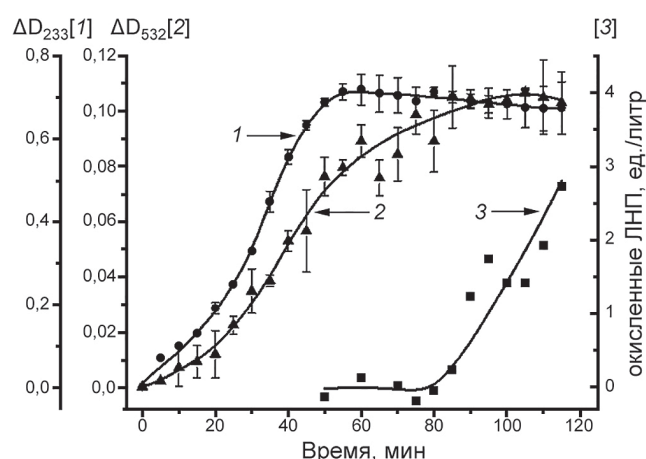


Рис. 4. Кинетика накопления первичных продуктов Cu^{2+} -инициированного свободнорадикального окисления ЛНП — липогидропероксидов, ΔD_{233} (кривая 1); вторичных продуктов окисления — МДА, ΔD_{532} (кривая 2) и определенных с помощью тест-набора фирмы «Mercodia», в соответствии с нашими данными (см. в тексте статьи), МДА-модифицированных ЛНП (кривая 3)

инициации окисления ионами Cu^{2+} начинают накапливаться первичные продукты (рис. 2, реакция 1) – LOOH-содержащие ЛНП (рис. 4, кривая 1), а затем, с некоторым опозданием (период индукции), – вторичные продукты (рис. 2, реакция 2), определяемые по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (TBARS), которые в модельной системе, в отличие от условий *in vivo*, представлены практически исключительно МДА (рис. 4, кривая 2) [25]. Для образования МДА-модифицированных ЛНП (рис. 2, реакция 3) в условиях эксперимента требуется более значительное время, что отражает кривая 3 на рис. 4. Таким образом, при Cu^{2+} -инициированном свободнорадикальном окислении ЛНП уже через 1 ч инкубации в системе должны присутствовать как LOOH-содержащие ЛНП (истинно окисленные ЛНП), так и МДА-модифицированные ЛНП в непредсказуемой пропорции (вследствие различий в липидном составе ЛНП и варьирования условий окисления). Рис. 4 наглядно демонстрирует различия в кинетике образования окисленных (LOOH-ЛНП) и МДА-модифицированных ЛНП, причем эти данные показывают, что определение «окисленные ЛНП» неприменимо к частицам ЛНП, подвергнутых многочасовому окислению в модельной системе. Очевидно, что в этих условиях можно получить не так называемые «окисленные ЛНП», а смесь истинно окисленных (LOOH-содержащих) ЛНП и МДА-модифицированных ЛНП (рис. 4). Тем не менее в подавляющем большинстве различных экспериментов используют именно такие «окисленные ЛНП», полученные при Cu^{2+} -инициированном свободнорадикальном окислении или спонтанном окислении частиц ЛНП в течение 3–24 ч [8, 9, 31–34], что не позволяет корректно интерпретировать получаемые результаты. В связи с этим нам представлялось крайне важным установить различия в патофизиологическом действии LOOH-содержащих ЛНП и МДА-модифицированных ЛНП.

Очевидно, что все способы инициации свободнорадикального окисления ЛНП (с использованием металлов переменной валентности, ферментных генераторов супероксидного радикала, пероксида водорода и органических гидропероксидов, азоинициаторов и т.д. [8]) приводят к одновременному образованию не только LOOH-содержащих ЛНП, но и МДА-модифицированных ЛНП (рис. 4). Мы использовали единственно возможный способ накопления исключительно LOOH в ЛНП (без примеси МДА-модифицированных ЛНП) при помощи ферментативного

окисления ЛНП, катализируемого С-15 LOX. Эта липоксигеназа животных (в отличие от растительной С-15 липоксигеназы соевых бобов) способна окислять не только свободные ПНЖК, но и полиеновые ацилы фосфолипидов биомембран и наружного фосфолипидного слоя частиц ЛНП [35]. В проведенных нами экспериментах использовали три вида ЛНП – нативные (неокисленные), LOOH-содержащие ЛНП (ферментативно окисленные при катализе С-15 LOX) и МДА-модифицированные ЛНП. Следует отметить, что нативные ЛНП содержали следовое количество LOOH (не более 0,2 нмоль на мг белка ЛНП), тогда как уровень LOOH в ферментативно окисленных ЛНП возрос почти до 48 нмоль на мг белка ЛНП. При этом уровень LOOH в МДА-модифицированных ЛНП практически не отличался от такового в неокисленных ЛНП. Все полученные модификации ЛНП инкубировали с культивируемыми макрофагами человека в течение 7 ч, после чего определяли захват частиц ЛНП клетками по накоплению холестерина. Результаты исследования представлены на рис. 5.

Как видно из представленных данных, эффективность захвата макрофагами ферментативно окисленных ЛНП (рис. 5, столбик 2) практически не отличалась от захвата макрофагами неокисленных (нативных) ЛНП (рис. 5, столбик 1). В то же время эффективность захвата макрофагами МДА-модифицированных ЛНП (рис. 5, столбик 3) возрастала более чем в 4 раза по сравнению с нативными

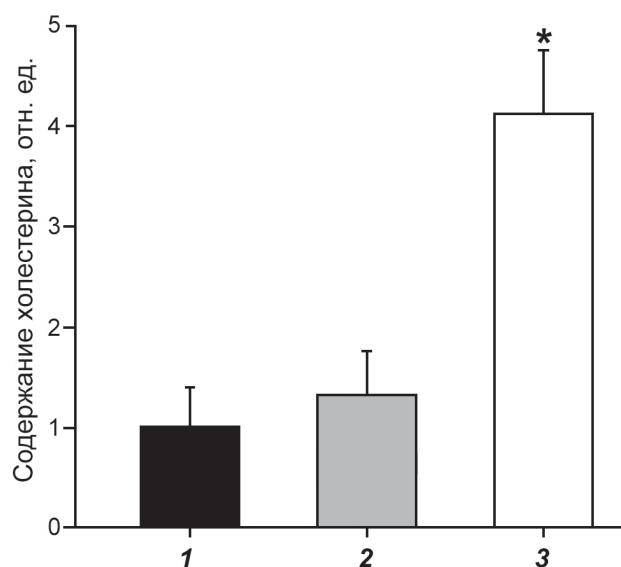


Рис. 5. Захват модифицированных частиц ЛНП культивируемыми макрофагами: 1 – нативные (неокисленные) ЛНП; 2 – LOOH-содержащие ЛНП (окисленные животной С-15 липоксигеназой); 3 – МДА-модифицированные ЛНП (* $p < 0,05$)

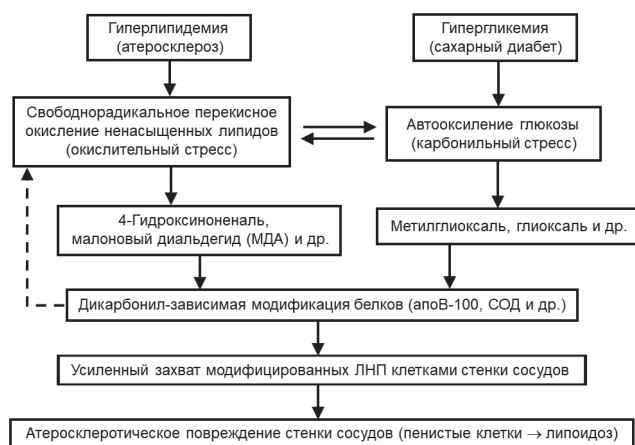


Рис. 6. Схема, иллюстрирующая роль дикарбонил-модифицированных ЛНП в молекулярных механизмах повреждения стенки сосудов при атеросклерозе и сахарном диабете (пояснения в тексте)

ЛНП (рис. 5, столбик 1). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что макрофаги преимущественно захватывают не окисленные (LOON-содержащие ЛНП), а МДА-модифицированные ЛНП (рис. 5). Можно полагать, что модификация ЛНП и другими природными дикарбонилами также будет способствовать захвату ЛНП макрофагами. Так, глиоксаль-модифицированные ЛНП весьма эффективно захватываются культивируемыми макрофагами [36, 37]. Исследование захвата ЛНП культивируемыми макрофагами позволяет выявить «атерогенные» фракции ЛНП, поскольку имитирует в модельных условиях процесс образования обогащенных липидами «пенистых клеток» на ранних стадиях атерогенеза (формирование липоидозных повреждений стенки сосудов) [6–8].

Исходя из того, что и дикарбонилы, накапливающиеся при окислительном стрессе (такие как МДА), и структурные аналоги МДА, образующиеся при карбонильном стрессе (такие как глиоксаль и метилглиоксаль), вызывают атерогенную модификацию ЛНП, нами были сформулированы представления о едином молекулярном механизме повреждения стенки сосудов при атеросклерозе и сахарном диабете [7, 8, 24]. Основные положения этой гипотезы представлены на рис. 6.

Приведенная схема (рис. 6) показывает, что образование как вторичных альдегидных продуктов липопероксидации при окислительном стрессе в процессе атерогенеза, так и генерирование низкомолекулярных дикарбонил-модифицированных ЛНП при ферментативном окислении триозофосфатов и автоокислении глюкозы при карбонильном стрессе в конечном итоге приводит к химической модификации различных

белков в кровяном русле, включая апопротеин В-100 частиц ЛНП и молекулы антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза (СОД), глутатионпероксидаза и др. [7, 38, 39]. Вследствие этого природные дикарбонилы являются мощными ингибиторами активности антиоксидантных ферментов, включая СОД, глутатионпероксидазу и пероксиредоксины [39–41]. В связи с этим неудивительно, что у больных атеросклерозом и сахарным диабетом отмечается значительное снижение активности антиоксидантных ферментов в клетках крови [6–8, 40]. Очевидно, что подавление активности антиоксидантных ферментов при накоплении дикарбонил-модифицированных ЛНП способствует усилению окислительного стресса (рис. 6, пунктирная линия). Окислительная модификация ЛНП индуцирует образование обогащенных липидами «пенистых клеток» [42], что способствует возникновению липидных кластеров (зон липоидозов) в стенке сосудов, которые считаются первичными предатеросклеротическими поражениями [1–3, 6–8] (рис. 6). Показательно, что электронегативная фракция ЛНП, содержание LOON в которой, как правило, не увеличено (sic!), также является эффективным индуктором образования «пенистых клеток» [43, 44]. Создается впечатление, что электронегативная фракция ЛНП может быть идентична дикарбонил-модифицированным ЛНП (рис. 5, столбик 3). Как бы то ни было, частицы ЛНП, образованные *in vivo* и не содержащие значительных количеств LOON [43, 44] (не являющиеся истинно окисленными, исходя из предлагаемой нами терминологии), проявляют «атерогенность», сопоставимую с МДА-модифицированными ЛНП (сравни рис. 5 и данные работ Yu et al. [43] и Estruch et al. [44]). К вышесказанному важно добавить, что признанием ведущей роли дикарбонил-модифицированных ЛНП в атерогенезе [6–8] можно логично объяснить существующую тесную связь атеросклероза с сахарным диабетом. Действительно, такие широко известные факты, как увеличение риска возникновения атеросклероза и быстрое прогрессирование атеросклероза при наличии диабета, легко объяснимы существованием единого молекулярного механизма повреждения стенки сосудов дикарбонил-модифицированными ЛНП, накапливающимися при окислительном или карбонильном стрессе (см. выше).

Лектин-подобный рецептор-1 для окисленных ЛНП (LOX-1) способствует развитию эндотелиальной дисфункции, вызывая проатерогенную сигнализацию и формирование

атероматозных бляшек путем поглощения эндотелием окисленных и электроотрицательных ЛНП [45–48]. Это приводит к инициации, прогрессированию и дестабилизации атеросклеротических бляшек, что в конечном итоге провоцирует развитие инфаркта миокарда и некоторых форм инсульта [45–48]. Scavenger-рецептор LOX-1 является одним из наиболее важных рецепторов для окисленных ЛНП, активация которого вызывает увеличение активности NADPH-оксидазы и генерирования активных форм кислорода (АФК), что активирует сигнальные пути, приводящие к экспрессии провоспалительных цитокинов и прогрессированию атеросклероза [49]. Ранее было показано, что «окисленные» ЛНП вызывают интенсивное генерирование супероксидного анион-радикала в культуре эндотелиоцитов [31], что, несомненно, вызвано последовательной индукцией LOX-1 и NADPH-оксидазы. Согласно полученным нами предварительным данным, не «окисленные», а дикарбонил-модифицированные ЛНП вызывают экспрессию LOX-1 и NADPH-оксидазы в культивируемых эндотелиоцитах пупочной вены человека [50], причем МДА-модифицированные ЛНП обладают намного большим эффектом, чем глиоксаль- и метилглиоксаль-модифицированные ЛНП [50]. Таким образом, нами получено еще одно убедительное доказательство того, что биологические эффекты при свободнорадикальном окислении ЛНП вызваны не накоплением LOOH, а образованием дикарбонил-модифицированных ЛНП. Следует отметить, что предлагаемый нами подход позволяет установить отличия в действии отдельных дикарбониллов [21, 37], что представляется немаловажным для выяснения молекулярных механизмов атерогенеза и дисфункции эндотелия. Кроме того, полученные нами данные ориентируют исследователей на разработку принципиально новых медикаментозных средств для фармакотерапии атеросклеротических повреждений стенки сосудов, направленных на детоксикацию и утилизацию накапливающихся при окислительном и карбонильном стрессе природных дикарбониллов. В частности, перспективным представляется синтез и проверка фармакологической активности соединений, способных быть эффективными scavenger'ами дикарбониллов, таких как соединения из класса производных гидропина [51, 52]. Следовательно, употребление термина «окисленные ЛНП» является некорректным, причем при использовании в экспериментах частиц ЛНП, подвергнутых свободнорадикальному окислению, необходимо

указывать, с какими именно — LOOH-содержащими ЛНП, МДА-модифицированными ЛНП или их смесью не установленного состава — проводили данное исследование. Без сообщения этих сведений интерпретация результатов представляется затруднительной; более того, как следует из приведенных в нашей работе данных о мощных эффектах дикарбонил-модифицированных ЛНП, большая часть результатов, полученных с применением так называемых «окисленных ЛНП», может быть объяснена присутствием в используемых препаратах ЛНП частиц с карбонильной модификацией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Липопротеиды низкой плотности плазмы крови представляют собой надмолекулярные липид-белковые комплексы (наночастицы) липид-транспортной системы организма. Они легко подвергаются свободнорадикальному окислению с образованием модифицированных форм, из которых важнейшими являются: истинно окисленные ЛНП (содержащие гидроперокси-ацилы в фосфолипидах наружного слоя частиц) и дикарбонил-модифицированные ЛНП (апопротеин В-100 которых подвергся химической модификации по реакции Майара). Изучение кинетики Cu^{2+} -инициированного свободнорадикального окисления ЛНП свидетельствует о том, что существующее в литературе обозначение «окисленные ЛНП» некорректно, поскольку не раскрывает природы окислительной модификации ЛНП. Показано, что «атерогенными» ЛНП (частицы которых активно захватываются макрофагами) являются не собственно окисленные ЛНП (содержащие LOOH-производные фосфолипидов), а ЛНП с химически модифицированным апоВ-100, образующиеся при взаимодействии концевых NH_2 -групп белка с альдегидными группами (реакция Майара) природных дикарбониллов (МДА-модифицированные ЛНП и др.). Высказана гипотеза о важной роли дикарбонил-модифицированных ЛНП в молекулярных механизмах атерогенеза и дисфункции эндотелия, на основании которой предлагаются новые подходы к разработке фармакотерапии атеросклероза и сахарного диабета.

Вклад авторов. Ланкин В.З. — руководство работой, написание статьи, обсуждение результатов; Тихазе А.К. — написание и редактирование статьи; Коновалова Г.Г. — проведение экспериментов, техническая подготовка статьи.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00013).

Благодарности. Авторы признательны К.Б. Шумаеву за помощь в изготовлении рисунков.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит результатов выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Steinbrecher, U. P., Parthasarathy, S., Leake, D. S., Witztum, J. L., and Steinberg, D. (1984) Modification of low density lipoprotein by cells involves lipid peroxidation and degradation low density lipoprotein phospholipids, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 3883-3887, doi: 10.1073/pnas.81.12.3883.
2. Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T. E., Khoo, J. C., and Witztum, J. L. (1989) Beyond cholesterol. Modification of low density lipoprotein that increase its atherogenicity, *New Engl. J. Med.*, **320**, 915-924, doi: 10.1056/NEJM198904063201407.
3. Kita, T., Ishii, K., Yokode, M., Kume, N., Nagano, Y., Arai, H., and Kawai, C. (1990) The role of oxidized low density lipoprotein in the pathogenesis of atherosclerosis, *Eur. Heart J.*, **11**, 122-127, doi: 10.1093/eurheartj/11.suppl_e.122.
4. Witztum, J. L., and Steinberg, D. (1991) Role of oxidized low-density lipoprotein in atherogenesis, *J. Clin. Invest.*, **88**, 1785-1792, doi: 10.1172/JCI115499.
5. Yla-Herttuala, S. (1994) Role of lipid and lipoprotein oxidation in the pathogenesis of atherosclerosis, *Drugs Today*, **30**, 507-514.
6. Lankin, V. Z., and Tikhaze, A. K. (2003) Atherosclerosis as a free radical pathology and antioxidative therapy of this disease, in: *Free radicals, NO and Inflammation*, IOS Press, Amsterdam, **344**, pp. 218-231.
7. 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.
8. 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.
9. Lankin, V. Z., Tikhaze, A. K., and Melkumyants, A. M. (2023) Malondialdehyde as an important key factor of molecular mechanisms of vascular wall damage under heart diseases development, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 128, doi: 10.3390/ijms24010128.
10. Lankin, V. Z., Tikhaze, A. K., and Kosach, V. Ya. (2022) Comparative susceptibility to oxidation of different classes of blood plasma lipoproteins, *Biochemistry (Moscow)*, **87**, 1335-1341, doi: 10.1134/S0006297922110128.
11. Milne, G. L., Seal, J. R., Havrilla, C. M., Wijtmans, M., and Porter, N. A. (2005) Identification and analysis of products formed from phospholipids in the free radical oxidation of human low density lipoproteins, *J. Lipid Res.*, **46**, 307-319, doi: 10.1194/jlr.M400311-JLR200.
12. Noguchi, N., Numano, R., Kaneda, H., and Niki, E. (1998) Oxidation of lipids in low density lipoprotein particles, *Free Radic. Res.*, **29**, 43-52, doi: 10.1080/10715769800300061.
13. Эмануэль Н. М., Денисов Е. Т., Майзус З. К. (1965) *Ценные реакции окисления углеводов в жидкой фазе*, Наука, Москва, с. 375.
14. Lankin, V. Z., Tikhaze, A. K., and Osis, Yu. G. (2002) Modeling the cascade of enzymatic reactions in liposomes including successive free radical peroxidation, reduction, and hydrolysis of phospholipid polyenoic acyls for studying the effect of these processes on the structuraldynamic parameters of the membranes, *Biochemistry (Moscow)*, **67**, 566-574, doi: 10.1023/a:1015502429453.
15. Estévez, M., Padilla, P., Carvalho, L., Martín, L., Carrapiso, A., and Delgado, J. (2019) Malondialdehyde interferes with the formation and detection of primary carbonyls in oxidized proteins, *Redox Biol.*, **26**, 101277, doi: 10.1016/j.redox.2019.101277.
16. Tertov, V. V., Kaplun, V. V., Dvoryantsev, S. N., and Orekhov, A. N. (1995) Apolipoprotein B-bound lipids as a marker for evaluation of low density lipoprotein oxidation *in vivo*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **214**, 608-613, doi: 10.1006/bbrc.1995.2329.
17. Schewe, T., Wiesner, R., and Rapoport, S. M. (1981) Lipoxygenase from rabbit reticulocytes, *Methods Enzymol.*, **71**, 430-441, doi: 10.1016/0076-6879(81)71054-1.
18. Requena, J. R., Fu, M. X., Ahmed, M. U., Jenkins, A. J., Lyons, T. J., Baynes, J. W., and Thorpe, S. R. (1997) Quantification of malondialdehyde and 4-hydroxynonenal adducts to lysine residues in native and oxidized human low-density lipoprotein, *Biochem. J.*, **322**, 317-325, doi: 10.1042/bj3220317.
19. Fogelman, A. M., Shechter, I., Seager, J., Hokom, M., Child, J. S., and Edwards, P. A. (1980) Malondialdehyde alteration of low density lipoproteins leads to cholesteryl ester accumulation in human monocyte-macrophages, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 2214-2218, doi: 10.1073/pnas.77.4.2214.

20. Sigurdardottir, V., Fagerberg, B., and Hulthe, J. (2002) Circulating oxidized low-density lipoprotein (LDL) is associated with risk factors of the metabolic syndrome and LDL size in clinically healthy 58 year old men (AIR Study), *J. Int. Med.*, **252**, 440-447, doi: 10.1046/j.1365-2796.2002.01054.x.
21. Lankin, V. Z., Konovalova, G. G., Domogatsky, S. P., Tikhaze, A. K., Klots, I. N., and Ezhov, M. V. (2023) Clearance and utilization of dicarbonyl-modified LDL in monkeys and humans, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 10471, doi: 10.3390/ijms241310471.
22. Schalkwijk, C. G., Vermeer, M. A., Stehouwer, C. D., te Koppele, J., Princen, H. M., and van Hinsbergh, V. W. (1998) Effect of methylglyoxal on the physicochemical and biological properties of low-density lipoprotein, *Biochim. Biophys. Acta*, **1394**, 187-198, doi: 10.1016/s0005-2760(98)00112-x.
23. Patel, R. P., and Darley-Usmar, V. (1999) Molecular mechanisms of the copper dependent oxidation of low-density lipoprotein, *Free Radic. Res.*, **30**, 1-9, doi: 10.1080/10715769900300011.
24. Lankin, V. Z., Konovalova, G. G., Tikhaze, A. K., Shumaev, K. B., Kumskova, E. M., and Viigimaa, M. (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.
25. Caldiroli, A., Auxilia, A. M., Capuzzi, E., Clerici, M., and Buoli, M. (2020) Malondialdehyde and bipolar disorder: A short comprehensive review of available literature, *J. Affect Disord.*, **274**, 31-37, doi: 10.1016/j.jad.2020.05.001.
26. Bilenko, M. V., Khil'chenko, A. V., Konovalova, G. G., and Lankin, V. Z. (2003) Effect of antioxidant probucol on cell-mediated LDL oxidation *in vitro* and *in vivo*, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **136**, 126-128, doi: 10.1023/a:1026398319379.
27. Tertov, V. V., Sobenin, I. A., Gabbasov, Z. A., Popov, E. G., Jaakkola, O., Solakivi, T., Nikkari, T., Smirnov, V. N., and Orekhov, A. N. (1992) Multiple-modified desialylated low density lipoproteins that cause intracellular lipid accumulation. Isolation, fractionation and characterization, *Lab. Invest.*, **67**, 665-675.
28. Hara, A., and Radin, N. S. (1978) Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent, *Anal. Biochem.*, **90**, 420-426, doi: 10.1016/0003-2697(78)90046-5.
29. Lankin, V., Viigimaa, M., Tikhaze, A., Kumskova, E., Konovalova, G., Abina, J., Zemtsovskaya, G., Kotkina, T., Yanushevskaya, E., and Vlasik, T. (2011) Cholesterol-rich low density lipoproteins are also more oxidized, *Mol. Cell. Biochem.*, **355**, 187-191, doi: 10.1007/s11010-011-0853-y.
30. Viigimaa, M., Abina, J., Zemtsovskaya, G., Tikhaze, A., Konovalova, G., Kumskova, E., and Lankin, V. (2010) Malondialdehyde – modified low-density lipoproteins as biomarker for atherosclerosis, *Blood Press*, **19**, 164-168, doi: 10.3109/08037051.2010.484158.
31. Galle, J., Schneider, R., Heinloth, A., Wanner, C., Galle, P. R., Conzelmann, E., Dimmeler, S., and Heermeier, K. (1999) Lp(a) and LDL induce apoptosis in human endothelial cells and in rabbit aorta: role of oxidative stress, *Kidney Int.*, **55**, 1450-1461, doi: 10.1046/j.1523-1755.1999.00351.x.
32. Zhao, R., Ma, X., Xie, X., and Shen, G. X. (2009) Involvement of NADPH oxidase in oxidized LDL-induced upregulation of heat shock factor-1 and plasminogen activator inhibitor-1 in vascular endothelial cells, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **297**, E104-E111, doi: 10.1152/ajpendo.91023.2008.
33. Furman, C., Martin-Nizard, F., Fruchart, J. C., Duriez, P., and Teissier, E. (1999) Differential toxicities of air (mO-LDL) or copper-oxidized LDLs (Cu-LDL) toward endothelial cells, *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, **13**, 316-323, doi: 10.1002/(sici)1099-0461(1999)13:6<316::aid-jbt5>3.0.co;2-o.
34. Sangle, G. V., Zhao, R., and Shen, G. X. (2008) Transmembrane signaling pathway mediates oxidized low-density lipoprotein-induced expression of plasminogen activator inhibitor-1 in vascular endothelial cells, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **295**, E1243-E1254, doi: 10.1152/ajpendo.90415.2008.
35. Lankin, V. Z., Antonovsky, V. L., and Tikhaze, A. K. (2004) Regulation of free radical lipoperoxidation and organic peroxides metabolism during normal station and pathologies, in *Peroxides at the Beginning of the Third Millennium: Synthesis, Properties, Application*, Nova Science Publishers, Inc., NY, pp. 85-111.
36. Lankin, V. Z., Tikhaze, A. K., Kapel'ko, V. I., Shepel'kova, G. S., Shumaev, K. B., Panasenko, O. M., Konovalova, G. G., and Belenkov, Y. N. (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.
37. 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*, Nova Science Publishers, Inc., NY, pp. 85-107.
38. Lankin, V. Z., Shumaev, K. B., Tikhaze, A. K., and Kurganov, B. I. (2017) Influence of dicarbonyls on kinetic characteristics of glutathione peroxidase, *Dokl. Biochem. Biophys.*, **475**, 287-290, doi: 10.1134/S1607672917040123.
39. Sharapov, M. G., Gudkov, S. V., Lankin, V. Z., and Novoselov, V. I. (2021) Role of glutathione peroxidases and peroxiredoxins in free radical-induced pathologies, *Biochemistry (Moscow)*, **86**, 1418-1433, doi: 10.1134/S0006297921110067.
40. Lankin, V. Z., Konovalova, G. G., Tikhaze, A. K., Shumaev, K. B., Belova (Kumskova), E. M., Grech-

- nikova, M. A., and Viigimaa, M. (2016) Aldehyde inhibition of antioxidant enzymes in the blood of diabetic patients, *J. Diabetes*, **8**, 398-404, doi: 10.1111/1753-0407.12309.
41. Lankin, V. Z., Sharapov, M. G., Goncharov, R. G., Tikhaze, A. K., and Novoselov, V. I. (2019) Natural dicarbonyls inhibit peroxidase activity of peroxiredoxins, *Dokl. Biochem. Biophys.*, **485**, 132-134, doi: 10.1134/S1607672919020157.
 42. Yu, X. H., Fu, Y. C., Zhang, D. W., Yin, K., and Tang, C. K. (2013) Foam cells in atherosclerosis, *Clin. Chim. Acta*, **424**, 245-252, doi: 10.1016/j.cca.2013.06.006.
 43. Estruch, M., Sanchez-Quesada, J. L., Ordóñez Llanos, J., and Benítez, S. (2013) Electronegative LDL: a circulating modified LDL with a role in inflammation, *Mediat. Inflamm.*, **2013**, 181324, doi: 10.1155/2013/181324.
 44. Puig, N., Montolio, L., Camps-Renom, P., Navarra, L., Jiménez-Altaf, F., Jiménez-Charrié, E., Sánchez-Quesada, J. L., and Benítez, S. (2020) Electronegative LDL promotes inflammation and triglyceride accumulation in macrophages, *Cells*, **9**, 583, doi: 10.3390/cells9030583.
 45. Pirillo, A., Norata, G. D., and Catapano, A. L. (2013) LOX-1, OxLDL, and atherosclerosis, *Mediat. Inflamm.*, **2013**, 152786, doi: 10.1155/2013/152786.
 46. Lubrano, V., and Balzan, S. (2014) LOX-1 and ROS, inseparable factors in the process of endothelial damage, *Free Radic. Res.*, **48**, 841-848, doi: 10.3109/10715762.2014.929122.
 47. Kattoor, A. J., Kanuri, S. H., and Mehta, J. L. (2019) Role of Ox-LDL and LOX-1 in atherogenesis, *Curr. Med. Chem.*, **26**, 1693-1700, doi: 10.2174/0929867325666180508100950.
 48. Akhmedov, A., Sawamura, T., Chen, C. H., Kraler, S., Vdovenko, D., and Lüscher, T. F. (2021) Lectin – like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1): a crucial driver of atherosclerotic cardiovascular disease, *Eur. Heart J.*, **42**, 1797-1807, doi: 10.1093/eurheartj/ehaa770.
 49. Duprat, F., Robles, C., Castillo, M. P., Rivas, Y., Mondaca, M., Jara, N., Roa, F., Bertinat, R., Toledo, J., Paz, C., and González-Chavarría, I. (2023) LOX-1 activation by oxLDL induces AR and AR-V7 expression via NF-κB and STAT3 signaling pathways reducing enzalutamide cytotoxic effects, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 5082, doi: 10.3390/ijms24065082.
 50. Ланкин В. З., Шарапов М. Г., Гончаров Р. Г., Антонова О. А., Коновалова Г. Г., Тихазе А. К., Косач В. Я. (2023) Молекулярные механизмы повреждения стенки сосудов и дисфункции эндотелия. Обоснование новых подходов к антиоксидантной терапии. Тезисы конф. «Кардиология на марше», *Кардиологический вестник (спец. выпуск)*, 16-17.
 51. Galvani, S., Coatrieux, C., Elbaz, M., Grazide, M. H., Thiers, J. C., Parini, A., Uchida, K., Kamar, N., Rostaing, L., Baltas, M., Salvayre, R., and Nègre-Salvayre, A. (2008) Carbonyl scavenger and anti-atherogenic effects of hydrazine derivatives, *Free. Radic. Biol. Med.*, **45**, 1457-1467, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.08.026.
 52. Belkheiri, N., Bouguerne, B., Bedos-Belval, F., Duran, H., Bernis, C., Salvayre, R., Nègre-Salvayre, A., and Baltas, M. (2010) Synthesis and antioxidant activity evaluation of a syringic hydrazones family, *Eur. J. Med. Chem.*, **45**, 3019-3026, doi: 10.1016/j.ejmech.2010.03.031.

DIFFERENCES IN STRUCTURAL CHANGES AND PATHOPHYSIOLOGIC EFFECTS OF LOW-DENSITY LIPOPROTEINS UPON ACCUMULATION OF ACYLHYDROPEROXY DERIVATIVES IN THEIR OUTER PHOSPHOLIPID MONOLAYER OR UPON CHEMICAL MODIFICATION OF APOPROTEIN B-100 BY NATURAL DICARBONYL

V. Z. Lankin*, A. K. Tikhaze, and G. G. Kononova

*National Medical Research Center of Cardiology
named after Academician E. I. Chazov, Ministry of Health of Russia,
121552 Moscow, Russia; e-mail: lankin0309@mail.ru*

Nanoparticles of the lipid-transporting system of the organism - low-density lipoproteins (LDL) of blood plasma are easily subjected to free radical peroxidation with formation of their main modified forms – oxidized LDL itself (containing hydroperoxy-acyls in phospholipids of the outer layer of particles) and dicarbonyl-modified LDL (apoprotein B-100 of which was chemically modified by the Maillard reaction). Based on the study of free radical oxidation kinetics of LDL, it was found that the existing in the literature

designation “oxidized lipoproteins” is incorrect because it does not reveal the nature of oxidative modification of LDL. It is shown that “atherogenic” LDL (particles of which are actively captured by cultured macrophages) are not the oxidized LDL (in which LOOH-derivatives of phospholipids are formed by enzymatic oxidation of of C-15 lipoygenase of rabbit reticulocytes), but dicarbonyl-modified LDL. The important role of dicarbonyl-modified LDL in the molecular mechanisms of atherogenesis and endothelial dysfunction is discussed.

Keywords: oxidized low-density lipoproteins (LDL), dicarbonyl-modified LDL, free radical oxidation, “atherogenic” LDL, oxidative stress, carbonyl stress