

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-334

**ИНГИБИТОРЫ НЕЙРАМИНИДАЗЫ В ПРОФИЛАКТИКЕ АТЕРОСКЛЕРОЗА:
ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ *IN VITRO*****NEURAMINIDASE INHIBITORS IN THE PREVENTION OF ATHEROSCLEROSIS:
IN VITRO TOXICITY ASSESSMENT**

Е. А. Марасаева

Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва

Е. А. Marasaeva

Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow

✉ lisamarasaeva@gmail.com

Аннотация

Участие фермента нейраминидазы было отмечено в ряде заболеваний, включая атеросклероз, что характеризуется удалением остатков сиаловой кислоты с поверхности гликокаликса и развитием патологических изменений в клетках. Модулирование активности нейраминидазы с помощью ее ингибиторов может способствовать предотвращению развития атеросклеротических проявлений на ранних стадиях заболевания.

Abstract

The participation of the enzyme neuraminidase has been noted in a number of diseases, including atherosclerosis, which is characterized by the removal of sialic acid residues from the surface of the glycocalyx and pathological changes in cells. Modulating neuraminidase activity using inhibitors can prevent the development of atherosclerosis at its early stages.

Атеросклероз относится к хроническим заболеваниям сердечно-сосудистой патологии и ведущим причинам смертности во всем мире. К начальному фактору развития заболевания относится дисфункция эндотелия сосудов [1]. В таких условиях циркулирующие липопротеиды низкой плотности (ЛНП) проникают в поврежденный эндотелий и накапливаются в субэндотелиальных слоях, где ЛНП склонны к различным атерогенным модификациям, включая окисление, гликирование, ферментативную модификацию [1]. Однако подобные модификации относятся к промежуточным или прогрессирующим атеросклеротическим поражениям, в то время как изучение предварительных стадий атерогенеза способно выявить пусковые механизмы патологического процесса до их клинического проявления. К таким начальным этапам следует отнести модификацию ЛНП ферментом нейраминидазой в плазме крови пациентов, больных атеросклерозом [2]. Десиалирование заключается в отщеплении ферментом концевой сиаловой кислоты, которая выполняет роль переключателя для контроля функции клеточной поверхности и растворимых гликопротеинов. Такие модифицированные липопротеиды легче проникают внутрь кровеносного сосуда ввиду потери отрицательного заряда и экранирующей функции сиаловой кислоты, а также приобретают способность к агрегации [2]. Считается, что контроль фермента нейраминидазы с помощью ее ингибирования способен предотвратить начальные процессы развития атеросклероза [3].

В данном исследовании изучалась цитотоксичность ингибиторов различного происхождения *in vitro* на клеточной модели моноцитарно-макрофагальной линии клеток ТНР-1. Для этого были выбраны 10 синтезированных веществ натурального и синтетического происхождения на основе анализа их активности — значений концентраций полумаксимального ингибирования в диапазоне 2–73 μM .

Для изучения цитотоксического эффекта ингибиторов нейраминидазы на клетки ТНР-1 был применен МТТ-тест с веществами в различной концентрации (0,3–20 μM), который позволяет оценить метаболическую активность клеток. Выживаемость клеток оценивалась по изменению оптической плотности в процентах относительно контроля без добавления веществ. На основании полученных данных рассчитывалось значение концентраций, при которых жизнеспособность клеток снижалась на 50 % по сравнению с контролем (IC_{50}) (рис. 1). Результат представлен как среднее в эксперименте из трех повторностей с учетом стандартных отклонений (SD).

Анализ результатов МТТ-анализа показал, что наиболее безопасными для клеток ингибиторами являются *Epigallocatechin* — ингибитор растительного происхождения и *НИА 381* — ингибитор синтетического происхождения, для которых не удалось установить значения IC_{50} ввиду их крайне низкой токсичности. Самыми

токсичными оказались ингибиторы синтетический: № 26 (IC_{50} $1,4 \pm 0,2 \mu M$) и растительный: *Kaempferol-7-O-neohesperidoside* (IC_{50} $1,2 \pm 0,1 \mu M$). Оптимальным диапазоном концентраций, при котором ингибиторы обладают наименьшим цитотоксическим действием, является 1–2,5 мкМ.

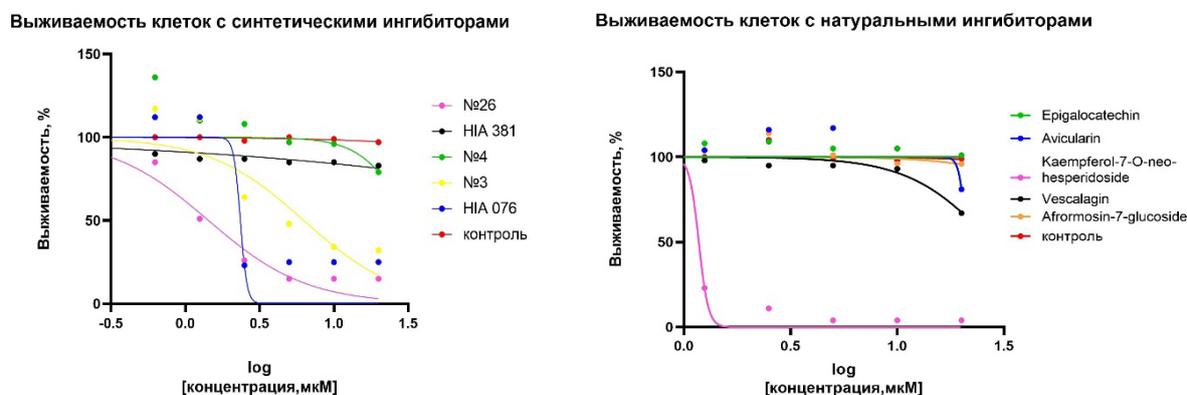


Рис. 1. Оценка жизнеспособности клеток с помощью МТТ-теста

Для изучения зависимости выживаемости клеток с ингибиторами от времени был использован метод оценки с трипановым синим. Цитотоксический эффект изучался в трех временных интервалах — после 2, 6 или 24 часов инкубации (рис. 2).

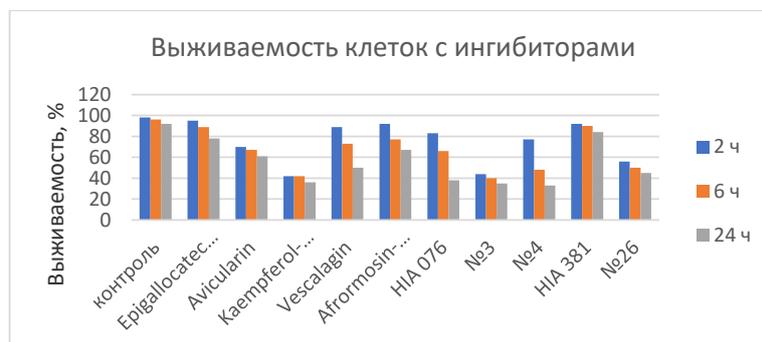


Рис. 2. Зависимость выживаемости клеток с ингибиторами нейраминидазы от времени

В течение первых 4 часов наблюдений во всех изучаемых пробах доля живых клеток превышала 50 % от первоначального значения. При последующих измерениях было обнаружено, что в части исследуемых образцов (ингибиторы № 4, 076, *Vescalagin*) стремительно снижалось общее количество клеток в суспензии. Однако общая зависимость выживаемости клеток с ингибитором от времени оказалась статистически незначимой.

Таким образом, найдены эффективные ингибиторы нейраминидазы — *Epigallocatechin* и *HIA 381*, которые могут быть использованы для изучения возможности предотвращения начальных этапов развития атеросклеротических изменений, накопления ЛНП в эндотелии сосудов.

Литература

1. Shifa Jebari-Benslaiman et al. Pathophysiology of Atherosclerosis // Int. J. Mol. Sci., 2022.
2. Glanz V. et al. Thirty-Five-Year History of Desialylated Lipoproteins Discovered by Vladimir Tertov // Biomedicines, 2022.
3. Sobenin I.A. et al. Prospects for the Use of Sialidase Inhibitors in Anti-atherosclerotic Therapy // Curr. Med. Chem., 2021.