

СВЯЗЬ МЕЖДУ ПОКАЗАТЕЛЯМИ СИАЛОВОЙ КИСЛОТЫ, СИАЛИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ И ХОЛЕСТЕРИНА ЛИПИДСОДЕРЖАЩИХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ, БОЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Суркова Р.С.^{1,2}, Марасаева Е.А.¹, Каширских Д.А.^{1,2}, Собенин И.А.^{1,3},
Орехов А.Н.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт атеросклероза, Москва, Россия

³ Научно-исследовательский институт экспериментальной кардиологии имени академика В.Н. Смирнова
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Атеросклероз — это наиболее распространенное хроническое неинфекционное заболевание, в патогенезе которого значительную роль играет накопление липидов в субэндотелиальном слое артерий и локальная воспалительная реакция. Источником накопления липидов в сосудистой стенке артерий являются модифицированные липопротеиды низкой плотности. ДесИАлирование представляет одну из известных модификаций, которая приводит к возникновению атерогенных свойств у липопротеидов низкой плотности. В крови человека циркулируют ферменты, обладающие сИАлидазной активностью, т. е. способностью отщеплять сИАлиловую кислоту от липопротеидов низкой плотности. ДесИАлированные липопротеиды низкой плотности являются аутоантигенами и индуцируют выработку аутоантител IgG, которые образуют с липопротеидами низкой плотности иммунные комплексы, что усугубляет течение атеросклероза. Целью исследования было установление ассоциаций между показателями содержания сИАлиловой кислоты в липопротеидах низкой плотности, сИАлидазной активности и содержания холестерина липидсодержащих циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови пациентов, больных атеросклерозом. Сыворотки крови больных ишемической болезнью сердца использовали в качестве биологического материала для определения показателей сИ-

Адрес для переписки:

Суркова Раиса Сергеевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
общей патологии и патофизиологии»
125315, Россия, Москва, ул. Балтийская, 8.
Тел.: 8 (495) 151-17-56.
Факс: 8 (495) 601-23-66.
E-mail: raisasurkova850@gmail.com

Address for correspondence:

Raisa S. Surkova
Research Institute of General Pathology and Pathophysiology
8 Baltiyskaya St
Moscow
125315 Russian Federation
Phone: +7 (499) 151-17-56.
Fax: +7 (495) 601-23-66.
E-mail: raisasurkova850@gmail.com

Образец цитирования:

Р.С. Суркова, Е.А. Марасаева, Д.А. Каширских,
И.А. Собенин, А.Н. Орехов «Связь между показателями
сИАлиловой кислоты, сИАлидазной активности
и холестерина липидсодержащих циркулирующих
иммунных комплексов в сыворотке крови
пациентов, больных атеросклерозом» // Российский
иммунологический журнал, 2024. Т. 27, № 3. С. 539-544.
doi: 10.46235/1028-7221-16714-ABS

© Суркова Р.С. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

R.S. Surkova, E.A. Marasaeva, D.A. Kashirskikh,
I.A. Sobenin, A.N. Orekhov "Association between sialic acid,
sialidase activity and cholesterol of lipid-containing circulating
immune complexes in the blood serum of patients with
atherosclerosis", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 3, pp. 539-544.
doi: 10.46235/1028-7221-16714-ABS

© Surkova R.S. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-16714-ABS

алидазной активности, содержания холестерина липидсодержащих циркулирующих иммунных комплексов и сиаловой кислоты в липопротеидах низкой плотности, которые выделяли из сыворотки крови. Пробы сывороток были получены из лаборатории клинической биохимии Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ Национального медицинского исследовательского центра кардиологии им. академика Е.И. Чазова как неутрализованные остатки после выполнения рутинных биохимических анализов. Проанализирован 51 образец сыворотки крови и выделенных из нее липопротеидов низкой плотности. Выявлена значимая положительная связь между содержанием холестерина циркулирующих иммунных комплексов и сиалидазной активностью в сыворотке крови ($r = 0,305$ при $p = 0,029$). При этом корреляции между содержанием сиаловой кислоты в липопротеидах низкой плотности и сиалидазной активностью в сыворотке крови, а также между содержанием холестерина циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови и сиаловой кислоты в липопротеидах низкой плотности не выявлено. Следует предположить, что повышенная сиалидазная активность в сыворотке крови приводит к образованию десилированных иммуногенных липопротеидов низкой плотности с последующим появлением аутоантител и формированием липидсодержащих циркулирующих иммунных комплексов.

Ключевые слова: сиаловая кислота, сиалидазная активность, атеросклероз, липопротеиды низкой плотности, циркулирующие иммунные комплексы, десилирование

ASSOCIATION BETWEEN SIALIC ACID, SIALIDASE ACTIVITY AND CHOLESTEROL OF LIPID-CONTAINING CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS

Surkova R.S.^{a, b}, Marasaeva E.A.^a, Kashirskikh D.A.^{a, b}, Sobenin I.A.^{a, c}, Orekhov A.N.^{a, b}

^a Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation

^b Institute for Atherosclerosis Research, Moscow, Russian Federation

^c V. Smirnov Institute of Experimental Cardiology, E. Chazov National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Atherosclerosis is the most common chronic non-infectious diseases, in the pathogenesis of which the accumulation of lipids in the subendothelial layer of the arteries and the local inflammatory reaction play a significant role. The source of lipid accumulation in the vascular wall is modified low-density lipoproteins. Desialylation is one of the known modifications that leads to the emergence of atherogenic properties in low-density lipoproteins. Enzymes that have sialidase activity circulate in human blood, i.e., the ability to cleave sialic acid from low-density lipoproteins. Desialylated low-density lipoproteins are autoantigens and induce the production of IgG autoantibodies, which form immune complexes with low-density lipoproteins, which aggravates the course of atherosclerosis. The purpose of the study was to establish associations between the levels of sialic acid in low-density lipoproteins, sialidase activity and the cholesterol content of lipid-containing circulating immune complexes in the blood serum of patients with atherosclerosis. Blood sera from patients with coronary heart disease were used as biological material to determine indicators of sialidase activity, cholesterol content of lipid-containing circulating immune complexes and sialic acid in low-density lipoproteins, which were isolated from blood serum. Serum samples were obtained from the laboratory of clinical biochemistry of the Institute of Clinical Cardiology, A.L. Myasnikov Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center of Cardiology named after Academician E.I. Chazov as unutilized residues after performing routine biochemical tests. Fifty-one samples of blood serum and low-density lipoproteins isolated from it were analyzed. A significant positive relationship was revealed between the cholesterol content of circulating immune complexes and sialidase activity in the blood serum ($r = 0.305$ at $p = 0.029$). At the same time, no correlation was found between the content of sialic acid in low-density lipoproteins and sialidase activity in the blood

serum, as well as between the cholesterol content of circulating immune complexes in the blood serum and sialic acid in low-density lipoproteins. It should be assumed that increased sialidase activity in the blood serum leads to the formation of desialylated immunogenic low-density lipoproteins with the subsequent appearance of autoantibodies and the formation of lipid-containing circulating immune complexes.

Keywords: sialic acid, sialidase activity, atherosclerosis, low-density lipoproteins, circulating immune complexes, desialylation

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (Грант № 22-65-00005).

Введение

Атеросклероз – сложное, прогрессирующее воспалительное заболевание артерий среднего и крупного калибра, характеризующееся эндотелиальной дисфункцией и накоплением в субэндотелиальном пространстве липопротеидов низкой плотности (ЛНП), иммунных клеток и некротического детрита, что приводит к образованию атеросклеротической бляшки [2, 5]. Атеросклероз обуславливает большую часть глобальной заболеваемости и смертности от таких заболеваний, как ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда и острые нарушения мозгового кровообращения [10].

Развитие атеросклеротического поражения начинается с накопления циркулирующих модифицированных ЛНП в субэндотелиальном пространстве артериальной стенки. ЛНП претерпевают многочисленные модификации, которые придают частицам атерогенные свойства [12]. Одной из наиболее известных атерогенных модификаций ЛНП является десИАлирование, т. е. потеря терминальной сиАлиевой кислоты гликоконъюгатами, входящими в состав ЛНП [1, 4]. В крови человека могут циркулировать белки, обладающие нейраминидазной (сиАлидазной) активностью, т. е. способные отщеплять остатки сиАлиевых кислот от двухантенных полисахаридных цепей протеогликанов [7].

ДесИАлированные ЛНП обладают высокой иммуногенностью и индуцируют выработку аутоантител IgG, которые, связываясь с ЛНП, образуют циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) [6]. ЦИК вызывают секрецию провоспалительных цитокинов и апоптоз макрофагов, тем самым способствуя атерогенезу [9]. Некоторые исследования продемонстрировали, что множественно модифицированные ЛНП, как часть ЦИК, обладают более высоким атерогенным потенциалом по сравнению со свободными модифицированными ЛНП [8, 13]. Более того, была выявлена положительная корреляция между уровнями ЦИК, содержащих ЛНП, и тяжестью атеросклероза [3].

Целью данной работы было определить наличие ассоциации между показателями содержания сиАлиевой кислоты в липопротеидах низкой плотности, сиАлидазной активности и содержания холестерина липидсодержащих циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови пациентов, больных атеросклерозом.

Материалы и методы

Сыворотки крови больных ишемической болезнью сердца использовали в качестве биологического материала для определения показателей сиАлидазной активности, содержания холестерина ЦИК и сиАлиевой кислоты в ЛНП, которые выделяли из сыворотки крови. Пробы сывороток были получены из лаборатории клинической биохимии Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова Национального медицинского исследовательского центра кардиологии им. академика Е.И. Чазова как неутрализованные остатки после выполнения рутинных биохимических анализов.

Измерение сиАлидазной активности сыворотки крови проводили с использованием коммерческих наборов Abcam ab138888 Neuraminidase Assay Kit Fluorimetric-Blue (Abcam, США) в соответствии с инструкцией.

ЛНП выделяли с помощью ультрацентрифугирования в градиенте плотности KBr. Содержание сиАлиевой кислоты ЛНП измеряли по модифицированному методу Уоррена.

Для определения содержания холестерина в липидсодержащих ЦИК, иммунные комплексы предварительно высаживали из сыворотки с помощью PEG6000. Содержание холестерина измеряли, применяя коммерческий набор реагентов для определения концентрации общего холестерина в сыворотке и плазме крови ферментативным методом (АО «Вектор-Бест», Россия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 23 с использованием коэффициента корреляции Пирсона. Уровень значимости был принят за 0,05.

Результаты и обсуждение

Проанализирован 51 образец сыворотки крови от пациентов, больных атеросклерозом, и выде-

ТАБЛИЦА 1. ОПИСАТЕЛЬНЫЕ СТАТИСТИКИ ДЛЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОДЕРЖАНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА ЦИК, СИАЛИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СОДЕРЖАНИЯ СИАЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ЛИПОПРОТЕИДАХ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ

TABLE 1. DESCRIPTIVE STATISTICS FOR SERUM CIC CHOLESTEROL LEVELS, SERUM SIALIDASE ACTIVITY AND LOW-DENSITY LIPOPROTEIN SIALIC ACID LEVELS

	Среднее, стандартное отклонение и 95%-ный доверительный интервал для среднего Mean, standard deviation, and 95% confidence interval	Медиана и межквартильный диапазон Median and interquartile range
Холестерин ЦИК (мкг/мл) Cholesterol CIC (µg/mL)	5,5 (5,1) 4,1-6,9	4,0 (1,6-7,9)
Сиаловая кислота (мкг/мг) Sialic acid (µg/mg)	45,1 (37,6) 34,5-55,6	33,0 (14,3-65,6)
Сиалидазная активность (ммоль/мкл) Sialidase activity (mM/µL)	0,14 (0,04) 0,13-0,15	0,15 (0,13-0,16)

ленных из нее липопротеидов низкой плотности. Для каждого показателя рассчитаны описательные статистики (табл. 1).

В результате корреляционного анализа выявлена значимая положительная связь между содержанием холестерина циркулирующих иммунных комплексов и сиалидазной активностью в сыворотке крови ($r = 0,305$ при $p = 0,029$) (рис. 1). Поскольку десиалированные ЛНП являются аутоантигенами, то они приводят к выработке ан-

тител. Антитела приводят к образованию и накоплению холестеринсодержащих ЦИК [11].

При сравнении содержания холестерина ЦИК в сыворотке крови и сиаловой кислоты в ЛНП (рис. 2) выявлена статистически не значимая связь ($r = -0,041$ при $p = 0,775$). Т. е. между данными показателями корреляции не выявлено. Таким образом, повышенное содержание холестерина в ЦИК напрямую не связано с содержанием сиаловой кислоты в ЛНП. По-видимому, образо-

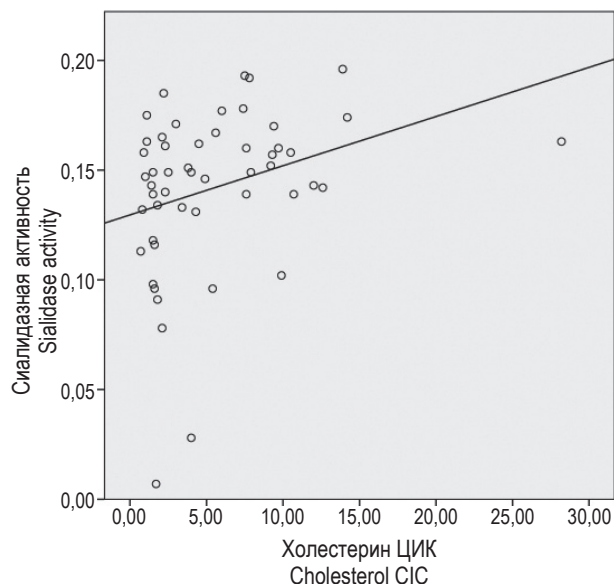


Рисунок 1. Матрица диаграммы рассеяния для показателей содержания холестерина ЦИК и сиалидазной активности в сыворотке крови

Figure 1. Scatterplot matrix for serum CIC cholesterol and sialidase activity

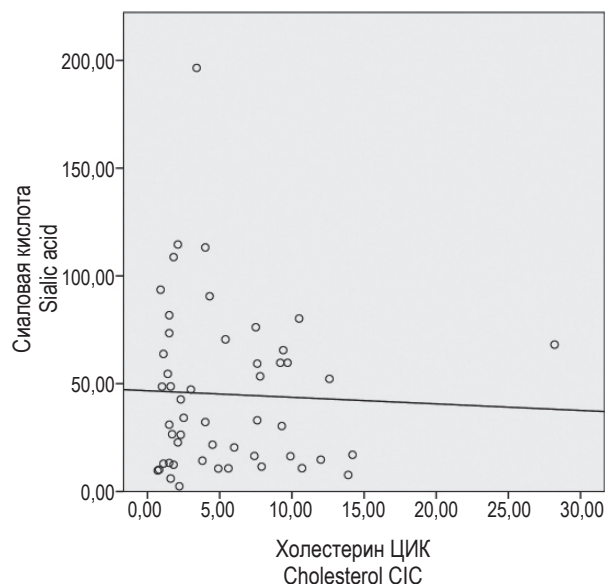


Рисунок 2. Матрица диаграммы рассеяния для показателей содержания холестерина ЦИК в сыворотке крови и сиаловой кислоты в липопротеидах низкой плотности

Figure 2. Scatterplot matrix for serum CIC cholesterol and low-density lipoprotein sialic acid

вание ЦИК зависит от степени иммуногенности десиалированных ЛНП и иммунореактивности организма.

Между показателями содержания сиаловой кислоты в ЛНП и сиалидазной активности в сыворотке крови (рис. 3) корреляции не выявлено ($r = -0,056$ при $p = 0,695$). Отсюда можно предположить, что влияние сиалидаз на десиалирование ЛНП характеризуется высокой индивидуальной вариабельностью.

Заключение

Выявлена значимая положительная связь между показателями содержания холестерина ЦИК и сиалидазной активности в сыворотке крови. Следует предположить, что повышенная сиалидазная активность в сыворотке крови приводит к образованию десиалированных иммуногенных ЛНП с последующим появлением аутоантител и формированием ЦИК.

Публикация размещена при участии Балтийского федерального университета им. И. Канта.

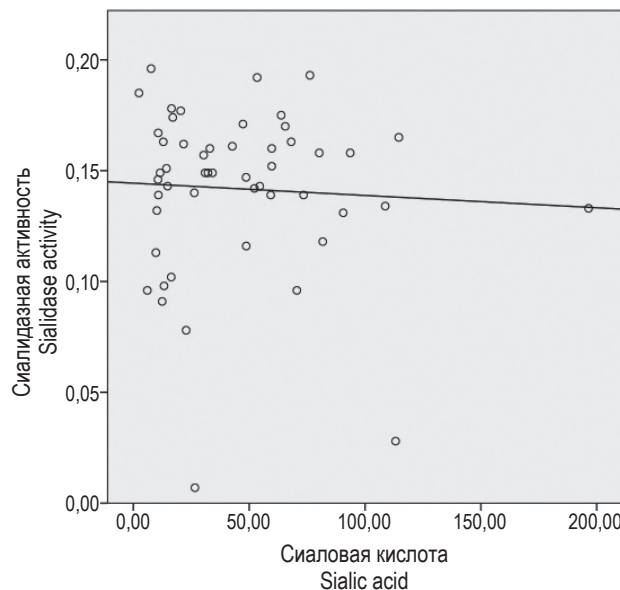


Рисунок 3. Матрица диаграммы рассеяния для показателей содержания сиаловой кислоты в липопротеидах низкой плотности и сиалидазной активности в сыворотке крови

Figure 3. Scatterplot matrix for low-density lipoprotein sialic acid and serum sialidase activity

Список литературы / References

1. Glanz V., Bezsonov E.E., Soldatov V., Orekhov A.N. Thirty-five-year history of desialylated lipoproteins discovered by Vladimir Tertov. *Biomedicines*, 2022, Vol. 10, no. 5, 1174. doi: 10.3390/biomedicines10051174.
2. Herrero-Fernandez B., Gomez-Bris R., Somovilla-Crespo B., Gonzalez-Granado J.M. Immunobiology of atherosclerosis: a complex net of interactions. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 21, 5293. doi: 10.3390/ijms20215293.
3. Hirayama S., Miida T. Small dense LDL: An emerging risk factor for cardiovascular disease. *Clin. Chim. Acta*, 2012, Vol. 414, pp. 215-224.
4. Ivanova E.A., Myasoedova V.A., Melnichenko A.A., Grechko A.V., Orekhov A.N. Small dense low-density lipoprotein as biomarker for atherosclerotic diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2017, Vol. 2017, 1273042. doi: 10.1155/2017/1273042.
5. Kong P., Cui Z., Huang X., Zhang D., Guo R., Han M. Inflammation and atherosclerosis: signaling pathways and therapeutic intervention. *Signal. Transduct. Target. Ther.*, 2022, Vol. 7, 131. doi: 10.1038/s41392-022-00955-7.
6. Mezentshev A., Bezsonov E., Kashirskikh D., Baig M.S., Eid A.H., Orekhov A. Proatherogenic sialidases and desialylated lipoproteins: 35 years of research and current state from bench to bedside. *Biomedicines*, 2021, Vol. 9, no. 6, 600. doi: 10.3390/biomedicines9060600
7. Minami A., Kurebayashi Y., Takahashi T., Otsubo T., Ikeda K., Suzuki T. The function of sialidase revealed by sialidase activity imaging probe. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 6, 3187. doi: 10.3390/ijms22063187.
8. Orekhov A.N., Kalenich O.S., Tertov V.V., Novikov I.D. Lipoprotein immune complexes as markers of atherosclerosis. *Int. J. Tissue React.*, 1991, Vol. 13, pp. 233-236.
9. 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, pp. 316-326.
10. Poznyak A.V., Silaeva Y.Y., Orekhov A.N., Deykin A.V. Animal models of human atherosclerosis: current progress. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2020, Vol. 53, no. 6, e9557. doi: 10.1590/1414-431X20209557.
11. Sobenin I.A., Salonen J.T., Zhelankin A.V., Melnichenko A.A., Kaikkonen J., Bobryshev Y.V., Orekhov A.N. Low density lipoprotein-containing circulating immune complexes: role in atherosclerosis and diagnostic value. *Biomed. Res. Int.*, 2014, Vol. 2014, 205697. doi: 10.1155/2014/205697.

12. Tertov V.V., Bittolo-Bon G., Sobenin I.A., Cazzolato G., Orekhov A.N., Avogaro P. Naturally occurring modified low density lipoproteins are similar if not identical: more electronegative and desialylated lipoprotein subfractions. *Exp. Mol. Pathol.*, 1995, Vol. 62, pp. 166-172.

13. Tertov V.V., Orekhov A.N., Sayadyan K.S., Serebrennikov S.G., Kacharava A.G., Lyakishev A.A., Smirnov V.N. Correlation between cholesterol content in circulating immune complexes and atherogenic properties of CHD patients' serum manifested in cell culture. *Atherosclerosis*, 1990, Vol. 81, pp. 183-189.

Авторы:

Суркова Р.С. — аспирант второго года обучения, старший лаборант лаборатории молекулярно-генетического моделирования инфламейджинга ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; младший научный сотрудник Научно-исследовательского института атеросклероза, Москва, Россия

Марасаева Е.А. — аспирант первого года обучения, старший лаборант лаборатории молекулярно-генетического моделирования инфламейджинга ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

Каширских Д.А. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетического моделирования инфламейджинга ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; младший научный сотрудник Научно-исследовательский институт атеросклероза, Москва, Россия

Собенин И.А. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории ангиопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; главный научный сотрудник лаборатории медицинской генетики, Научно-исследовательский институт экспериментальной кардиологии имени академика В.Н. Смирнова ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Орехов А.Н. — д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории ангиопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; директор Научно-исследовательского института атеросклероза, Москва, Россия

Authors:

Surkova R.S., Second-year Postgraduate Student, Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Genetic Modeling of Inflammation, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Junior Research Associate, Institute for Atherosclerosis Research, Moscow, Russian Federation

Marasaeva E.A., First-year Postgraduate Student, Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Molecular Genetic Modeling of Inflammation, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russian Federation

Kashirskikh D.A., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Genetic Modeling of Inflammation, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Junior Research Associate Institute for Atherosclerosis Research, Moscow, Russian Federation

Sobenin I.A., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Chief Research Associate, Laboratory of Medical Genetics, V. Smirnov Institute of Experimental Cardiology, E. Chazov National Medical Research Center of Cardiology, Moscow, Russian Federation

Orekhov A.N., PhD, MD (Biology), Professor, Chief Research Associate, Laboratory of Angiopathology, Research Institute of General Pathology and Pathophysiology; Director, Institute for Atherosclerosis Research, Moscow, Russian Federation