

# АНТИТЕЛА К ЛИПОПРОТЕИНАМ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ, МОДИФИЦИРОВАННЫМ МАЛОНОВЫМ ДИАЛЬДЕГИДОМ: СОДЕРЖАНИЕ В КРОВИ И РОЛЬ В АТЕРОГЕНЕЗЕ

Иванова А.А., Дмитриева А.А., Денисенко А.Д.

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** В настоящей работе было определено содержание антител к липопротеинам низкой плотности, модифицированным малоновым диальдегидом, концентрация холестерина циркулирующих иммунных комплексов и количество перекисно-модифицированных липопротеинов низкой плотности в крови здоровых лиц и пациентов с различными проявлениями атеросклероза. Кроме того, изучалось влияние антител к липопротеинам низкой плотности, модифицированным малоновым диальдегидом на взаимодействие таких липопротеинов с макрофагами. Всего обследовано 253 человека: здоровые лица (59 человек), пациенты с доклиническим атеросклерозом (25 человек) и пациенты с ишемической болезнью сердца (169 человек). Установлено, что у пациентов с ишемической болезнью сердца по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с доклиническим атеросклерозом повышена концентрация холестерина циркулирующих иммунных комплексов в крови, тогда как содержание окисленных липопротеинов низкой плотности не различалось между группами обследованных. При этом у пациентов с атеросклерозом выявлена положительная корреляция между уровнями в крови окисленных липопротеинов низкой плотности и холестерина циркулирующих иммунных комплексов. Содержание в крови антител класса IgG к липопротеинам низкой плотности, модифицированным малоновым диальдегидом, достоверно снижено у больных с ишемической болезнью сердца по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с доклиническим атеросклерозом, тогда как концентрация таких антител класса IgM практически не изменялось у пациентов с атеросклерозом, независимо от его тяжести. Было показано, что специфичные антитела к липопротеинам низкой плотности, модифицированным малоновым диальдегидом, значительно снижали цитотоксичность таких ЛПНП, а также их способность вызывать накопление эфиров холестерина в макрофагах, полученных из мононуклеаров периферической крови человека. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что антилипидные антитела могут оказывать защитное действие, предупреждая гибель клеток и снижая накопление эфиров холестерина в макрофагах при их взаимодействии с модифицированными липопротеинами низкой плотности, т. е. предупреждать формирование пенных клеток.

**Ключевые слова:** воспаление, атеросклероз, циркулирующие иммунные комплексы, модифицированные липопротеины низкой плотности, антитела к модифицированным липопротеинам низкой плотности, апоптоз макрофагов

## Адрес для переписки:

Иванова Анна Андреевна  
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»  
197022, Россия, Санкт-Петербург,  
ул. Академика Павлова, 12.  
Тел.: 8 (812) 234-93-41.  
E-mail: anna.ivatcova@gmail.com

## Address for correspondence:

Anna A. Ivanova  
Institute of Experimental Medicine  
12 Acad. Pavlov St  
St. Petersburg  
197022 Russian Federation  
Phone: +7 (812) 234-93-41.  
E-mail: anna.ivatcova@gmail.com

## Образец цитирования:

А.А. Иванова, А.А. Дмитриева, А.Д. Денисенко  
«Антитела к липопротеинам низкой плотности,  
модифицированным малоновым диальдегидом:  
содержание в крови и роль в атерогенезе»  
// Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 1.  
С. 131-142. doi: 10.15789/1563-0625-ATL-2955

© Иванова А.А. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

A.A. Ivanova, A.A. Dmitrieva, A.D. Denisenko  
“Antibodies to low-density lipoproteins modified by malonic dialdehyde:  
contents in blood and role in atherogenesis”, *Medical  
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2025,  
Vol. 27, no. 1, pp. 131-142.  
doi: 10.15789/1563-0625-ATL-2955

© Ivanova A.A. et al., 2025

The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-ATL-2955

# ANTIBODIES TO LOW-DENSITY LIPOPROTEINS MODIFIED BY MALONIC DIALDEHYDE: CONTENTS IN BLOOD AND ROLE IN ATHEROGENESIS

Ivanova A.A., Dmitrieva A.A., Denisenko A.D.

*Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation*

**Abstract.** In this work, we determined the content of antibodies to low-density lipoproteins modified by malondialdehyde, the concentration of circulating immune complexes (CIC) cholesterol and oxidized low-density lipoproteins (LDL) in blood of healthy individuals and patients with various manifestations of atherosclerosis. Moreover, we studied the effect of antibodies to LDL modified with malondialdehyde upon interaction of such lipoproteins with macrophages. 253 persons were examined: healthy individuals (59 people), patients with preclinical atherosclerosis (25 people) and patients with coronary artery disease (169 people). It was found that the concentration of CIC cholesterol in plasma was increased in patients with coronary artery disease compared with healthy individuals and patients with preclinical atherosclerosis, whereas oxidized low-density lipoproteins content did not differ between the groups of patients. At the same time, a positive correlation between oxidized LDL plasma concentrations and contents of CIC cholesterol was found in patients with atherosclerosis. The plasma level of IgG antibodies to malondialdehyde-modified lipoproteins was significantly reduced in patients with coronary artery disease compared with healthy people and patients with preclinical atherosclerosis, whereas the levels of IgM antibodies to malondialdehyde-modified LDL practically did not change in patients with atherosclerosis, independent on the disease severity. It was shown that specific antibodies to the malon dialdehyde-modified LDL caused vast reduction of their cytotoxicity and ability to induce accumulation of cholesterol esters in macrophages derived from human peripheral blood mononuclear cells. Thus, the data obtained suggest that anti-lipoprotein antibodies may have a protective effect by preventing cell death and reducing accumulation of cholesterol esters in macrophages when they interact with modified low-density lipoproteins, i.e., by preventing formation of the foam cells.

*Keywords: inflammation, atherosclerosis, circulating immune complexes, low-density lipoproteins, modified, antibodies, macrophage apoptosis*

Работа выполнена по госзаданию (шифр № FGWG-2022-0003).

## Введение

Воспаление, развивающееся в ответ на накопление в интиме модифицированных липопротеинов низкой плотности (мЛПНП), является ведущим патогенетическим фактором атеросклероза. Индукция иммунного ответа на мЛПНП, вследствие захвата мЛПНП макрофагами или дендритными клетками с презентацией антигенов *in situ* ведет к формированию асептического воспалительного очага в интиме артерии с привлечением разнообразных иммунокомпетентных клеток, т. е. атеросклеротического поражения. Модификация липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) может происходить не только в интиме артерий, но и в других тканях, в том числе и в крови. Иммунный ответ на мЛПНП приводит к появлению циркулирующих антител (АТ) к ним и формированию циркулирующих иммунных комплексов липопротеин-антитело. Однако

физиологическая и/или патогенетическая роль антилипопротеиновых АТ изучена недостаточно.

В крови человека обнаружен достаточно широкий спектр мЛПНП, среди них модифицированные малоновым диальдегидом [14], ацетилованные [10], гипохлорированные [5], окисленные [31], малеилированные [3], карбамоилированные [15], десиалированные [26], гликированные [35] и т. д.

В нашей работе мы сфокусировали наше внимание на изучении АТ к ЛПНП, модифицированных малоновым диальдегидом (МДА-ЛПНП).

Одним из продуктов реакции перекисного окисления липидов является малоновый диальдегид, который несет в себе две альдегидные группы и может способствовать появлению молекулярных кросс-сшивок, вступая в реакцию с аминокетонами лизина или реже тирозина. Высокое содержание МДА-ЛПНП в крови является маркером тяжести течения и прогрессирования [37, 38] атеросклероза и его клинических проявлений. МДА-ЛПНП также были обнару-

жены в атеросклеротических поражениях артерий [3].

В настоящей работе представлены данные о содержании АТ к МДА-ЛПНП и холестерина циркулирующих иммунных комплексов (ХС-ЦИК) в крови пациентов с различной выраженностью атеросклероза, а также о влиянии специфических АТ на цитотоксичность МДА-ЛПНП и их способность вызывать накопление холестерина (ХС) и его эфиров в макрофагах.

## Материалы и методы

### Пациенты

Всего было обследовано 253 человека в возрасте от 27 до 67 лет. Первую группу обследованных составили здоровые лица (59 человек). Во вторую группу вошли 25 человек с доклиническим атеросклерозом, у которых атеросклеротические бляшки в сонной и бедренной артериях были выявлены с помощью ультразвукового исследования, но отсутствовали клинические проявления атеросклероза. Третья группа – 169 пациентов с

ишемической болезнью сердца (ИБС), верифицированной коронарографией). Клиническая характеристика обследованных пациентов представлена в таблице 1.

### Выделение ЛПНП

ЛПНП выделяли из плазмы крови человека с помощью последовательного ультрацентрифугирования (100 000 g) в градиенте плотности NaBr ( $d = 1,025-1,055$  г/мл) [17] с последующим диализом против фосфатно-солевого буфера (ФСБ) при 4 °С в течение 48 часов с однократной сменой буфера. Содержание белка в ЛПНП определяли по методу Лоури–Фолина в модификации Марквелла [22].

### Модификация ЛПНП и человеческого сывороточного альбумина

Как было показано ранее, при химической модификации различных белков (аполипротеины, альбумин и т. д.) формируются одинаковые антигенные эпитопы. Это позволяет использовать для обнаружения антител к модифицированным ЛПНП модифицированный *in*

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ: Me ( $Q_{0,25}-Q_{0,75}$ ); ПОЛ – ЧИСЛО ПАЦИЕНТОВ (% ОТ ОБЩЕГО ЧИСЛА)

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF THE EXAMINED PATIENTS: Me ( $Q_{0,25}-Q_{0,75}$ ); GENDER, NUMBER OF PATIENTS (% OF TOTAL)

	Здоровые лица Healthy individuals (n = 59)	Пациенты с доклиническим атеросклерозом Patients with preclinical atherosclerosis (n = 25)	Пациенты с ИБС Patients with CAD (n = 169)
Возраст Age	41 (38-43)*	44 (41-46)*	60 (55-62)
Пол Gender	М: 59 (100%)	М: 25 (100%)	М: 108 (64%) Ж/Ф: 61 (36%)
Индекс массы тела Body mass index	27,8 (24,8-30,7)	26,9 (24,0-30,4)	26,22 (24,9-27,9)
Инфаркт миокарда в анамнезе Myocardial infarction	–	–	72 (43%)
Общий холестерин, ммоль/л Total Cholesterol, mmol/L	5,2 (4,7-6,1)#	5,4 (4,5-6,0)#	6,25 (5,6-6,6)
ЛПНП, ммоль/л LDL, mmol/L	3,2 (2,7-3,9)&	3,1 (2,5-3,7)&	4,2 (3,9-4,8)
ЛПВП, ммоль/л HDL, mmol/L	1,1 (1,0-1,6)^	1,2 (0,9-1,5)	1,3 (1,1-1,6)
Триглицериды, ммоль/л Triglycerides, mmol/L	1,33 (1,04-2,20)	1,4 (0,9-2,9)	1,63 (1,3-1,8)

Примечание. ЛПВП – липопротеины высокой плотности. Достоверное отличие от пациентов с ИБС: \* –  $p < 0,0001$ ; # –  $p < 0,001$ ; & –  $p < 0,0001$ ; ^ –  $p = 0,02$ .

Note. CAD, coronary artery disease; LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein. Significant difference from patients with CAD: \*,  $p < 0.0001$ ; #,  $p < 0.001$ ; &,  $p < 0.0001$ ; ^,  $p = 0.02$ .

*in vitro* сывороточный альбумин человека [3]. МДА-модификацию ЛПНП и человеческого сывороточного альбумина (ЧСА, Sigma, США) проводили свежеприготовленным раствором 0,5 М МДА (6,6 мкл на 1 мг белка) [27], полученного в ходе кислотного гидролиза 1,1,3,3-тетраметоксипропана. Смесь инкубировали 2 часа при комнатной температуре, затем диализовали против ФСБ при 4 °С в течение 24 часов. Степень модификации оценивали по убыли поверхностных аминогрупп, определяемых с помощью тринитробензолсульфоновой кислоты [13].

#### **Аффинная хроматография**

Приготовление ЧСА-сефарозы: CNBr-сефарозу 4В (Pharmacia Fine Chemicals, Швеция) замачивали на 1 час в 0,001 М HCl. Гель промывали на стеклянном фильтре 0,001 М HCl, а затем дистиллированной водой. После промывки гель заливали 0,1 М бикарбонатным буфером (рН = 8,0), в котором предварительно растворяли 2 мг ЧСА. Смесь инкубировали 18-20 часов при +4 °С, дважды отмывали бикарбонатным буфером. Промытый гель заливали 1 М раствором этаноламина, инкубировали 2 часа при комнатной температуре, после чего гель заливали 0,1 М ацетатным буфером (рН = 4,0) на ночь. Затем гель промывали три раза поочередно 0,1 М ацетатным и 0,1 М боратным (рН = 8,0) буферами и уравновешивали 0,01 М ФСБ (рН = 7,4).

Приготовление МДА-ЧСА-сефарозы: модификацию ЧСА, связанного с сефарозой, проводили, как было описано выше, для свободных белков. Для остановки реакции гель промывали ФСБ в объемах, многократно превышающих объем колонки.

Выделение антител из сыворотки крови человека: на колонку с МДА-ЧСА-сефарозой наносили пул сывороток крови пациентов с последующей рециркуляцией сыворотки в течение 6 часов при 4 °С. Колонку промывали раствором ФСБ (рН = 7,4). Элюцию АТ, связавшихся с антигеном, осуществляли с помощью 0,2 М раствора уксусной кислоты (рН = 2,9); рН раствора АТ доводили до 7,4. Для восстановления рН колонки после элюции использовались: 0,1 М ацетатный буфер (рН = 4,0); 0,1 М боратный буфер (рН = 11,0) и ФСБ. Активность АТ проверялась с помощью иммуноферментного анализа.

#### **Имуноферментный анализ**

В качестве антигенов использовали ЛПНП и ЧСА нативные или модифицированные МДА в концентрации 10 мкг/мл по 100 мкл на лунку. После внесения белков в лунки планшеты инкубировали 18 часов при 4 °С после чего отмывали 0,05% раствором (V/V) Tween-20 в 0,01 М ФСБ. После этого лунки блокировали 0,5% (m/V) рас-

твором казеина в течение 1 часа при 37 °С и затем снова промывали. К сорбированным в лунке антигенам добавляли 100 мкл исследуемой плазмы (1:50) или аффинно-выделенных АТ и инкубировали 1 час при 37 °С. После промывки в лунки вносили мышинные моноклональные меченые пероксидазой хрена АТ против IgG и IgM человека («Полигност», Россия) в разведении 1:200. После инкубации в течение 50 минут при 37 °С и промывки лунки заполняли раствором тетраметилбензидаина («Хема», Россия) и оставляли на 20 минут при комнатной температуре до развития окраски. Реакцию останавливали с помощью 2 М серной кислоты. Оптическую плотность определяли при 450 нм на автоматическом ридере ELx-800 (BioTek, США). Уровень АТ оценивали по разности оптических плотностей между модифицированными и нативными ЛПНП (ЧСА).

#### **Определение концентрации окисленных ЛПНП**

Для определения концентрации окисленных ЛПНП (оксЛПНП) был использован набор Oxidized LDL ELISA (MercoDIA, Швеция). Метод основан на сэндвич-варианте иммуноферментного анализа с применением моноклональных АТ к оксЛПНП.

#### **Определение содержания ХС-ЦИК**

Циркулирующие иммунные комплексы осаждали с помощью полиэтиленгликоля-6000. С этой целью к сыворотке крови пациентов добавляли 5%-ный раствор (m/V) полиэтиленгликоля-6000 (Fluka, Германия) в соотношении 1:1, перемешивали и инкубировали в течение 30 мин при 4 °С. После чего образцы центрифугировали при 5000 об/мин в течение 20 мин при 4 °С, далее отбирали супернатант. Осадок промывали 2-3 раза 2,5% раствором (m/V) полиэтиленгликоля-6000, центрифугируя после каждой промывки. Осадок растворяли в физиологическом растворе. Концентрацию ХС в осажденных комплексах определяли энзиматическим колориметрическим набором (Randox laboratories LTD, Великобритания)

#### **Культивирование клеток**

Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) выделялись из цельной крови здорового донора центрифугированием с использованием раствора фикола плотностью 1,077 г/мл (ООО «БиолоТ», Россия). Кровь наслаивалась поверх раствора фикола (7:3) и центрифугировалась в течение 30 мин при 400 g 18 °С. Кольцо мононуклеаров отбирали в отдельные пробирки и отмывали стерильным раствором Хенкса (ООО «БиолоТ», Россия) с последующим центрифугированием при 300 g 7 минут. После удаления супернатанта МКПК ресуспендировали в культуральной среде RPMI-1640 (ООО «БиолоТ», Россия), содержащей 10% эмбриональной

бычьей сыворотки (HyClone, США), L-глутамин и гентамицин (ООО «БиолоТ», Россия). Клетки высевали на культуральные планшеты и культивировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (5% CO<sub>2</sub>, 37 °С). После двухчасовой инкубации и адгезии моноцитов происходила смена среды с добавлением 10 нг/мл макрофагального колониестимулирующего фактора (Gibco, США). На 3-и сутки осуществлялась смена питательной среды.

На 5-е сутки проводилась смена среды на среду, содержащую 2% человеческой сыворотки без липопротеинов (Biowest, Франция), с добавлением следующих агентов: нативных ЛПНП (50 мкг/мл), МДА-ЛПНП (50 мкг/мл), комплексов МДА-ЛПНП со специфичными АТ (избыток АТ, молярное соотношение – аполипопротеин В:АТ 1:5), смесь МДА-ЛПНП с неспецифическим IgG (1:5), смесь нативных ЛПНП с АТ против МДА-ЛПНП или неспецифическим IgG (1:5). Для формирования иммунных комплексов к аффинно-выделенным человеческим АТ против МДА-ЛПНП добавляли различные ЛПНП и инкубировали в течение 1 часа при 37 °С. Инкубацию клеток с указанными веществами проводили в течение 24 часов.

#### **Проточная цитофлуориметрия**

После инкубации клетки промывали ФСБ, обрабатывали раствором Accutase® (Sigma, США), инкубировали 10-30 минут при 37 °С и переносили в соответствующие пробирки. Пробирки центрифугировали 7 минут при 330 g, клеточный осадок ресуспензировали в 100 мкл ФСБ, в пробы вносили YO-PRO-1® (Invitrogen, США) и йодистый пропидий (Sigma-Aldrich, США), получая конечную концентрацию красителей 250 нМ и 1 мкг/мл соответственно. Окраску проводили при комнатной температуре в течение 15 минут в защищенном от света месте. По завершении инкубации к образцам добавляли по 200 мкл ФСБ и анализировали на проточном цитофлуориметре Navios™ (Beckman Coulter, США). Для каждого из образцов анализировали не менее 10000 одиночных клеток. Полученные результаты анализировали с использованием программного обеспечения Kaluza™ (Beckman Coulter, США).

#### **Определение содержания холестерина и его эфиров**

Клетки промывали охлажденным ФСБ, заливали лизирующим буфером (0,1 М KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mM NaCl, 5 mM холевая кислота, 0,1% NP-40) и инкубировали 30 минут на качалке при +4 °С. Для определения содержания общего ХС готовили смесь, содержащую 40 μM Amplex Red® (Sigma, США), 2 U/мл пероксидазы хрена (Sigma, США), 0,04 U/мл холестериноксидазы (Sigma, США), 0,2 U/мл холестеринэстеразы (Sigma, США). Для

определения содержания свободного ХС готовили аналогичную смесь без добавления холестеринэстеразы. Флуоресценцию оценивали при 535/587 нм. Содержание эфиров ХС определялось, как разница общего и свободного ХС. Концентрацию белка в клеточных лизатах определяли с помощью бицинхонинового реактива [33].

#### **Методы статистической обработки**

Математическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ статистического анализа данных Statistica. Для сравнения данных, имеющих непараметрическое распределение, применяли критерии Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса. Для установления корреляционной зависимости использовали ранговый коэффициент Спирмана. В случае анализа нормально распределенных данных применяли дисперсионный анализ с апостериорным критерием Тьюки.

## **Результаты**

#### **Уровень антител к МДА-ЛПНП у здоровых лиц и пациентов с атеросклерозом**

В первой части нашей работы мы исследовали содержание АТ к МДА-ЛПНП в крови здоровых лиц (n = 59) и пациентов с атеросклерозом, которые были разделены на 2 подгруппы: пациенты с доклиническим атеросклерозом (n = 25) и пациенты с ИБС (n = 169).

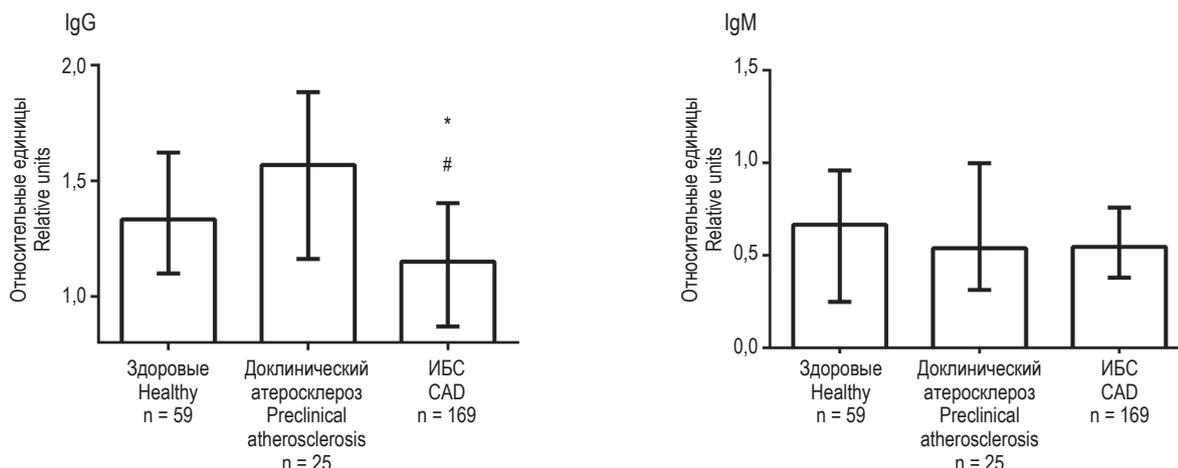
Оказалось, что уровень АТ класса IgG к МДА-ЛПНП достоверно снижен в крови пациентов с клинически выраженным атеросклерозом (диагноз ИБС) по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с доклиническим атеросклерозом. При этом статистически достоверной разницы содержания циркулирующих АТ класса IgM к МДА-ЛПНП между обследованными группами пациентов не было выявлено (рис. 1).

Среди пациентов с ИБС были выделены лица, перенесшие инфаркт миокарда, количество которых составило 72 человека (43%). В нашем исследовании различий в содержании АТ к МДА-ЛПНП у лиц с ИБС в зависимости от наличия инфаркта миокарда в анамнезе не было выявлено (данные не представлены).

#### **Концентрация ХС-ЦИК в крови здоровых лиц и пациентов с атеросклерозом**

В крови и сосудистой стенке присутствуют не только мЛПНП и АТ к ним, но и иммунные комплексы мЛПНП-АТ [1]. В крови содержание таких комплексов можно оценивать по количеству ХС в осажденных иммунных комплексах.

Нами было определено содержание ХС-ЦИК в сыворотке крови обследованных пациентов, результаты представлены на рисунке 2. Концентрация ХС-ЦИК была достоверно повышена у

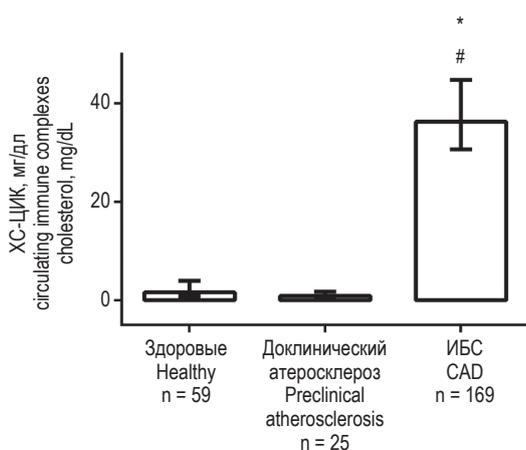


**Рисунок 1. Содержание циркулирующих антител (IgG и IgM) к МДА-ЛПНП в плазме здоровых лиц и у пациентов с атеросклерозом**

Примечание. Данные представлены: медиана и межквартильные интервалы (Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )); \* – достоверное отличие от здоровых лиц,  $p = 0,00068$  (критерий Краскела–Уоллиса); # – достоверное отличие от группы «доклинический атеросклероз»,  $p = 0,0002$  (критерий Краскела–Уоллиса).

Figure 1. Content of IgG antibodies and IgM antibodies in plasma of healthy subjects and patients with atherosclerosis

Note. Data expressed as median and interquartile ranges (Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )); \*, significant difference from healthy individuals,  $p = 0.00068$  (Kruskal–Wallis test); #, significant difference from patients with preclinical atherosclerosis,  $p = 0.0002$  (Kruskal–Wallis test).



**Рисунок 2. Концентрация ХС-ЦИК в плазме здоровых лиц и пациентов с атеросклерозом**

Примечание. Данные представлены: медиана и межквартильные интервалы (Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )); \* – достоверное отличие от здоровых лиц,  $p < 0,0001$  (критерий Краскела–Уоллиса); # – достоверное отличие от группы «доклинический атеросклероз»,  $p < 0,0001$  (критерий Краскела–Уоллиса).

Figure 2. Concentration of circulating immune complexes cholesterol in plasma of healthy subjects and patients with atherosclerosis

Note. Concentration expressed as median and interquartile ranges (Me ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )); \*, significant difference from healthy individuals,  $p < 0.0001$  (Kruskal–Wallis test); #, significant difference from patients with preclinical atherosclerosis,  $p < 0.0001$  (Kruskal–Wallis test).

пациентов с ИБС по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с доклиническим атеросклерозом, что подтверждает ранее полученные результаты [11].

Выявлено также, что содержание ХС-ЦИК в крови слабо, но достоверно отрицательно коррелирует с уровнем АТ класса IgG к мЛПНП ( $r = -0,16$ ). Следовательно, эти данные позволяют предполагать, что снижение содержания в крови антилипопротеиновых АТ класса G у пациентов с ИБС может быть связано с повышенным формированием циркулирующих иммунных комплексов липопротеин-антитело.

Хотя в настоящей работе не было выявлено существенных корреляций между содержанием циркулирующих АТ к МДА-ЛПНП и уровнем липидов в крови, интерес представляла связь между концентрацией в крови изучаемых АТ и антигенов, которыми являются перекисно-модифицированные ЛПНП (оксЛПНП). При перекисном окислении жирных кислот образуется МДА, который способен вступать во взаимодействие с белковой частью ЛПНП, поэтому мы полагаем, что МДА-ЛПНП являются частью измеряемых нами оксЛПНП. Таким образом, АТ к МДА-ЛПНП могут распознавать эпитопы оксЛПНП. Однако оказалось, что корреляция между содержанием оксЛПНП и уровнем АТ к МДА-ЛПНП отсутствует, но у пациентов с атеросклерозом (как доклиническим, так и с клиническими проявлениями) в отличие от здоро-

вых лиц обнаружена выраженная положительная корреляция между концентрациями ХС-ЦИК и оксЛПНП (табл. 2). При этом следует заметить, что концентрация оксЛПНП достоверно не отличалась среди различных групп, обследованных нами пациентов.

Существует ряд работ, связывающих увеличение концентрации оксЛПНП с риском развития ИБС [4] и предлагающие рассматривать уровень оксЛПНП как маркер ИБС [18]. Однако нельзя исключить, что формирование иммунных комплексов, содержащих оксЛПНП, может занижать определение уровня таких ЛПНП в крови. Кроме того, возможна также конкуренция циркулирующих АТ к ЛПНП с моноклональными АТ коммерческих наборов.

#### Влияние антител к МДА-ЛПНП на цитотоксичность МДА-ЛПНП

Перекисно-модифицированные ЛПНП, в том числе и МДА-ЛПНП, способны вызывать апоптоз макрофагов [2, 30]. В связи с этим необходимо было выяснить, как специфические антитела влияют на цитотоксичность МДА-ЛПНП.

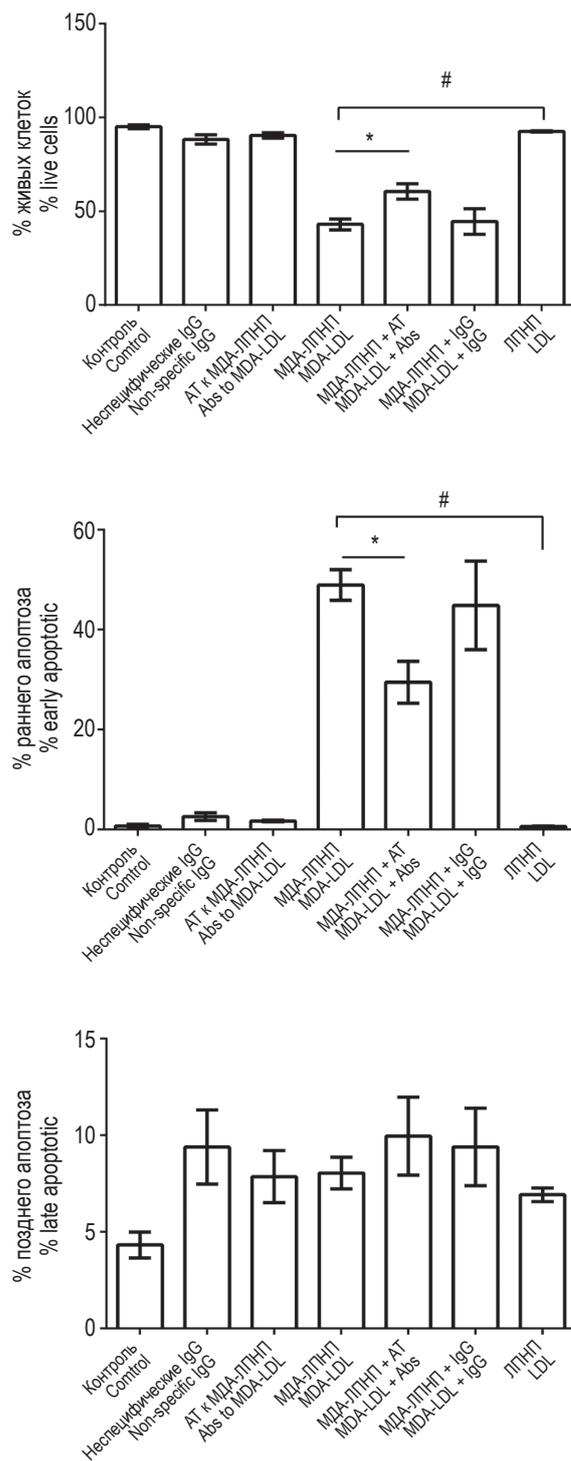
Исследование цитотоксичности МДА-ЛПНП и их комплексов со специфическими АТ проводили с использованием макрофагов человека, дифференцированных из мононуклеаров периферической крови *in vitro*. После 24-часовой инкубации с МДА-ЛПНП (50 мкг белка/мл), свободными или в комплексе со специфическим антителами человека (молярное соотношение — аполипопротеин В:АТ — 1:5), с помощью проточной цитофлуориметрии было оценено количество погибших клеток. Полученные результаты представлены на рисунке 3.

Не вызывает сомнений выраженная цитотоксичность МДА-ЛПНП — менее 50% клеток выжили после инкубации с такими ЛПНП. В то же время формирование иммунного комплекса МДА-ЛПНП-АТ значительно ослабляло способность МДА-ЛПНП вызывать гибель макрофагов. При этом добавление неспецифического IgG не оказывало такого эффекта.

Одним из возможных механизмов цитотоксичности модифицированных ЛПНП может быть избыточное накопление холестерина и его эфиров в макрофагах в результате их нерегулируемого захвата с помощью различных скэвенджер-рецепторов [36]. Поэтому необходимо было выяснить, как специфические антитела влияют на захват МДА-ЛПНП (накопление холестерина и его эфиров) макрофагами.

#### Влияние антител к МДА-ЛПНП на захват МДА-ЛПНП

Захват макрофагами ЛПНП, нативных или МДА-модифицированных, оценивали по накоплению ХС и его эфиров в клетках. Было уста-



**Рисунок 3. Апоптоз макрофагов, инкубированных 24 часа с различными агентами (проточная цитофлуориметрия)**

Примечание. Данные представлены: медиана и межквартильные интервалы (Ме ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )),  $n = 10$ ; \* —  $p < 0,05$ ; # —  $p < 0,0001$  (критерий Краскела-Уоллиса).

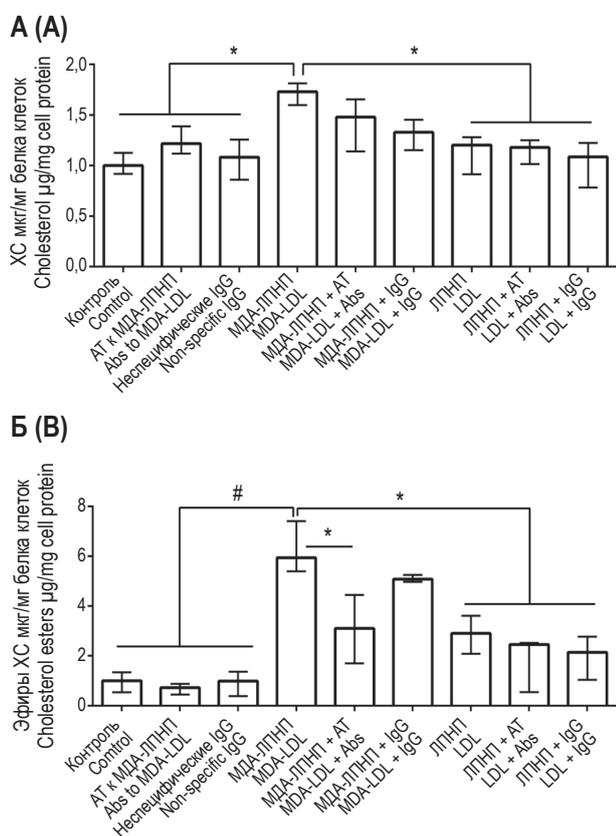
Figure 3. Apoptosis of macrophages incubated for 24 hours with various agents (flow cytometry)

Note. Data presented: median and interquartile ranges (Ме ( $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ )),  $n = 10$ ; \* ,  $p < 0.05$ ; # ,  $p < 0.0001$  (Kruskal-Wallis test).

**ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ ОКИСЛЕННЫХ ЛИПОПРОТЕИНОВ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ (Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)) В ПЛАЗМЕ ОБСЛЕДОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ И КОЭФФИЦИЕНТЫ КОРРЕЛЯЦИИ С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ХС-ЦИК (\* p < 0,05)**

TABLE 2. CONTENT OF OXIDIZED LOW DENSITY LIPOPROTEINS (Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)) IN THE PLASMA OF THE PATIENTS AND CORRELATION COEFFICIENTS WITH THE CONCENTRATION OF CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES CHOLESTEROL (\* p < 0.05)

	Здоровые лица Healthy individuals (n = 59)	Пациенты с доклиническим атеросклерозом Patients with preclinical atherosclerosis (n = 25)	Пациенты с ИБС Patients with CAD (n = 169)
<b>Содержание оксЛПНП, У/л</b> Oxidized low density lipoprotein, U/L	49,1 (41,2-60,6)	58,3 (34,6-71,3)	60 (43,0-75,0)
<b>Коэффициент корреляции с ХС-ЦИК</b> Correlation coefficients with concentration of circulating immune complexes cholesterol	0,08	0,45*	0,41*



**Рисунок 4. Содержание свободного холестерина (А) и его эфиров (Б) в макрофагах, инкубированных 24 часа с различными агентами**

Примечание. Данные представлены: медиана и межквартильные интервалы (25% и 75%), n = 10; \* – p < 0,05; # – p < 0,0001 (дисперсионный анализ с апостериорным критерием Тьюки).

Figure 4. Content of free cholesterol (A) and its esters (B) in macrophages incubated for 24 hours with various agents

Note. Data presented: median and interquartile ranges (25% and 75%), n = 10; \*, p < 0.05; #, p < 0.0001 (analysis of variance with Tukey's post hoc test).

новлено (рис. 4), что инкубация макрофагов, дифференцированных из мононуклеаров периферической крови человека, с МДА-ЛПНП (50 мкг белка/мл) в течение 24 часов приводила к значительному внутриклеточному накоплению холестерина – свободного и, в особенности, эстерифицированного, что согласуется с литературными данными [39]. При этом инкубация макрофагов с нативными ЛПНП в той же концентрации вызывала в 1,5-2 раза меньшее увеличение содержания холестерина и его эфиров в клетках. Добавление специфических антител к МДА-ЛПНП (молярное соотношение – аполипопротеин В:АТ 1:5) значительно снижало способность МДА-ЛПНП индуцировать накопление эфиров холестерина в макрофагах. В то же время АТ против МДА-ЛПНП не влияли на накопление холестерина и его эфиров при культивировании макрофагов с нативными ЛПНП, а неспецифический IgG не влиял на захват ни МДА-ЛПНП, ни нативных ЛПНП.

## Обсуждение

Приступая к выполнению данной работы, мы предполагали, что уровень АТ к МДА-ЛПНП может отражать как наличие подобных модификаций в организме, так и выраженность иммунного ответа на модифицированные белки у пациентов с атеросклерозом по сравнению с здоровыми лицами. Оказалось, что содержание АТ к МДА-ЛПНП было достоверно снижено у пациентов с клиническими проявлениями атеросклероза (ИБС) по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с доклиническим атеросклерозом. Вместе с тем концентрация ХС-ЦИК повышена у пациентов с ИБС по сравнению с остальными группами. При этом достоверных различий в со-

держании оксЛПНП у обследованных групп пациентов не было найдено. Вопрос, на который предстоит ответить: почему уровень АТ класса IgG к мЛПНП снижается у пациентов с ИБС наряду с повышением концентрации ХС-ЦИК и при постоянном уровне мЛПНП. Можно предположить, что у пациентов с ИБС увеличивается образование мЛПНП и, следовательно, взаимодействие их с АТ с формированием иммунных комплексов мЛПНП-АТ. Этим, по-видимому, и объясняется наблюдаемое повышение концентрации ХС-ЦИК у пациентов с ИБС. В нашей работе не было зафиксировано различий в концентрации оксЛПНП между группами пациентов, хотя отмечалась положительная корреляция между содержанием оксЛПНП и ХС-ЦИК. Кроме того, существует вероятность того, что оксЛПНП, входящие в иммунные комплексы, могут не учитываться при измерении их содержания из-за конкуренции между собственными АТ и АТ тест-системы. Следует также учитывать тот факт, что оксЛПНП быстро элиминируются из кровотока клетками системы мононуклеарных фагоцитов.

Таким образом, снижение содержания АТ к мЛПНП, найденное в крови у пациентов с ИБС, может объясняться истощением пула циркулирующих антилипопротеиновых АТ класса IgG в связи с увеличением количества антигена, в нашем случае МДА-ЛПНП. Другим объяснением обнаруженного феномена может быть ослабление иммунного ответа, при котором основная часть АТ будет расходоваться на образование комплекса.

В литературе данные об изменении уровня АТ к мЛПНП у пациентов с атеросклерозом противоречивы. В одних исследованиях, как и в нашей работе, было обнаружено снижение уровней АТ класса IgG к МДА-ЛПНП в плазме пациентов с ИБС, в то время как различий в содержании АТ класса IgM не наблюдалось [20]. В других работах, наоборот, низкие уровни АТ класса IgM к МДА-ЛПНП были связаны с клиническим проявлением ИБС, а в случае АТ класса IgG такой связи обнаружено не было [8, 34]. Есть исследования, в которых было показано уменьшение в крови количества АТ класса IgM к аполипопротеину В, нативному и модифицированному МДА, у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями [9], в то время как содержание АТ класса IgG снижались только против нативного аполипопротеина В, но не против МДА-модифицированного [6, 9]. Некоторые авторы описывают положительную связь концентрации АТ к оксЛПНП в крови с развитием атеросклероза [16, 24]. Кроме того, имеются данные об отсутствии изменений уров-

ней АТ обоих классов к оксЛПНП у пациентов с ИБС [29].

Исходя из вышесказанного, следует, что одно-временное определение уровня АТ IgG к модифицированным ЛПНП и концентрации ХС-ЦИК может помочь в оценке динамики клинических проявлений атеросклероза.

Другая часть нашей работы была посвящена изучению роли АТ в процессах, протекающих непосредственно в очаге атеросклеротического поражения. Хорошо известно, что МДА-ЛПНП обладают выраженной цитотоксичностью, что и было подтверждено в нашем исследовании. При этом нами было показано, что добавление в инкубационную среду АТ к МДА-ЛПНП приводило к снижению цитотоксичности МДА-ЛПНП по отношению к макрофагам, хотя и не отменяло ее полностью. Кроме того, АТ к МДА-ЛПНП снижали накопление эфиров ХС в макрофагах, при их инкубации с МДА-ЛПНП. Эти результаты согласуются со сведениями о том, что свободные мЛПНП, выделенные из атеросклеротических поражений человека, захватывались макрофагами значительно активнее, чем иммунные комплексы ЛПНП-АТ [12]. Такие эффекты АТ, скорее всего, объясняются тем, что формирующиеся иммунные комплексы изменяют характер взаимодействия МДА-ЛПНП с макрофагами. Известно, что мЛПНП захватываются с помощью различных скэвенджер-рецепторов. Однако из-за наличия АТ к мЛПНП, обеспечивающих формирование комплексов, захват может осуществляться не столько скэвенджер-рецепторами, сколько с участием Fc-рецепторов. Есть данные, что иммунные комплексы, взаимодействующие с Fc-рецепторами, могут приводить к активации АКТ-зависимого сигнального пути, регулирующего выживание клеток [19, 25].

## Заключение

Тем самым полученные данные свидетельствуют о том, что антилипопротеиновые АТ могут оказывать защитное действие, предупреждая гибель клеток и снижая накопление эфиров ХС в макрофагах при их взаимодействии с мЛПНП, т. е. предупреждать формирование пенных клеток. Это согласуется со сведениями о том, что [11, 21, 23, 25, 28, 32] иммунизация животных оксЛПНП или МДА-ЛПНП приводила к снижению скорости развития и выраженности экспериментального атеросклероза, что связывают с атеропротективной функцией АТ.

## Благодарности

Авторы выражают свою благодарность заведующему лабораторией клеточной иммуноло-

гии отдела иммунологии ФГБНУ «ИЭМ» к.б.н. И.В. Кудрявцеву и научному сотруднику М.К. Серебряковой за помощь при работе на проточном цитофлуориметре; заведующему лабораторией биохимической генетики отдела молекулярной генетики ФГБНУ «ИЭМ» д.б.н. А.В. Соколову за предоставленные реактивы и конструктивные дискуссии; старшему научному сотруднику отдела биохимии ФГБНУ «ИЭМ» к.б.н. С.В. Орлову за консультации и обсуждение результатов.

#### 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 ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

## Список литературы / References

1. Денисенко А.Д. Аутоиммунные комплексы липопротеин-антитело и их роль в атерогенезе // Медицинский академический журнал, 2007. Т. 7, № 1. С. 38-44. [Denisenko A.D. Autoimmune lipoprotein-antibody complexes and their role in atherogenesis. *Meditsinskiy akademicheskiy zhurnal = Medical Academic Journal*, 2007, Vol. 7, no. 1, pp. 38-44. (In Russ.)]
2. Ларионова Е.Е., Денисенко А.Д. Влияние модифицированных липопротеинов низкой плотности и липопротеинов высокой плотности на апоптоз макрофагов // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, 2012. Т. 19, № 2. С. 16-19. [Larionova E.E., Denisenko A.D. The influence of modified low density lipoproteins and of high density lipoproteins on macrophage apoptosis. *Uchenye zapiski SPbGMU im. akad. I.P. Pavlova = Scientific Notes of the Pavlov University*, 2012, Vol. 19, no. 2, pp. 16-19. (In Russ.)]
3. Пигаревский П.В., Архипова О.Ю., Денисенко А.Д. Иммуногистохимическое обнаружение модифицированных липопротеинов в атеросклеротических поражениях аорты человека // Медицинская иммунология, 2006. Т. 8, № 5-6. С. 637-644. [Pigarevsky P.V., Archipova O.Yu., Denisenko A.D. Detection of modified lipoproteins in atherosclerotic lesions of human aorta. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2006, Vol. 8, no. 5-6, pp. 637-644. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2006-5-6-637-644.
4. Amaki T., Suzuki T., Nakamura F., Hayashi D., Imai Y., Morita H., Fukino K., Nojiri T., Kitano S., Hibi N., Yamazaki T., Nagai R. Circulating malondialdehyde modified LDL is a biochemical risk marker for coronary artery disease. *Heart*, 2004, Vol. 90, no. 10, pp. 1211-1213.
5. Arnhold J., Wiegel D., Richter O., Hammerschmidt S., Arnold K., Krumbiegel M. Modification of low density lipoproteins by sodium hypochlorite. *Biomed. Biochim. Acta*, 1991, Vol. 50, no. 8, pp. 967-973.
6. Ascitutto G., Wigren M., Fredrikson G.N., Mattisson I.Y., Grönberg C., Alm R., Björkbacka H., Dias N.V., Edsfieldt A., Gonçalves I., Nilsson J. Apolipoprotein B-100 Antibody Interaction With Atherosclerotic Plaque Inflammation and Repair Processes. *Stroke*, 2016, Vol. 47, no. 4, pp. 1140-1143.
7. Belik I.V., Ivantsova A.A., Mamedova Z.E., Denisenko A.D. Antibodies against modified low-density lipoproteins and their complexes in blood of patients with various manifestations of atherosclerosis. *Biochem. Moscow Suppl. Ser. B*, 2016, Vol. 10, no. 4, pp. 346-350.
8. Berg V.J., Haskard D.O., Fedorowski A., Hartley A., Kardys I., Caga-Anan M., Akkerhuis K.M., Oemrawsingh R.M., van Geuns R.J., de Jaegere P., van Mieghem N., Regar E., Ligthart J.M.R., Umans V.A.W.M., Serruys P.W., Melander O., Boersma E., Khamis R.Y. IgM anti-malondialdehyde low density lipoprotein antibody levels indicate coronary heart disease and necrotic core characteristics in the Nordic Diltiazem (NORDIL) study and the Integrated Imaging and Biomarker Study 3 (IBIS-3). *EBioMedicine*, 2018, Vol. 36, pp. 63-72.
9. Björkbacka H., Alm R., Persson M., Hedblad B., Nilsson J., Fredrikson G.N. Low levels of apolipoprotein B-100 autoantibodies are associated with increased risk of coronary events. *Arterioscler. Thromb. Vasc Biol.*, 2016, Vol. 36, no. 4, pp. 765-771.
10. Brown M.S., Goldstein J.L. Receptor-mediated endocytosis: Insights from the lipoprotein receptor system, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1979, Vol. 76, no. 7, pp. 3330-3337.
11. Chyu K.Y., Zhao X., Reyes O.S., Babbidge S.M., Dimayuga P.C., Yano J., Cercek B., Fredrikson G.N., Nilsson J., Shah P.K. Immunization using an Apo B-100 related epitope reduces atherosclerosis and plaque inflammation in hypercholesterolemic apo E (-/-) mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, Vol. 338, no. 4, pp. 1982-1989.
12. Denisenko A.D., Makovejchuk E.G., Vinogradov A.G., Kuznetsov A.S., Klimov A.N. Autoantibodies against oxidized low density lipoproteins and lipoprotein-antibody autoimmune complexes in human atherosclerosis. *Eur. J. Lab. Med.*, 1996, Vol. 4, no. 1, pp. 85-90.
13. Fields R. The rapid determination of amino groups with TNBS. *Methods Enzymol.*, 1972, Vol. 25, pp. 464-468.
14. Fogelman A.M., Shechter I., Seager J., Hokom M., Child J.S., Edwards P.A. Malondialdehyde alteration of low density lipoproteins leads to cholesteryl ester accumulation in human monocyte-macrophages. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1980, Vol. 77, no. 4, pp. 2214-2218.

15. Gonen B., Cole T., Hahm K. S. The interaction of carbamylated low-density lipoprotein with cultured cells. Studies with human fibroblasts, rat peritoneal macrophages and human monocyte-derived macrophages. *Biochim. Biophys. Acta*, 1983, Vol. 754, no. 2, pp. 201-207.
16. Gruzdeva O., Uchasova E., Dyleva Y., Belik E., Karetnikova V., Shilov A., Barbarash O. Multivessel coronary artery disease, free fatty acids, oxidized LDL and its antibody in myocardial infarction. *Lipids Health Dis.*, 2014, no. 13, 111. doi: 10.1186/1476-511X-13-111.
17. Havel R.J., Eder H.A., Bragdon J.H. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J. Clin. Invest.*, 1955, Vol. 34, no. 9, pp. 1345-1353.
18. Holvoet P., Mertens A., Verhamme P., Bogaerts K., Beyens G., Verhaeghe R., Collen D., Muls E., van de Werf F. Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001, Vol. 21, no. 5, pp. 844-848.
19. Huang Y., Jaffa A., Koskinen S., Takei A., Lopes-Virella M.F. Oxidized LDL-Containing Immune Complexes Induce Fc Gamma Receptor I Mediated Mitogen-Activated Protein Kinase Activation in THP-1 Macrophages. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999, Vol. 19, no. 7, pp. 1600-1607.
20. Khamis R.Y., Hughes A.D., Caga-Anan M., Chang C.L., Boyle J.J., Kojima C., Welsh P., Sattar N., Johns M., Sever P., Mayet J., Haskard D.O. High Serum Immunoglobulin G and M Levels Predict Freedom From Adverse Cardiovascular Events in Hypertension: A Nested Case-Control Substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial. *EBioMedicine*, 2016, Vol. 9, pp. 372-380.
21. Lehrer-Graiwer J., Singh P., Abdelbaky A., Vucic E., Korsgren M., Baruch A., Fredrickson J., van Bruggen N., Tang M.T., Frendeus B., Rudd J.H.F., Hsieh F., Ballantyne C.M., Ghoshhajra B., Rosenson R.S., Koren M., Roth E.M., Duprez D.A., Fayad Z.A., Tawakol A.A. FDG-PET imaging for oxidized LDL in stable atherosclerotic disease: a phase II study of safety, tolerability, and anti-inflammatory activity. *JACC Cardiovasc. Imaging*, 2015, Vol. 8, no. 4, pp. 493-494.
22. Markwell M.A., Haas S.M., Bieber L.L., Tolbert N.E. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Anal. Biochem.*, 1978, Vol. 87, no. 1, pp. 206-210.
23. Martos-Folgado I., Del Monte-Monge A., Lorenzo C., Busse C.E., Delgado P., Mur S.M., Cobos-Figueroa L., Escolà-Gil J.C., Martín-Ventura J.L., Wardemann H., Ramiro A.R. MDA-LDL vaccination induces athero-protective germinal-center-derived antibody responses. *Cell Rep.*, 2022, Vol. 41, no. 2, 111468. doi: 10.1016/j.celrep.2022.111468.
24. Meeuwse J.A.L., van Duijvenvoorde A., Gohar A., Kozma M.O., van de Weg S.M., Gijsberts C.M., Haitjema S., Björkbacka H., Fredrikson G.N., de Borst G.J., den Ruijter H.M., Pasterkamp G., Binder C.J., Hoefer I.E., de Jager S.C.A. High levels of (un)switched memory b cells are associated with better outcome in patients with advanced atherosclerotic disease. *J. Am. Heart Assoc.*, 2017, Vol. 6, no. 9, e005747. doi: 10.1161/JAHA.117.005747.
25. Oksjoki R., Kovanen P.T., Lindstedt K.A., Jansson B., Pentikäinen M.O. OxLDL-IgG Immune Complexes Induce Survival of Human Monocytes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005, Vol. 26, no. 3, pp. 576-583.
26. Orekhov A.N., Tertov V.V., Kabakov A.E., Adamova I.Yu., Pokrovsky S.N., Smirnov V.N. Autoantibodies against modified low density lipoprotein. Nonlipid factor of blood plasma that stimulates foam cell formation. *Arterioscler. Thromb.*, 1991, Vol. 11, no. 2, pp. 316-326.
27. Palinski W.S., Ylä-Herttuala S., Rosenfeld M.E., Butler S.W., Socher S.A., Parthasarathy S., Curtiss L.K., Witztum J.L. Antisera and monoclonal antibodies specific for epitopes generated during the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Arteriosclerosis*, 1990, Vol. 10, no. 3, pp. 325-335.
28. Palinski W., Miller E., Witztum J.L. Immunization of low density lipoprotein (LDL) receptor-deficient rabbits with homologous malondialdehyde-modified LDL reduces atherogenesis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1995, no. 92, pp. 821-825.
29. Ravandi A., Boekholdt S.M., Mallat Z., Talmud P.J., Kastelein J.J., Wareham N.J., Miller E.R., Benessiano J., Tedgui A., Witztum J.L., Khaw K.T., Tsimikas S. Relationship of IgG and IgM autoantibodies and immune complexes to oxidized LDL with markers of oxidation and inflammation and cardiovascular events: results from the EPIC-Norfolk Study. *J. Lipid Res.*, 2011, Vol. 52, no. 10, pp. 1829-1836.
30. Rusiñol A.E., Thewke D., Liu J., Freeman N., Panini S.R., Sinensky M.S. AKT/protein kinase B regulation of BCL family members during oxysterol-induced apoptosis. *J. Biol Chem.*, 2004, Vol. 279, no. 2, pp. 1392-1399.
31. Salomon R.G., Kaur K., Podrez E. HNE-derived 2-pentylpyrroles are generated during oxidation of LDL, are more prevalent in blood plasma from patients with renal disease or atherosclerosis, and are present in atherosclerotic plaques. *Chem. Res. Toxicol.*, 2000, Vol. 13, no. 7, pp. 557-564.
32. Schiopu A., Freundus B., Jansson B., Söderberg I., Ljungcrantz I., Araya Z., Shah P.K., Carlsson R., Nilsson J., Fredrikson G.N. Recombinant antibodies to an oxidized low-density lipoprotein epitope induce rapid regression of atherosclerosis in apobec-1(-)/low-density lipoprotein receptor(-) mice. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2007, Vol. 50, no. 24, pp. 2313-2318.
33. Smith P.K., Krohn R.I., Hermanson G.T., Mallia A.K., Gartner F.H., Provenzano M.D., Fujimoto E.K., Goeke N.M., Olson B.J., Klenk D.C. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal. Biochem.*, 1985, Vol. 150, no. 1, pp. 76-85.

34. Tsimikas S., Brilakis E.S., Lennon R.J., Miller E.R., Witztum J.L., McConnell J.P., Kornman K.S., Berger P.B. Relationship of IgG and IgM autoantibodies to oxidized low density lipoprotein with coronary artery disease and cardiovascular events. *J. Lipid Res.*, 2007, Vol. 48, no. 2, pp. 425-433.
35. Turk Z., Skrabolo Z. The cell interactive properties of glucosylated very-low-density lipoproteins. *Cell. Mol. Biol.*, 1987, Vol. 33, no. 3, pp. 345-354.
36. Wolf D., Ley K. Immunity and inflammation in atherosclerosis. *Circ Res.*, 2019, Vol. 124, no. 2, pp. 315-327.
37. Yokoi M., Ito T., Fujita H., Sugiura T., Seo Y., Ohte N. Increased serum malondialdehyde-modified low-density lipoprotein and coronary angiographic progression after drug-eluting stent implantation in patients with stable angina. *Circ. J.*, 2020, Vol. 84, no. 10, pp. 1837-1845.
38. Yokoi M., Ito T., Kawada Y., Mizoguchi T., Yamamoto J., Mori K., Nakasuka K., Kikuchi S., Fujita H., Kitada S., Goto T., Seo Y. Malondialdehyde-modified low-density lipoprotein as a predictor of major adverse limb events after endovascular therapy in patients with lower extremity arterial disease. *J. Atheroscler. Thromb.*, 2023, Vol. 30, no. 11, pp. 1612-1621.
39. Zhang H.F., Basra H.J., Steinbrecher U.P. Effects of oxidatively modified LDL on cholesterol esterification in cultured macrophages. *J. Lipid Res.*, 1990, Vol. 31, no. 8, pp. 1361-1369.

---

**Авторы:**

**Иванова А.А.** — научный сотрудник отдела биохимии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

**Дмитриева А.А.** — лаборант-исследователь отдела биохимии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

**Денисенко Д.А.** — д.м.н., профессор, заведующий лабораторией регуляции липидного обмена ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

---

**Authors:**

**Ivanova A.A.**, Research Associate, Department of Biochemistry, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

**Dmitrieva A.A.**, Laboratory Assistant, Department of Biochemistry, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

**Denisenko A.D.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Regulation of Lipid Metabolism, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

---

Поступила 29.01.2024  
Принята к печати 17.03.2024

---

Received 29.01.2024  
Accepted 17.03.2024